

Arbeit aus dem Institut für Lebensmittelchemie
der Technischen Universität Berlin
Prof. Dr. rer. nat. H.-J. Stan

Chemische Charakterisierung von Alkylethoxylaten

vorgelegt von
Diplom-Lebensmittelchemikerin
Corinna Asmussen

Von der Fakultät für Prozesswissenschaften
der Technischen Universität Berlin
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktorin der Naturwissenschaften
-Dr. rer. nat.-
genehmigte Dissertation

Prüfungsausschuß:

Vorsitzender: Prof. Dr.-Ing. J. Steinbach
Berichter: Prof. Dr. rer. nat. H.-J. Stan
Berichter: Prof. Dr.-Ing. K. Rubach

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 22. September 2000

Berlin 2000
D 83

Abstract

In der vorliegenden Arbeit werden eine Reihe von analytischen Methoden zur chemischen Charakterisierung von Alkylethoxylaten (AEO) beschrieben. AEO stellen zumeist komplex zusammengesetzte Gemische dar, die eine Vielzahl an homologen und ethoxymeren Komponenten enthalten. Die große Bandbreite der Polarität der Einzelkomponenten bereitet ebenso große Schwierigkeiten wie die fehlende UV-Aktivität der Verbindungen.

Zur Aufarbeitung wäßriger Proben wurde neben der Gefriertrocknung und einer Flüssig-Flüssig-Extraktion eine Aufarbeitungsmethode mit Festphasenextraktion an graphitisierem Kohlenstoff (ENVI-CARB) entwickelt. Die Wiederfindung der Substanzen liegt bei ca. 95%. Zur Aufarbeitung von Waschmittel- und Körperpflegeprodukten wurde diese Aufarbeitungsmethode erweitert, da in diesem Fall die Abtrennung weiterer Probenbestandteile, wie Alkylpolyglucoside (APG) und Alkylethersulfate (AES), dringend erforderlich ist. Die Abtrennung der APG gelingt mittels Kieselgel, die Abtrennung von AES wird mit Hilfe eines Anionenaustauschers erreicht.

Die Analyse der komplexen AEO-Gemische gelingt nach Derivatisierung mittels Hochtemperatur-Gaschromatographie (HT-GC), bei der eine Auftrennung sowohl nach der Länge des Alkylrestes als auch nach dem Ethoxylierungsgrad möglich ist. Die HT-GC wurde erfolgreich mit der Atomemissionsdetektion (AED) gekoppelt. Diese Detektionsmethode hat den Vorteil, daß Elemente in homologen Reihen einen Response zeigen, der direkt proportional zu ihrer Stoffmenge ist. So kann über die betreffenden Elementspuren Kohlenstoff oder Sauerstoff eine komponentenunabhängige "universelle" Kalibrierung durchgeführt werden, ohne daß alle Referenzsubstanzen zur Verfügung stehen müssen. Wird eine Derivatisierung durch Silylierung der endständigen Hydroxylgruppe durchgeführt, so wird zusätzlich eine Bestimmung in der selektiven Silizium-Elementspur ermöglicht, wodurch sich mögliche Matrixkomponenten ausblenden lassen.

Die Absicherung der gefundenen Alkylkettenlänge der AEO erfolgt durch Umsetzung der aufgearbeiteten Proben mit Bromwasserstoff. Über die Quantifizierung der Alkylbromide mittels GC-MS oder GC-AED wird die Alkylkettenverteilung bestimmt.

Höher ethoxylierte Gemische, die zunehmend schwerer verdampfbar werden und sich nicht mehr gaschromatographisch bestimmen lassen, werden nach Derivatisierung mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid durch Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) mit UV-Detektion bestimmt. Auch mit dieser Detektionsmethode ist eine universelle Kalibrierung möglich. Bei Einsatz einer Umkehrphase und eines Acetonitril-Wasser-Gradienten erfolgt die Trennung der AEO ebenfalls nach der Länge des Alkylrestes und nach dem Ethoxylierungsgrad. Die zusätzliche Auftrennung nach der Länge des Alkylrestes entfällt bei der HPLC-Analyse an einer modifizierten Normalphase mit 3-Aminopropylresten. Die Trennung erfolgt in diesem Fall allein nach dem hydrophilen Teil, also nach der Länge der Ethoxylatkette.

Eine sehr schnelle Analyse ohne jegliche Aufarbeitung der Proben ist mit der Fließinjektion in Kopplung mit der Massenspektrometrie und Ionisierung unter Atmosphärendruck möglich. Die AEO können mit dieser Methode ohne Derivatisierung im wäßrigen oder organischen Milieu detektiert werden. Diese Detektion liefert jedoch keine berechenbaren Responsefaktoren. Die Quantifizierung gelingt daher nur über die Kalibrierung mit technischen AEO-Gemischen, die vorerst über andere Methoden wie GC oder HPLC charakterisiert wurden.

Danksagung

Die experimentellen Arbeiten für die vorliegende Dissertation wurden in der Zeit von März 1997 bis Dezember 1999 am Institut für Lebensmittelchemie der Technischen Universität Berlin durchgeführt. Sie wurden mir durch die finanzielle Förderung der Deutschen Forschungsgemeinschaft im Rahmen des Sonderforschungsbereiches 193 "Biologische Behandlung industrieller und gewerblicher Abwässer" Teilprojekt E2b ermöglicht.

Meinem Doktorvater, Prof. Dr. rer. nat. Hans-Jürgen Stan danke ich herzlich für die Betreuung der Arbeit, seine stets vorhandene Diskussionsbereitschaft und die großzügige Unterstützung in wissenschaftlichen und organisatorischen Fragen.

Ferner möchte ich mich bei Prof. Dr.-Ing. Klaus Rubach für die Begutachtung der vorliegenden Arbeit bedanken.

Mein Dank gilt allen Kooperationspartnern im Sonderforschungsbereich für die gute Zusammenarbeit speziell Axel Schreiner vom Teilprojekt E3b.

Insbesondere bei Christiane Breyer möchte ich mich für die Hilfe bei der Bewältigung der zahlreichen Analysenproben bedanken. Ohne sie wäre die Bearbeitung des Teilprojekts E2b in diesem Zeitraum nicht möglich gewesen. Holger Bachus danke ich für den wissenschaftlichen Beitrag zur Derivatisierung bei der FIA-MS im negativen Modus.

Allen Kolleginnen und Kollegen aus dem Arbeitskreis sei an dieser Stelle für die konstruktive und freundliche Arbeitsatmosphäre gedankt. Sven Klimmek danke ich für seine permanente schnelle Hilfe bei allen Computerproblemen. Bei Antje Töpfer, Madeleine Spitzke und Ursula Wippo möchte ich mich für ihre stete Hilfsbereitschaft und fachliche Diskussionsbereitschaft bedanken, die mir im Verlauf der Arbeit sehr geholfen haben. Meinem Kooperationspartner im Teilprojekt E2, Patrick Billian, sei für die gute Zusammenarbeit, insbesondere an dem LC-MS-Gerät, gedankt. An dieser Stelle danke ich auch dem Sfb-Kooperationspartner Thomas Storm sowie den anderen Mitarbeitern aus der Wasserreinigung für ihre Unterstützung bei Problemen am LC-MS-Gerät.

Bei Robert Hatton möchte ich mich für seine Hilfe bei der Korrektur der englischen Veröffentlichungen und bei Dagmar Simmert und Joachim Meyer für ihre Hilfsbereitschaft und den Erfahrungsaustausch bei praktischen Problemen bedanken.

Mein spezieller Dank gilt Jürgen Rolfes von der Universität Münster für den regen Erfahrungsaustausch über Atomemissionsdetektion sowie die Leihgabe des Oszilloskops. Stefan Bobinger der Universität Münster danke ich herzlich für die Bereitstellung des Macros für einen Pascal-Daten-Import in die HP HPLC-ChemStation für Windows. Ohne dieses Hilfsprogramm wäre die Datenauswertung der Pascal-Dateien des Atomemissionsdetektors sehr mühselig gewesen.

Ein besonderes Dankeschön geht an meine Mutter, in Erinnerung an meinen Vater, und an meinen Mann Jens, die mich in allen Zeitabschnitten des Studiums tatkräftig unterstützt haben.

INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	XII
1 Einleitung	1
1.1 Tenside	1
1.2 Alkylethoxylate	2
1.2.1 Herstellung und Struktur.....	2
1.2.2 Verwendung.....	4
1.2.3 Stand der Analytik	5
1.2.3.1 Gaschromatographie (GC)	5
1.2.3.2 Dünnschichtchromatographie	7
1.2.3.3 Überkritische Fluidchromatographie	8
1.2.3.4 Kapillarelektrophorese	8
1.2.3.5 Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) mit UV-Detektion	8
1.2.3.6 HPLC mit weiteren, universellen Detektionsmethoden	10
1.2.3.7 HPLC mit spezifischer massenspektrometrischer Detektion	11
1.2.3.8 Analytik mit anderen massenspektrometrischen Methoden.....	13
1.2.3.9 Gaschromatographie nach Bromwasserstoffspaltung	13
1.2.3.10 Aufarbeitungsmethoden	14
1.2.3.11 Übersichtsartikel	14
2 Problemstellung und Ziel der Arbeit	16
3 Theoretischer Teil: Grundlagen der angewendeten Analysemethoden	18
3.1 Probenvorbereitung	18
3.1.1 Anreicherung und Aufreinigung wäßriger Proben durch Flüssig-Flüssig-Extraktion	18
3.1.2 Anreicherung und Aufreinigung wäßriger Proben durch Festphasenextraktion	19
3.2 Chromatographische Trennverfahren	20
3.2.1 Hochleistungsflüssigchromatographie	21
3.2.1.1 Angewendete HPLC-Detektionsmethoden	21
3.2.1.1.1 Lichtabsorption.....	21
3.2.1.1.2 Massenspektrometrie mit Ionisierung unter Atmosphärendruck	22
3.2.2 Kapillargaschromatographie	26
3.2.2.1 Angewendete GC-Kopplungstechniken.....	27

3.2.2.1.1	Gaschromatographie-Quadrupol-Massenspektrometrie (GC-MS)	27
3.2.2.1.2	Gaschromatographie-Atomemissionsdetektion (GC-AED)	28
4	Experimenteller Teil: Methodenentwicklung	30
4.1	Probenvorbereitung von Wasserproben	30
4.1.1	Gefriertrocknung	30
4.1.1.1	Durchführung	30
4.1.2	Flüssig-Flüssig-Extraktion	31
4.1.2.1	Durchführung	32
4.1.3	Festphasenextraktion	34
4.1.3.1	Sorbensauswahl	35
4.1.3.1.1	Kieselgel-Umkehrphasen	35
4.1.3.1.1.1	Durchführung	36
4.1.3.1.2	Styroldivinylbenzol-Copolymere	38
4.1.3.1.3	Graphitisierter Kohlenstoff	40
4.1.3.1.3.1	Durchführung	40
4.2	Probenvorbereitung bei Waschmitteln und Körperpflegemitteln für Haut und Haar	42
4.2.1	Durchführung	44
4.3	Hochtemperaturgaschromatographie mit Atomemissionsdetektion	46
4.3.1	Derivatisierungsmethoden	47
4.3.1.1	Silylierung	47
4.3.1.2	Acetylierung	47
4.3.2	Injektion bei der HT-GC-AED	48
4.3.3	Identifizierung von AEO im Gaschromatogramm	49
4.3.4	Quantifizierung von Einzelkomponenten über die universelle Kalibrierung	52
4.3.5	Präzision der HT-GC-AED	64
4.3.6	Berechnung des mittleren molaren Ethoxyierungsgrades von technischen AEO-Gemischen	66
4.4	Identifizierung von Einzelkomponenten durch GC-MS (Bestätigungsanalyse)	67
4.4.1	Elektronenstoßionisation	67
4.4.2	Positiv chemische Ionisation	71
4.5	Hochleistungsflüssigchromatographie mit UV-Detektion	74
4.5.1	Derivatisierung mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid	74
4.5.1.1	Durchführung	75
4.5.2	Trennung von AEO an Umkehrphasen	76
4.5.3	Trennung von AEO an Normalphasen	77
4.5.4	Quantifizierung von Einzelkomponenten	80
4.6	Bestimmung der Alkylkettenverteilung durch Gaschromatographie der Alkylbromide	86
4.6.1	Durchführung der Bromwasserstoffspaltung	89
4.6.2	Quantifizierung der Alkylbromide	90

4.7	Massenspektrometrische Detektion mit Ionisierung unter Atmosphärendruck.....	94
4.7.1	Adduktbildung mit Kationen im positiven Modus	94
4.7.2	Tandemmassenspektrometrie.....	96
4.7.3	Optimierung der Detektion im positiven Modus	96
4.7.4	Derivatisierung zur Detektion im negativen Modus	103
4.7.4.1	Durchführung der Derivatisierung	105
4.7.5	Optimierung der Detektion der Derivate	107
5	Experimenteller Teil: Ergebnisse und Diskussion	113
5.1	Charakterisierung technischer AEO-Gemische.....	113
5.1.1	Brij 30 (Sigma-Aldrich, Deisenhofen).....	113
5.1.2	Brij 30 (Deutsche ICI GmbH, Essen)	115
5.1.3	Genapol UDD-079 (Hoechst, Frankfurt)	115
5.1.4	Emulsogen P (Henkel, Düsseldorf)	118
5.1.5	Eumulgin ET5 (Henkel, Düsseldorf).....	119
5.1.6	Höher ethoxylierte technische AEO-Gemische (Sigma-Aldrich, Deisenhofen).....	123
5.2	Wäßrige Proben nach Anreicherung mittels physikalisch-chemischer Trennverfahren.....	124
5.2.1	Membrantrennverfahren	124
5.2.2	Schaumfraktionierung.....	126
5.2.3	Adsorptions-/Desorptionsverfahren	132
5.3	Wäßrige Proben aus dem biologischen Abbau von Restkonzentraten	137
5.4	Waschmittel, Körperpflegemittel zur Haar- und Hautreinigung	144
5.4.1	Durchführung der Analyse.....	144
5.4.2	Analyse mittels HT-GC-AED.....	145
5.4.3	Analyse mittels RP-HPLC-UV nach DNBC-Derivatisierung	149
5.4.4	Untersuchung mittels FIA-MS.....	152
5.4.5	Analyse der Alkylbromide nach Behandlung mit Bromwasserstoff.....	155
5.4.6	Ergebnisse.....	156
5.4.7	Wiederfindungen	160
6	Zusammenfassung.....	163
7	Literatur	166
Anhang A:	Geräteparameter für die HT-GC-AED-Bestimmung	
Anhang B:	Geräteparameter für die GC-MS-Bestimmung	
Anhang C:	Geräteparameter für die HPLC-UV-Bestimmung	
Anhang D:	Geräteparameter für die FIA-MS-Bestimmung	
Anhang E:	Lösungsmittel, Chemikalien, Materialien	
Anhang F:	Verpackungs-Deklarationen der untersuchten Wasch- und Körperpflegemittel	

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AED	<u>A</u> tom <u>e</u> missions <u>d</u> etektion
AEO	<u>A</u> lkyl <u>e</u> th <u>o</u> xylat
AES	<u>A</u> lkyl <u>e</u> th <u>e</u> r <u>s</u> ulfat
BSTFA	<u>B</u> is(trimethyl <u>s</u> ilyl)trifluor <u>a</u> cetamid
APCI	Chemische Ionisierung unter Atmosphärendruck (<u>a</u> tmospheric <u>p</u> ressure <u>c</u> hemical <u>i</u> onization)
APG	<u>A</u> lkylpolyglucoside
API	Ionisierung unter Atmosphärendruck (<u>a</u> tmospheric <u>p</u> ressure <u>i</u> onization)
AS	<u>A</u> lkansulfonat
CE	Kapillarelektrophorese (<u>c</u> apillary <u>e</u> lectrophoresis)
CI	<u>C</u> hemische <u>I</u> onisierung
CIC	komponentenunabhängige Kalibrierung (<u>c</u> ompound- <u>i</u> ndependent- <u>c</u> alibration)
D	Dalton
DMAP	4- <u>D</u> imethylaminopyridin
DNBC	3,5- <u>D</u> initrobenzoylchlorid
DOC	gelöster organischer Kohlenstoff (<u>d</u> issolved <u>o</u> rganic <u>c</u> arbon)
ECN	effektive <u>c</u> arbon <u>n</u> umber
EI	Elektronenstoßionisierung (<u>e</u> lectron <u>i</u> mpact)
ELSD	Lichtstreuendetektor (<u>e</u> vaporative <u>l</u> ight <u>s</u> cattering <u>d</u> etector)
EO- Verteilung	Ethoxymerenverteilung
EO-Grad	Ethoxylierungsgrad
EO	Ethoxyeinheiten
Fa.	Firma
FIA	<u>F</u> ließinjektions <u>a</u> nalyse
FID	<u>F</u> lamm <u>i</u> onisations <u>d</u> etektor
HP	Hewlett Packard
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie (<u>h</u> igh <u>p</u> erformance <u>l</u> iquid <u>c</u> hromatography)
HT-GC	Hochtemperatur-Gaschromatographie (<u>h</u> igh <u>t</u> emperature <u>g</u> as <u>c</u> hromatography)
Kp	Siedepunkt (<u>K</u> ochpunkt)
KAS	<u>K</u> altaufgabesystem
ISTD	<u>I</u> nterner <u>S</u> tandard
INCI	<u>I</u> nternational <u>N</u> omenclature <u>C</u> osmetic <u>I</u> ngredient

kV	<u>K</u> ilo <u>v</u> olt
LAS	<u>L</u> ineares <u>A</u> lky <u>b</u> enzol <u>s</u> ulfonat
lat.	lateinisch
LC	Flüssigchromatographie (<u>l</u> iquid <u>c</u> hromatography)
Lit.	Literatur
LLE	Flüssig-Flüssig-Extraktion (<u>l</u> iquid- <u>l</u> iquid- <u>e</u> xtraction)
m/z	Masse-Ladungs-Verhältnis
MALDI-MS	matrixunterstützte Laser-Dersorptions-Ionisations-Massenspektrometrie (<u>m</u> atrix <u>a</u> ssisted <u>l</u> aser <u>d</u> esorption <u>i</u> onization <u>m</u> ass <u>s</u> pectrometry)
MS	<u>M</u> assens <u>s</u> pektrometrie
MSPD	<u>m</u> atrix <u>s</u> olid <u>p</u> hase <u>d</u> ispersion <u>e</u> xtraction
n. b.	<u>n</u> icht <u>b</u> estimmbar
NC	1- <u>N</u> ap <u>h</u> thoyl <u>cl</u> hlorid
NIC	1- <u>N</u> ap <u>h</u> thoyl <u>i</u> so <u>c</u> yanat
NP	<u>N</u> ormalphase
p. a.	zur Analyse (pro <u>a</u> lysi)
PB	<u>P</u> article <u>B</u> eam
PEG	<u>P</u> oly <u>e</u> thylenglykol
PCI	<u>P</u> ositiv <u>c</u> hemische <u>I</u> onisation
PIC	<u>P</u> henyl <u>i</u> so <u>c</u> yanat
PTFE	<u>P</u> oly <u>t</u> etra <u>fl</u> uore <u>th</u> ylen
PTV	Injektor mit Temperaturprogramm (<u>P</u> rogrammed <u>T</u> emperature <u>V</u> aporizer)
RP	Umkehrphase (<u>r</u> eversed <u>p</u> hase)
SDB	<u>S</u> tyrol <u>d</u> iviny <u>l</u> benzol
SFC	überkritische Flüssigchromatographie (<u>s</u> upercritical <u>f</u> luid <u>c</u> hromatography)
SIM	Einzelionenregistrierung (<u>s</u> electe <u>d</u> <u>i</u> on <u>m</u> onitoring)
SIR	Einzelionenregistrierung (<u>s</u> ingle <u>i</u> on <u>r</u> ecording)
SPE	Festphasenextraktion (<u>s</u> olid <u>p</u> hase <u>e</u> xtraction)
SPME	Festphasenmikroextraktion (<u>s</u> olid <u>p</u> hase <u>m</u> icro <u>e</u> xtraction)
THF	<u>T</u> etra <u>h</u> ydro <u>f</u> uran
TIC	Totalionenstrom (total <u>i</u> on <u>c</u> urrent)
TLC	Dünnschichtchromatographie (<u>t</u> hin <u>l</u> ayer <u>c</u> hromatography)
TP	<u>T</u> eil <u>p</u> rojekt
U	Umdrehungen
UV	<u>U</u> ltraviolett
VIS	sichtbares Licht (engl. <u>v</u> isible)

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Herstellung, Struktur und Bezeichnung von Alkylethoxylaten	2
Abbildung 2: Batchreaktor zur Herstellung von Ethylenoxidaddukten (Gawalek, 1975)	4
Abbildung 3: Primulin (C.I. 49000, Direct Yellow 59), gelb-grüne Fluoreszenz bei 365 nm.....	7
Abbildung 4: Gängige Derivatisierungsreagenzien für UV-/ Fluoreszenz-Detektion von AEO	9
Abbildung 5: Spülwasserbehandlung. Konzept des Sfb-Projektbereiches E.....	16
Abbildung 6: Prinzip des Elektrospray.....	23
Abbildung 7: Aufbau einer Elektrospray-Quelle, Z-Spray (nach Micromass, 1998)	25
Abbildung 8: Aufbau einer APCI-Quelle, Z-Spray (nach Micromass, 1998)	25
Abbildung 9: Detektionsprinzip der Atomemissionsdetektion.....	29
Abbildung 10: Schema des Atomemissionsdetektors nach Hewlett Packard (1992)	29
Abbildung 11: Mittlere Wiederfindungsraten von Brij 30-Homologen mit verschiedenen Alkylresten bei der LLE mit unterschiedlichen Lösungsmitteln	33
Abbildung 12: Überprüfung der Flüssig-Flüssig-Extraktion von wäßriger Brij 30-Lösung mit verschiedenen Lösungsmitteln: resultierende EO-Verteilungen der C12-Ethoxymere der Kontrolle und der Extrakte....	34
Abbildung 13: Mittlere Wiederfindungsraten von Brij 30-Homologen mit verschiedenen Alkylresten bei der Festphasenextraktion an Umkehrphasen mit verschiedenen Elutionsmitteln	37
Abbildung 14: Festphasenextraktion von wäßriger Brij 30-Lösung an RP-C18 und RP-C8 mit verschiedenen Elutionsmitteln, resultierende EO-Verteilungen der C12-Ethoxymere der Kontrollen und der Extrakte ..	38
Abbildung 15: Mittlere Wiederfindungen von Brij 30-Homologen mit verschiedenen Alkylresten bei der Festphasenextraktion an Isolute ENV+ mit verschiedenen Elutionsmitteln	39
Abbildung 16: Mittlere Wiederfindungen von Homologen mit verschiedenen Alkylresten bei der Festphasenextraktion an ENVI-CARB mit Dichlormethan-Methanol (8:2, v/v) Elution	41
Abbildung 17: Festphasenextraktion von wäßriger Eumulgin P-Lösung an ENVI-CARB mit Dichlormethan-Methanol (8:2, v/v) Elution, resultierende EO-Verteilungen der C16-Ethoxymere der Kontrolle und des Extraktes	41
Abbildung 18: Struktur von APG und AES.....	42
Abbildung 19: Aufarbeitung von Wasch- und Reinigungsmittelproben	45
Abbildung 20: Silylierung mit BSTFA.....	47
Abbildung 21: Vergleich der KAS-Injektion mit der on-column-Injektion.	48
Abbildung 22: HT-GC- Trennung von Brij 30 (2 µg) mit Atomemissionsdetektion in der Kohlenstoff-Spur	50

Abbildung 23: Retentionszeitendiagramm von silylierten AEO im HT-GC-AED-System.....	51
Abbildung 24: HT-GC- Trennung von silyliertem Brij 30 (5 µg) mit Atomemissionsdetektion in der Silizium-Spur.....	52
Abbildung 25: Universelle Kalibrierung in der Kohlenstoff-Spur (193 nm) ohne Derivatisierung. Auftragung der Elementsignalfläche gegen die injizierte Stoffmenge Kohlenstoff.....	54
Abbildung 26: Universelle Kalibrierung in der Kohlenstoff-Spur (193 nm) nach Silylierung mit BSTFA. Auftragung der Elementsignalfläche gegen die injizierte Stoffmenge Kohlenstoff.....	55
Abbildung 27: Universelle Kalibrierung in der Silizium-Spur (Si 251 nm) nach Silylierung. Auftragung der Elementsignalfläche gegen die injizierte Stoffmenge Silizium.....	57
Abbildung 28: HT-GC- Trennung von silyliertem Brij 30 (a) und acetyliertem Brij 30 (b) mit Atomemissionsdetektion in der Sauerstoff-Spur.....	58
Abbildung 29: HT-GC- Trennung von acetyliertem Brij 30 mit Atomemissionsdetektion in der Kohlenstoff-Spur	59
Abbildung 30: Prozentuale Ethoxymereverteilung der C12-Ethoxymere von Brij 30 mittels Messung in der HT-GC-AED Kohlenstoff-, Silizium- und Sauerstoff-Spur.....	60
Abbildung 31: Universelle Kalibrierung in der Kohlenstoff-Spur (C 193 nm) nach Silylierung mit polynomischer Anpassung. Auftragung der Elementsignalfläche gegen die injizierte Stoffmenge Kohlenstoff.....	61
Abbildung 32: Universelle Kalibrierung in der Silizium-Spur (Si 251 nm) nach Silylierung mit polynomischer Anpassung. Auftragung der Elementsignalfläche gegen die injizierte Stoffmenge Silizium.....	61
Abbildung 33: Vergleich der prozentualen Alkylkettenverteilung von Brij 30 mittels Messung in der HT-GC-AED Kohlenstoff-, Silizium- und Sauerstoff-Spur.....	63
Abbildung 34: Vergleich der prozentualen Ethoxymereverteilung der C12-Ethoxymere von Brij 30 mittels Messung in der HT-GC-AED Kohlenstoff-Spur über einen Zeitraum von 3 Monaten	64
Abbildung 35: Vergleich der prozentualen Alkylkettenverteilung von Brij 30 mittels Messung in der HT-GC-AED Kohlenstoff-Spur über einen Zeitraum von 3 Monaten	65
Abbildung 36: TIC-Chromatogramm von Brij 30. Injiziert wurden 2,5 µg	67
Abbildung 37: EI-Massenspektrum des underivatisierten C12-Alkohols	68
Abbildung 38: Fragmente von verzweigten Alkoholen, die im Spektrum überwiegen.....	68
Abbildung 39: EI-Massenspektrum von C12E3, underivatisiert.....	69
Abbildung 40: TIC-Chromatogramm von 2,5 µg Brij 30, derivatisiert mit BSTFA	70
Abbildung 41: EI-Massenspektrum von C12E0, silyliert.....	70
Abbildung 42: EI-Massenspektrum von C12E3, silyliert.....	71
Abbildung 43: TIC-Chromatogramm von 2,5 µg Brij 30, underivatisiert.....	72
Abbildung 44: PCI-Massenspektrum von C12E0, underivatisiert.....	72

VIII

Abbildung 45: PCI-Massenspektrum von C12E3, underivatisiert.....	73
Abbildung 46: Derivatisierung mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid	75
Abbildung 47: RP-C18-HPLC der mit DNBC derivatisierten Gemische Brij 30 (a) und Brij 56 (b)	76
Abbildung 48: NP-NH ₂ -HPLC von Brij 30, mit DNBC derivatisiert.....	78
Abbildung 49: NP-NH ₂ -HPLC von Brij 56, mit DNBC derivatisiert.....	79
Abbildung 50: NP-NH ₂ -HPLC von Brij 76, mit DNBC derivatisiert.....	80
Abbildung 51: RP-HPLC von mit DNBC derivatisierten Standardsubstanzen	81
Abbildung 52: Molare Responsefaktoren der derivatisierten Standardsubstanzen aus der RP-HPLC-Trennung von Abbildung 51	82
Abbildung 53: Universelle Kalibriergeraden für mit DNBC derivatisierte Alkohole und AEO	82
Abbildung 54: Prozentuale Ethoxymereverteilung von Brij 30	83
Abbildung 55: Prozentuale Ethoxymereverteilung von Brij 56	84
Abbildung 56: Reaktion von ungesättigten AEO mit Bromwasserstoff.....	86
Abbildung 57: EI-GC-MS-Analyse der Alkylkettenverteilung von Eumulgin ET5 nach Etherspaltung mit Bromwasserstoff über die entstandenen Alkylbromide	87
Abbildung 58: EI-Massenspektrum von C ₁₈ H ₃₇ Br	87
Abbildung 59: EI-Massenspektrum von C ₁₈ H ₃₆ Br ₂	88
Abbildung 60: PCI-Massenspektrum von C ₁₈ H ₃₆ Br ₂	89
Abbildung 61: PCI-Massenspektrum von C ₁₈ H ₃₇ Br.....	89
Abbildung 62: GC-AED-Chromatogramme der Kohlenstoff- und Brom-Spur von Brij 30 nach Behandlung mit Bromwasserstoff	91
Abbildung 63: Kalibrierung mit Alkylbromiden aus der HBr-Spaltung von C14-, C16- und C18-Alkohol.....	92
Abbildung 64: Tochterionenspektren von C18E6 und C18E8 als Protonenaddukte	96
Abbildung 65: Einfluß der Cone-Spannung bei der FIA-MS von Brij 30 gelöst in Acetonitril ohne Derivatisierung.....	97
Abbildung 66: Signalooptimierung mit Cone-Spannung. Auftragung der optimierten Cone-Spannung gegen das Masse/Ladungsverhältnis des Ions. FIA-MS von Ammoniumaddukten von Brij 30-Oligomeren	98
Abbildung 67: FIA-MS, Elektrospray, positiv mit Detektion der Natrium- bzw. Ammoniumaddukte der Oligomere von Brij 30	99
Abbildung 68: Struktur eines Ammoniumclusters von NH ₄ ⁺ mit Polyethylenglycol und ethoxylierten Verbindungen bei der CI nach Scheidegger (1995).....	100
Abbildung 69: Normierte molare Responsefaktoren von Brij 30-Oligomeren; FIA-MS, Elektrospray, positiv; Detektion als NH ₄ ⁺ -Addukte.....	101

Abbildung 70: Normierte molare Responsefaktoren von Brij 76-Ethoxymyren; FIA-MS, APCI positiv, Detektion als Na ⁺ -Addukte.....	102
Abbildung 71: Vergleich der FIA-MS, Elektrospray von Brij 30 underivatisiert, Detektion im positiven Modus von Ammoniumaddukten und Brij 30, derivatisiert mit PA, Detektion im negativen Modus	106
Abbildung 72: Signaloptimierung mit Cone-Spannung. Auftragung der optimierten Cone-Spannung gegen das Masse/Ladungsverhältnis des Ions. FIA-MS von PA-Derivaten von Brij 30-Oligomeren, Elektrospray, negativ.....	107
Abbildung 73: Normierte molare Responsefaktoren von mit PA derivatisierten Brij 76-Ethoxymyren; FIA-MS, Elektrospray negativ	108
Abbildung 74: Normierte molare Responsefaktoren von mit PA derivatisierten AEO-Reinsubstanzen; Detektion im UV (210 nm) nach RP-HPLC im Vergleich zur Detektion mit FIA-MS, APCI, negativ	110
Abbildung 75: Prozentuale Ethoxymyrenverteilung von Brij 30 bestimmt durch universelle Kalibrierung mittels FIA-MS, Elektrospray negativ nach Derivatisierung mit PA	111
Abbildung 76: Prozentuale Ethoxymyrenverteilung von Emulsogen P bestimmt durch universelle Kalibrierung mittels FIA-MS, Elektrospray, negativ, nach Derivatisierung mit PA.....	112
Abbildung 77: Prozentuale Ethoxymyrenverteilung von Brij 76 bestimmt durch universelle Kalibrierung mittels FIA-MS, Elektrospray, negativ, nach Derivatisierung mit PA	112
Abbildung 78: Veränderung der prozentualen Ethoxymyrenverteilung der C12-Ethoxymyren von Brij 30 über einen Zeitraum von 3 Jahren.....	114
Abbildung 79: Vergleich der prozentualen Alkylkettenverteilung von Brij 30 mittels Messung in der HT-GC-AED Kohlenstoff-Spur über einen Zeitraum von 3 Jahren.....	114
Abbildung 80: HT-GC-AED-Trennung von Genapol UDD-079 nach Silylierung (Kohlenstoff Spur bei 193 nm)	116
Abbildung 81: Vergleich der prozentualen Alkylkettenverteilung von Genapol UDD-079 durch Bestimmung der Silylderivate in der HT-GC-AED Kohlenstoff-Spur sowie durch Bestimmung der Alkylbromide nach Behandlung mit HBr.....	117
Abbildung 82: Vergleich der prozentualen Ethoxymyrenverteilung von Genapol UDD-079 mittels HT-GC-AED und NP-NH ₂ -HPLC-UV	118
Abbildung 83: Prozentuale Ethoxymyrenverteilung von Emulsogen P mittels HT-GC-AED (C16-Ethoxymyren)	119
Abbildung 84: HT-GC-AED von Eumulgin ET5 nach Silylierung (Kohlenstoff-Spur bei 193 nm)	120
Abbildung 85: Alkohole von Eumulgin ET5. Vergrößerter Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm von Abbildung 84	121

Abbildung 86: Vergleich der prozentualen Alkylkettenverteilung von Eumulgin ET5 durch Bestimmung der Alkylbromide nach Behandlung mit HBr, Bestimmung der Silylderivate in der HT-GC-AED Kohlenstoff-Spur und dem Fettsäurespektrum von Rindertalg	122
Abbildung 87: Prozentuale Ethoxymereverteilung von Eumulgin ET5	123
Abbildung 88: Vergleich der prozentualen Alkylkettenverteilung von Eumulgin ET5 vor und nach Durchgang durch eine Ultrafiltrationsmembran aus Polyvinylidifluorid (Fa. Koch) mit einem CutOff von 10000 D .	125
Abbildung 89: Vergleich der prozentualen Alkylkettenverteilung von Brij 30 (Deutsche ICI, Essen) vor und nach Durchgang durch eine Ultrafiltrationsmembran aus Polyethersulfon (Fa. Berghof) mit einem CutOff von 5000 D	126
Abbildung 90: Veränderungen der prozentualen Alkylkettenverteilung von Eumulgin ET5 vor und nach der einstufigen Schaumfraktionierung	127
Abbildung 91: Veränderungen der prozentualen Alkylkettenverteilung von Eumulgin ET5 während der vierstufigen Schaumfraktionierung.....	128
Abbildung 92: Einfluß der vierstufigen Schaumfraktionierung von Eumulgin ET5 aus Abbildung 91 auf gesättigte und ungesättigte Alkylreste (bezogen auf C18 gesamt).....	129
Abbildung 93: Veränderungen der prozentualen Alkylkettenverteilung von Genapol UDD-079 während der vierstufigen Schaumfraktionierung.....	130
Abbildung 94: Veränderungen der prozentualen Alkylkettenverteilung eines AEO-Gemisches (80% Genapol UDD-079 und 20% Eumulgin ET5) vor und nach der einstufigen Schaumfraktionierung.....	131
Abbildung 95: Veränderungen der prozentualen Alkylkettenverteilung eines AEO-Gemisches (50% Genapol UDD-079 und 50% Eumulgin ET5) vor und nach der einstufigen Schaumfraktionierung.....	132
Abbildung 96: Alkylkettenverteilung im Eluat im Verlauf des Durchbruchs einer Konzentrationsstufe von Genapol UDD-079 (wäßrige Lösung, Adsorbens: Controlled-Pore Glass CPG-10/500, mittlerer Porendurchmesser 500 Å, spezifische Oberfläche 69 m ² /g)	133
Abbildung 97: Verteilung der Oligomeren im Eluatstrom im Verlauf des Durchbruchs der Konzentrationsstufe von Genapol UDD-079 (wäßrige Lösung, Adsorbens: CPG-10/500).....	135
Abbildung 98: Gesamtkonzentration, Alkylkettenverteilung und mittlerer Ethoxyierungsgrad von Genapol UDD-079 in der angereicherten Fraktion und der abgereicherten Fraktion im Vergleich mit der Stammlösung (Feedstrom des Prozesses)	136
Abbildung 99: Verlauf von Adsorption und Abbau von Eumulgin ET5 im Batchversuch. Analyse von membranfiltrierten Proben und Vergleich von gemessenem DOC und theoretischem DOC aus der Bestimmung der Eumulgin ET5-Konzentration	138
Abbildung 100: Angenommener Abbauweg von AEO am Beispiel von C12E3 in Abbauversuchen des TP E3b (nach Steber und Wierich, 1984)	139
Abbildung 101: Ausschnitt der Massenspektren nach Fließinjektions-Analyse von ET5-Zulauf und Ablauf aus erster Reaktorstufe	140

Abbildung 102: HT-GC-AED, Kohlenstoff-Spur, nach Silylierung von mittels SPE aufgearbeiteten, biomassehaltigen Proben aus dem Batch-Abbau von Brij 30 (Deutsche ICI, Essen)	142
Abbildung 103: HT-GC-AED Kohlenstoff-Spur (oben) und Silizium-Spur (unten) von Spee Tabs Vollwaschmittel, silyliert.....	146
Abbildung 104: HT-GC-AED Kohlenstoff-Spur (oben) und Silizium-Spur (unten) von Bübchen Baby Bad, silyliert	147
Abbildung 105: HT-GC-AED Kohlenstoff-Spur (oben) und Silizium-Spur (unten) von Crisan Intensiv Antischuppen-Shampoo, silyliert.....	149
Abbildung 106: RP-C18-HPLC von mit DNBC derivatisiertem Vollwaschmittel Spee Tabs.....	150
Abbildung 107: RP-C18-HPLC von mit DNBC derivatisiertem Crisan Intensiv Antischuppen-Shampoo	151
Abbildung 108: RP-C18-HPLC von mit DNBC derivatisiertem Brij 30 nach Aufarbeitung.....	151
Abbildung 109: FIA-MS, Massenspektrum APCI, positiv von Vollwaschmittel Spee Tabs. Detektion der Na ⁺ -Addukte.....	152
Abbildung 110: FIA-MS, Massenspektrum APCI positiv von Bübchen Baby Bad. Detektion der Na ⁺ -Addukte	153
Abbildung 111: FIA-MS, Massenspektrum APCI, positiv von Crisan Intensiv Antischuppen-Shampoo. Detektion der AEO als Na ⁺ -Addukte, Alkylethersulfat als H ⁺ -Addukte	154
Abbildung 112: GC-AED, Brom- und Kohlenstoff-Spur der Alkylbromide von Bübchen Baby Bad nach Behandlung mit Bromwasserstoff.....	155
Abbildung 113: GC-AED, Brom- und Kohlenstoff-Spur der Alkylbromide von Spee Tabs nach Behandlung mit Bromwasserstoff.....	156
Abbildung 114: Alkylkettenverteilung von Vollwaschmittel Spee Tabs mittels unterschiedlicher Bestimmungsmethoden.....	158
Abbildung 115: Vergleich der EO-Verteilung der C12-Ethoxymere von Vollwaschmittel Spee Tabs nach Analyse mit verschiedenen Bestimmungsmethoden. Werte von E0 und E1 der Verteilung der FIA-MS theoretisch.....	159
Abbildung 116: Vergleich der EO-Verteilung der C12-Ethoxymere von Crisan Antischuppen-Shampoo nach Analyse mit RP-HPLC-UV und HT-GC-AED Kohlenstoff- sowie Silizium-Spur	160
Abbildung 117: Vergleich der EO-Verteilung der C12-Ethoxymere von Brij 30 nach Analyse in Gegenwart von Matrix	161

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Der Tensidverbrauch in Wasch- und Reinigungsmitteln, Deutschland 1997, nach Nitschke (1999).....	2
Tabelle 2: HPLC-Methoden mit unspezifischer Detektion ohne Derivatisierung	11
Tabelle 3: Verwendete SPE-Sorbentien mit apolarem Retentionsmechanismus.....	20
Tabelle 4: Unterschiede der ESI- und der APCI-Quelle.....	24
Tabelle 5: Werte der linearen Regression von Kalibriergeraden der Einzelsubstanzen	53
Tabelle 6: Werte der Linearen Regression von Kalibriergeraden der Einzelsubstanzen.....	54
Tabelle 7: C:Br-Verhältnis von Alkylbromiden	91
Tabelle 8: Derivatisierungen für die LC/FIA-MS im negativen Modus.....	104
Tabelle 9: Hochethoxylierte technische AEO-Gemische	123
Tabelle 10: Ergebnisse der Untersuchungen von Wasch- und Reinigungsmitteln (Alkylkettenverteilung, mittlerer molarer Ethoxyierungsgrad, Gehalt).....	157
Tabelle 11: Wiederfindungen von Brij 30 mit und ohne Anwesenheit von Probenmatrix Alkylkettenverteilung, EO-Grad und Wiederfindung.....	161

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

I. Publikationen:

C. Asmussen; H.-J. Stan: Determination of Non-Ionic Surfactants of the Alcohol Polyethoxylate Type by means of High Temperature Gas Chromatography and Atomic Emission Detection, in Sandra, P.; Rackstraw, A.J. (Ed.) Proceedings of the 20th International Symposium on Capillary Chromatography in Riva del Garda, Italien, 26.-29.05.1998. I.O.P.M.S. vzw, Kortrijk, Belgium.

C. Asmussen; H.-J. Stan: Determination of Non-Ionic Surfactants of the Alcohol Polyethoxylate Type by means of High Temperature Gas Chromatography and Atomic Emission Detection. J. High Resolut. Chromatogr. (1998) 21: 597-604.

Diese Arbeit wurde mit dem P.B. Czedik-Eysenberg Preis 1998 der Gesellschaft Österreichischer Chemiker, Arbeitsgruppe Lebensmittelchemie, Kosmetik und Tenside geehrt.

C. Asmussen; H.-J. Stan: Charakterisierung von Alkylethoxylaten – Beispiele prozeßbegleitender Analytik. Schriftenreihe des Sfb 193 "Biologische Abwasserreinigung" zu "Entwicklungen zur Produkt- und Wasserrückgewinnung aus Industrieabwässern" 1998, ISBN 3-7983-1778-8-X, S. 237-251.

A. Schreiner; C. Asmussen; U. Wiesmann; H.-J. Stan: Investigation of Aerobic Degradation Kinetics of Surfactants Using Respirometric Batch Experiments. Acta Biotechnol. (1999) 19: 293-304.

P. Billian; C. Asmussen; H.-J. Stan: Analytik nichtionischer Tenside mittels LC-MS. Schriftenreihe des Sfb 193 "Biologische Abwasserreinigung" zur "Anwendung der LC-MS in der Wasseranalytik" 1999, ISBN 3-7983-1796-8, S. 139-156.

II. Posterpräsentationen:

C. Asmussen; H.-J. Stan: Bestimmung von Alkylethoxylaten in Wasch- und Körperpflegemitteln mittels Hochtemperatur-Gaschromatographie. Lebensmittelchemikertag in Berlin, 16.-18.09.1997.

C. Asmussen; H.-J. Stan: Bestimmung von Alkylethoxylaten in Wasch- und Körperpflegemitteln mittels Hochtemperatur-Gaschromatographie. Symposium "Tag der Tenside" in Leipzig, 30.-31.03.1998.

C. Asmussen; H.-J. Stan: Determination of Non-Ionic Surfactants of the Alcohol Polyethoxylate Type by means of High Temperature Gas Chromatography and Atomic Emission Detection. 20th International Symposium on Capillary Chromatography in Riva del Garda, Italien, 26.-29.05.1998.

C. Asmussen; P. Billian; H.-J. Stan: Charakterisierung von Alkylethoxylaten. Würzburger Tagung "Fortschritte für Wasch- und Reinigungsmittel" in Würzburg, 03.-04.05.1999.

C. Asmussen; P. Billian; H.-J. Stan: Chemical Characterization of Alcohol Ethoxylates. 37th IUPAC Congress in Berlin, 14.-19.08.1999.

III. Vorträge:

C. Asmussen; H.-J. Stan: Bestimmung von Alkylethoxylaten in Kosmetika, Wasch- und Reinigungsmitteln mittels Hochtemperatur-Gaschromatographie und Atomemissionsdetektion. Vortrag anlässlich der Regionalverbandstagung Nord/Nordost der Gesellschaft Deutscher Chemiker, 20.-21.04.1998 in Lüneburg.

C. Asmussen; H.-J. Stan: Charakterisierung von Alkylethoxylaten – Beispiele prozeßbegleitender Analytik. Vortrag anlässlich des Kolloquiums "Entwicklungen zur Produkt- und Wasserrückgewinnung aus Industrieabwässern", 16.-17.11.1998 in Berlin.

C. Asmussen; H.-J. Stan: Bestimmung von Alkylethoxylaten mittels Hochtemperatur-Gaschromatographie und Atomemissionsdetektion. Vortrag anlässlich der Verleihung des P.B. Czedik-Eysenberg Preises der Gesellschaft Österreichischer Chemiker, Arbeitsgruppe Lebensmittelchemie, Kosmetik und Tenside, 11.03.1999 in Wien.

P. Billian; C. Asmussen; H.-J. Stan: Analytik nichtionischer Tenside mittels LC-MS. Vortrag anlässlich des Kolloquiums "Anwendung der LC-MS in der Wasseranalytik", 07.-08.06.1999 in Berlin.

1 EINLEITUNG

1.1 Tenside

Der Begriff "Tenside" (von lat. "tendere" = spannen) wurde 1960 von Götte eingeführt und bezeichnet grenzflächenaktive Stoffe. Frühere zum Teil aus dem englischen Sprachgebrauch übernommene und oft in abweichendem Sinn verstandene Benennungen wie "Syndets"¹, "Surfactants", "Waschrohstoffe" oder "waschaktive Stoffe" wurden von diesem Begriff weitgehend verdrängt. Die Bezeichnung "Tenside" ist daher auch nicht gleichbedeutend mit der ebenfalls aus dem Englischen übernommenen Bezeichnung "Detergentien"². Als Detergentien werden nach Bourne und Jennings (1963) Verbindungen definiert, die entweder allein oder in Mischung mit anderen Verbindungen den Arbeitsbedarf bei einem Reinigungsprozeß verringern (Römpp, 1981).

Die Grenzflächenaktivität, die insbesondere in Wasser auftritt und sich durch die Anreicherung der Tenside an Grenzflächen der wäßrigen Phase äußert, wird durch den amphiphilen Charakter der Tenside verursacht. Tensidverbindungen weisen stets einen hydrophilen (polaren) und einen hydrophoben (unpolaren) Teil auf. Diese Molekülstruktur führt zur Anordnung monomolekularer Filme an Oberflächen und ab einer charakteristischen Konzentration zur Aggregation zu größeren Molekülverbänden (Mizellen). In stark konzentrierten Tensidlösungen kann es sogar zur Bildung verschiedener flüssigkristalliner Phasen kommen (Kosswig und Stache, 1993).

Tenside werden im allgemeinen nach ihrem hydrophilen Rest klassifiziert und in ionische (anionische und kationische), zwitterionische (amphotere) und nichtionische Tenside unterteilt. Unter den nichtionischen Tensiden stellen Alkylethoxylate die wirtschaftlich bedeutendste Klasse dar.

Nach anwendungstechnischen Gesichtspunkten wie Reinigung, Emulgierung, Benetzung und Dispergierung lassen sich Tenside in Waschmitteltenside, Emulgatoren, Netzmittel und Dispergatoren unterteilen (Brockhaus, 1993). Tabelle 1 gibt einen Überblick über den Verbrauch von Tensiden in Wasch- und Reinigungsmitteln in Deutschland für das Jahr 1997 wieder.

¹ Abkürzung für synthetische Detergentien

² ursprünglich von lat. "detergere" = reinigen

Tabelle 1: Der Tensidverbrauch in Wasch- und Reinigungsmitteln, Deutschland 1997, nach Nitschke (1999)

	Verbrauch [t]	wichtigste Vertreter
Anionische Tenside	128 000	Lineare Alkylbenzolsulfonate, Alkansulfonate, Alkylsulfate, Alkylethersulfate
Nichtionische Tenside	78 000	Alkylethoxylate
Kationische Tenside	11 000	
Amphotere Tenside	6 000	

1.2 Alkylethoxylate

1.2.1 Herstellung und Struktur

Alkylethoxylate (AEO) werden durch Ethoxylierung³ von technischen Fettalkoholen aus der Fetthydrierung oder aus Alkanolen petrochemischer Herkunft (Oxoalkoholen) hergestellt. Bei der Ethoxylierung handelt es sich um eine basenkatalysierte Anlagerung von Ethylenoxid an ein Substrat mit acidem Wasserstoff (Abbildung 1).

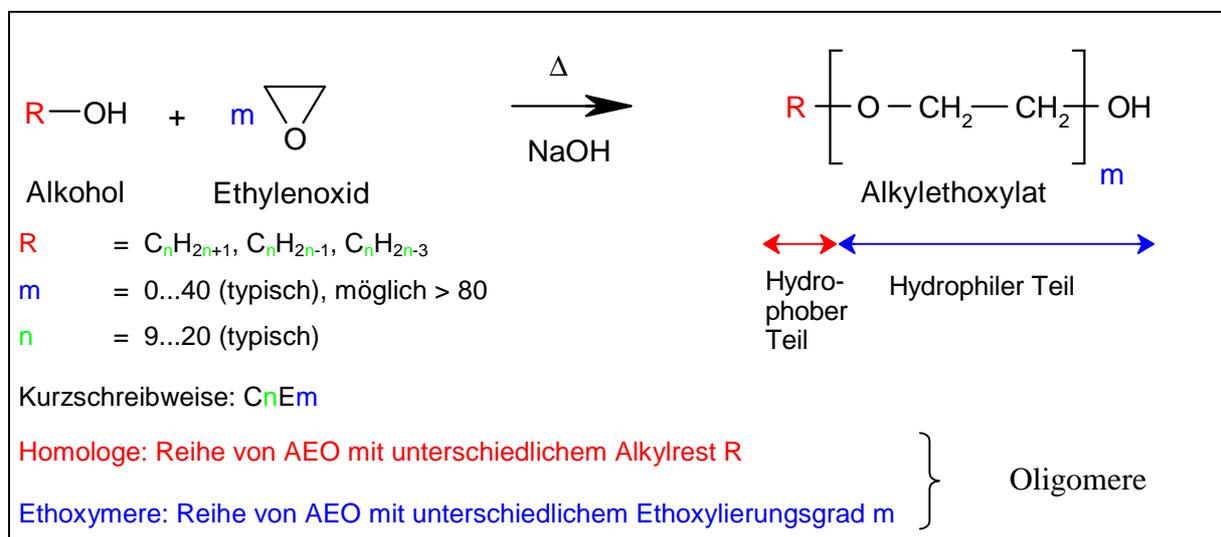


Abbildung 1: Herstellung, Struktur und Bezeichnung von Alkylethoxylaten

³ Die Begriffe "Ethoxylierung" und "Ethoxylate" werden von der Fachwelt akzeptiert. Terminologisch richtig handelt es sich aber um eine "Oxethylierung", d.h. um eine Anlagerung von Ethylenoxid. Hierbei geht das Sauerstoffatom des Ethylenoxids in eine Hydroxylgruppe über und das Ethylenoxid tritt mit einem seiner beiden Kohlenstoffatome elektrophil an das Substrat heran. Die Produkte heißen deshalb terminologisch richtig "Oxethylate" (Ullmann, 1982).

In der Regel werden an ein Mol Fett- oder Oxoalkohol mehrere Mol Ethylenoxid angelagert. Möglich sind Addukte mit über 80 Ethylenoxideinheiten (Desbène und Desmazières, 1994). Diese Anlagerung erfolgt nicht uniform, sondern führt zu einer Verteilung zwischen Polyethylenglykolethern unterschiedlichen Ethoxylierungsgrades (EO-Grad), die im Fall der Katalyse mit (Lewis)-Säuren wie z.B. Borfluorid einer Poisson-Verteilung nahe kommt. Da jedoch bei dieser Art der Katalyse unerwünschte Nebenprodukte wie 1,4-Dioxan oder Polyethylenglykole (PEG) entstehen, wird technisch überwiegend die alkalische Katalyse mit z.B. Natriumhydroxid angewendet. Bei dieser Katalyse enthält das Reaktionsprodukt wesentlich mehr Ausgangsalkohol (EO-Grad = 0), als bei gleicher Reaktivität aller Individuen zu erwarten wäre. Diese Abweichung erklärt sich durch die geringere Acidität des Alkohols (Kosswig und Stache, 1993).

Im Sinne der allgemeinen Bezeichnung "homologe Reihen" für Gruppen von chemisch nah verwandten Verbindungen, die sich nur in einem Kettenglied unterscheiden, werden als "**Homologe**" diejenigen AEO bezeichnet, die sich durch die Länge des Alkylrestes unterscheiden. In Abgrenzung hierzu werden in dieser Arbeit als "**Ethoxymere**" diejenigen AEO bezeichnet, die sich durch ein Kettenglied in der Polyethylenglykolkette, d.h. um eine Ethoxy-Einheit unterscheiden.

Die Kurzschreibweise für z.B. Heptaethylenglykollaurylether gibt zuerst die Kettenlänge des Alkylrestes und dann den EO-Grad in der knappen Form von "C12E7" an. Diese Schreibweise hat sich jedoch auch für technische Gemische eingebürgert, so daß die Kettenlänge und der EO-Grad dann die Mittelwerte darstellen.

In letzter Zeit werden neue Katalysatoren, wie z.B. calcinierter Hydrotalcit eingesetzt, die eine engere Ethoxymereverteilung und einen geringeren Anteil an Restalkohol bewirken. AEO mit schmalerer und höherer Verteilungskurve der Ethoxymere besitzen ein besseres Waschvermögen und wirken in Shampoo- und Duschbad-Formulierungen verdickend. Auf diese Weise können AEO als Verdickungsmittel die bisher eingesetzten Alkanolamide ersetzen, die durch ihre Freisetzung von Nitrosaminen gesundheitsschädigend wirken (Behler et. al, 1996). Andererseits wurden AEO mit einer breiten Ethoxymereverteilung als die besseren Emulgatoren befunden (Kosswig und Stache, 1993).

Ethoxylierungen werden auch im technischen Maßstab überwiegend diskontinuierlich, d.h. im Batch-Prozeß in Druckbehältern aus Edelstahl durchgeführt (Abbildung 2). Die Umsetzung des vorgelegten Substrats mit dem Flüssiggas Ethylenoxid (Kp: 10,7 °C) erfolgt bei 130 bis

180 °C in Gegenwart von üblicherweise 0,1 bis 1% Katalysator. Während der exothermen Reaktion muß intensiv gerührt und gekühlt werden (Ullmann, 1982).

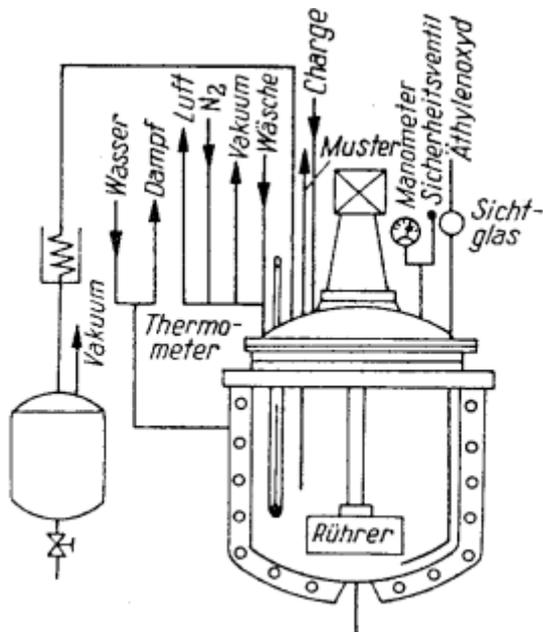


Abbildung 2: Batchreaktor zur Herstellung von Ethylenoxidaddukten (Gawalek, 1975)

1.2.2 Verwendung

Durch den Einsatz technischer Alkoholgemische verschiedener Kettenlängen und der Einstellung beliebiger EO-Grade ist eine große Variabilität in der Zusammensetzung der AEO-Gemische möglich. Dies hat zur Folge, daß AEO-Gemische für jeden Einsatzzweck maßgeschneidert werden können. Sie werden als Waschmitteltenside meist in Kombination mit ionischen Tensiden, als Netzmittel und Emulgatoren in Pflanzenschutzmittel-Formulierungen und als Dispergatoren, z.B. bei der Zubereitung von Farben, eingesetzt. In kosmetischen Formulierungen dienen AEO als Emulgatoren, Lösungsvermittler und Verdickungsmittel mit guter Hautverträglichkeit (Koswig und Stache, 1993). Die aliphatischen Alkylethoxylate haben die früher vielfach eingesetzten Ethoxylate der Alkylphenole (Alkylphenolethoxylate) infolge deren unzureichenden biologischen Abbaubarkeit weitgehend verdrängt. Das gleiche gilt für die Propylenoxid-Addukte von Fett- oder Oxoalkoholen, die infolge einer Verzweigung in der Polyetherkette ebenfalls schlechter biologisch abbaubar sind.

1.2.3 Stand der Analytik

Infolge der Vielzahl an einsetzbaren Rohstoffen und EO-Graden von typischerweise E0 bis E40, stellen kommerzielle technische AEO sehr komplexe Gemische dar. Handelt es sich um ein technisches Gemisch oleochemischer Herkunft (ca. 40% der Gesamtproduktion) weisen die Komponenten geradzahlige lineare Alkylketten von C12 bis C18 auf, die auch ungesättigt vorkommen können. Ist das AEO-Gemisch von petrochemischer Herkunft (ca. 60% der Produktion), können die Alkylreste zwischen 9 und 15 C-Atome aufweisen und linear bis einfach verzweigt sein. Alkanole mit hoch verzweigten Alkylresten werden zusätzlich in ca. 10% der technischen AEO-Gemische eingesetzt. Aufgrund dieser Vielzahl an möglichen Alkyl- und Polyethylenglykolresten sind nach Marcomini und Zanette (1996) mehr als 2500 homologe und ethoxymere Einzelverbindungen in technischen Alkylethoxylaten im Einsatz. Sie decken einen weiten Polaritäts- und Molmassenbereich von 144 D (C9E0) bis über 2000 D ab und weisen dadurch bedingt Eigenschaften von flüchtig bis schwerverdampfbar auf. Da sie strukturell kein Chromophor und damit keine UV-Aktivität aufweisen und nur wenige der Einzelkomponenten kommerziell als Reinsubstanz erworben werden können, stellen diese komplexen AEO-Gemische hohe Anforderungen an die Analytik.

Es verwundert daher nicht, daß zunächst nur Analysemethoden entwickelt wurden, die AEO summarisch erfassen, wie beispielsweise die potentiometrische Bestimmung von Ethoxylaten nach Fällung mit Dragendorff-Reagenz⁴ (bismutaktive Substanz nach DIN 38 409, 1980). Jedoch kann diese Methode AEO erst ab einem EO-Grad von 3 erfassen und interferiert mit Matrix-Inhaltsstoffen, was zu Überbefunden führen kann (Matthijs und Hennes, 1991).

1.2.3.1 Gaschromatographie (GC)

Für eine chromatographische Auftrennung der Einzelsubstanzen können unterschiedliche instrumentelle Methoden, wie Dünnschichtchromatographie (engl.: thin layer chromatography: TLC), Hochleistungsflüssigchromatographie (engl.: high performance liquid chromatography: HPLC), Kapillarelektrophorese (engl.: capillary electrophoresis: CE) oder überkritische Fluidchromatographie (engl.: supercritical fluidchromatography: SFC) angewendet werden. Mit diesen Methoden können jedoch die zahlreichen Komponenten nur unzureichend getrennt werden, wodurch eine Einzelkomponentenanalytik erschwert wird. Die

⁴ Basisches Bismut(III)nitrat, Kaliumiodid, Eisessig und Bariumchlorid

Hochtemperatur-Gaschromatographie (HT-GC) (Sandra und David, 1990; Silver und Kalinoski, 1992; Rasmussen et al., 1994) weist im Methodenvergleich das größte Auflösungsvermögen auf und ist in der Lage, die Einzelkomponenten sowohl nach der Länge des Alkylrestes als auch nach dem EO-Grad aufzutrennen. Die von Silver et al. (1992) und Rasmussen et al. (1994) gewählte Kopplung der HT-GC mit dem Flammenionisationsdetektor (FID) schafft die Möglichkeit, alle Einzelkomponenten zu quantifizieren, ohne daß alle Reinsubstanzen zur Verfügung stehen müssen. Dieser Art von universellen Kalibrierung liegt das Prinzip der effektiven Kohlenstoffzahl (engl.: theory of effektive carbon number) nach Sternberg et al. (1962) zugrunde, mit deren Hilfe relative molare FID-Responsefaktoren berechnet werden können, ohne daß externe Standards herangezogen werden müssen. In dieser Eigenschaft ist der unspezifische FID der Massenspektrometrie (MS) überlegen, da infolge der Strukturabhängigkeit der Ionisierung die MS keine berechenbaren Responsefaktoren liefert. Zudem können herkömmliche GC-MS-Geräte nicht bei den benötigten hohen Temperaturen betrieben werden (Marcomini und Zanette, 1996). Die GC-MS wurde daher nur zur qualitativen Analyse von AEO angewendet: Julià-Danés und Casanovas führten 1979 qualitative massenspektrometrische Untersuchungen an nichtionischen Tensiden mittels Direkteinlaß und Elektronenstoßionisierung (EI) durch. Komárek et al. (1996 und 1997) nutzten GC-MS mit EI zur Bestimmung von relativen Retentionsindices von derivatisierten und underivatisierten niedrig ethoxylierten AEO. Scheidegger untersuchte 1995 Abwasserproben mit Aufarbeitung nach der Ausblasmethode und Analyse mittels GC-MS und chemischer Ionisation (CI). Aus oben genannten Gründen konnte er jedoch ebenfalls keine Quantifizierung der AEO-Gemische durchführen, da nicht alle Reinsubstanzen als Referenzen zur Verfügung standen.

Die HT-GC erfordert infolge der zunehmenden Schwerflüchtigkeit höher ethoxylierter Verbindungen eine geeignete Derivatisierung zur Maskierung der polaren endständigen Hydroxylgruppe. Bei höher ethoxylierten Gemischen ist jedoch auch nach Derivatisierung eine Verdampfbarkeit der hochethoxylierten Komponenten nicht mehr gewährleistet. Die Einzelkomponentenquantifizierung von AEO-Gemischen mit hohem EO-Grad erfordert daher eine Analytik mit flüssigchromatographischen Methoden (engl.: liquid chromatography: LC).

1.2.3.2 Dünnschichtchromatographie

Die TLC war eine der ersten chromatographischen Trennmethode, die auf AEO angewendet wurde. Sie eignet sich zum schnellen Screening von tensidhaltigen Proben (Patterson et al., 1967; König, 1970). An Kieselgel-Normalphasen (NP) gelingt die Auftrennung nach dem EO-Grad und an Umkehrphasen (engl.: reversed phase: RP) nach der Länge des Alkylrestes. Das geringe Auflösungsvermögen bei der Trennung nach dem EO-Grad konnte durch Weiterentwicklungen bis zur Hochleistungsdünnschichtchromatographie (Rothbächer et al., 1993) und automatischer Mehrfachentwicklung verbessert werden (Fischesser und Seymour, 1977). Probleme bereiten jedoch die Detektionsmethoden, die einen strukturabhängigen nichtlinearen Response zeigen und damit keine universelle Kalibrierung erlauben. Dies ist z.B. bei der Detektion mit dem modifizierten Dragendorff-Reagenz, einem universellen Detektionsreagenz für ethoxylierte Verbindungen, der Fall. Das Gleiche gilt auch für das in Abbildung 3 dargestellte Reagenz Primulin (Hohm, 1990), welches sich an Alkylreste anlagert und damit deren Fluoreszenzdetektion erlaubt. Primulin kann jedoch nicht bei Umkehrphasen eingesetzt werden, da diese selbst Alkylreste tragen.

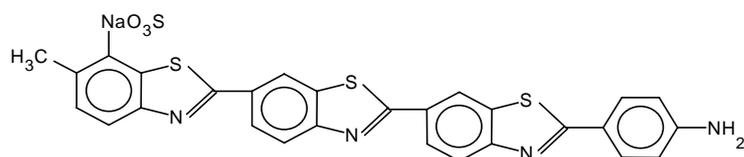


Abbildung 3: Primulin (C.I. 49000, Direct Yellow 59), gelb-grüne Fluoreszenz bei 365 nm

Die mangelnde UV-Aktivität der AEO kann durch geeignete Derivatisierung behoben werden. Diese chromophoren Gruppen führen jedoch zu Problemen bei der Trennung der Derivate, da niedrig ethoxylierte Komponenten zu unpolar und zu chemisch ähnlich werden, um die Auftrennung an der Normalphase nach dem EO-Grad zu ermöglichen (Stan et al., 1998).

Eine Abhilfe hierzu bietet die Kopplung der TLC mit dem FID, der wie oben dargelegt, eine universelle Kalibrierung erlaubt (Sato et al., 1988; Saito et al., 1989).

1.2.3.3 Überkritische Fluidchromatographie

Die SFC (Sandra und David, 1990; Krusche, 1990; Silver und Kalinoski, 1992; Murphy et al., 1998) nimmt eine Zwischenstellung zwischen LC und GC ein. Eine Derivatisierung ist bei der Kopplung mit dem FID nicht zwingend notwendig, sie verbessert jedoch die Peakform und Auflösung entscheidend (Sandra und David, 1990). Als Eluenten werden überkritische Gase verwendet - zur Zeit wegen der FID-Kompatibilität hauptsächlich Kohlendioxid.

1.2.3.4 Kapillarelektrophorese

Elektrophoretische Auftrennungen von AEO sind trotz ihres nichtionischen Charakters möglich. Basierend auf der Bildung von Assoziationskomplexen mit anionischen Tensiden wird eine Migration ermöglicht. Diese Variante der CE, die üblicherweise mit UV-Detektion gekoppelt wird, wurde jedoch nur zur Untersuchung der UV-aktiven Alkylphenoethoxylate angewendet (Heinig et al., 1997). Um die UV-Detektion von AEO zu ermöglichen, wurden Derivatisierungen mit Phthalsäureanhydrid (Wallingford, 1996; Heinig et al., 1998) bzw. Trimellitsäureanhydrid (Barry et al., 1998) durchgeführt, die zusätzlich zu dem Chromophor eine oder zwei Carboxylgruppen in das Molekül einführen und damit die Migration im elektrischen Feld - ohne Zuhilfenahme von Assoziationen - erlaubt. Quantifizierungen wurden mit diesen Methoden nicht durchgeführt. Die Derivatisierung mit Phthalsäureanhydrid und Trimellitsäureanhydrid wird in Abschnitt 4.7.4 näher beschrieben.

1.2.3.5 Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) mit UV-Detektion

Bedingt durch die bereits erwähnte mangelnde UV-Aktivität der Alkylethoxylate erfordert auch die HPLC eine geeignete Derivatisierung, wenn konventionelle Detektionsmethoden wie die UV-Absorptions- (kurz UV) oder Fluoreszenz-Detektion eingesetzt werden. Es wurde zwar auch die UV-Detektion von underivatisierten AEO im niedrigen Wellenlängenbereich ≤ 220 nm eingesetzt (Aserin et al., 1984). Hier handelt es sich jedoch um unspezifische Absorptionen, die eher auf der Änderung des Brechungsindex oder Lichtstreuungsphänomenen beruhen (Trathnigg und Kollroser, 1997) und stark durch Laufmittelgradienten und Matrix beeinflusst werden. Eine Auswahl an gängigen Derivatisierungsreagenzien für UV und Fluoreszenz - letztere erlauben eine wesentlich empfindlichere Detektion - wird in Abbildung 4 dargestellt.

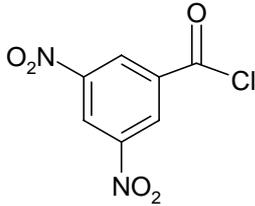
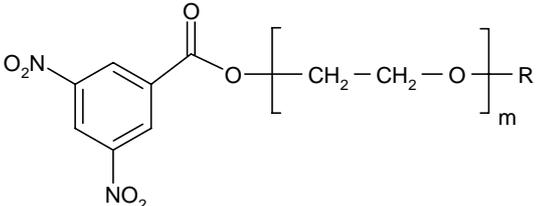
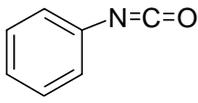
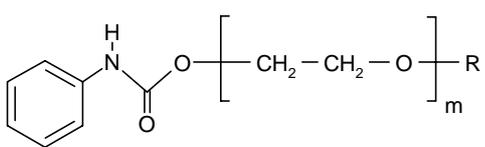
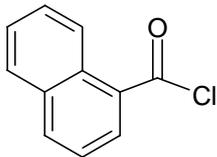
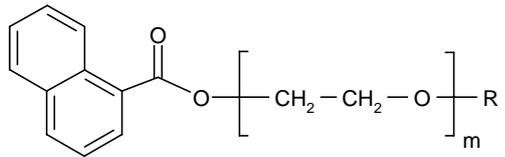
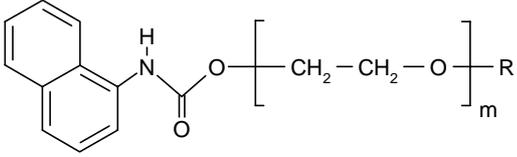
Reagenz	Derivat	Referenz (HPLC-Methode)
 <p>3,5-Dinitrobenzoylchlorid (DNBC)</p>	 <p>UV-Absorption bei 254 nm</p>	<p>Nozawa und Ohnuma, 1980 (RP)</p> <p>Desbène et al., 1989 (RP / NP-Diol, NP-Cyano)</p> <p>Sun et al., 1997 (NP-Amino / RP)</p>
 <p>Phenylisocyanat (PIC)</p>	 <p>UV-Absorption bei 240 nm</p>	<p>Allen und Linder, 1981 (NP)</p> <p>Schmitt et al., 1990 (RP / NP)</p> <p>Nitschke und Huber, 1993 (RP / NP)</p> <p>Kiewiet et al., 1995 (RP)</p> <p>Stan et al., 1998 (RP)</p> <p>Heinig et al., 1998 (RP)</p>
 <p>1-Naphthoylchlorid (NC)</p>	 <p>Fluoreszenz bei 228 - 368 nm</p>	<p>Zanette et al., 1996 (RP / NP)</p> <p>Marcomini et al., 1998 (RP)</p> <p>Aranda und Burk, 1998 (RP)</p> <p>Derivatisierung postcolumn mit Katalysator DMAP</p>
 <p>1-Naphthylisocyanat (NIC)</p>	 <p>Fluoreszenz bei 225 - 354 nm</p>	<p>Lemr et al., 1994 (RP)</p> <p>Zanette et al., 1996 (RP / NP)</p> <p>Tolls et al., 1999 (RP)</p>

Abbildung 4: Gängige Derivatisierungsreagenzien für UV-/ Fluoreszenz-Detektion von AEO

Die UV-Detektion hat den Vorteil, daß hier von einem molaren Response ausgegangen werden kann, vorausgesetzt die Derivatisierung jeder Komponente wird mit der gleichen Ausbeute vollzogen (Sun et al., 1997). Auf diese Weise kann auch hier eine (universelle) Quantifizierung durchgeführt werden, ohne daß alle Einzelkomponenten als Standardsubstanzen vorliegen müssen.

Nachteile der HPLC-UV-Methode sind jedoch die geringe Auflösung bei der Auftrennung nach Einzelkomponenten und die mangelnde Selektivität und Empfindlichkeit des UV-Detektors. Letztere können beim Einsatz eines Fluoreszenzdetektors etwas verbessert werden. Günstiger ist es, analog zur TLC, separat nach dem hydrophoben bzw. hydrophilen Teil der AEO aufzutrennen. Die Umkehrphasen bieten bei geeigneter Laufmittelwahl (und Derivatisierung) die alleinige Trennung der AEO nach dem hydrophoben Teil, d.h. der Länge des Alkylrestes. Diese Trennung wird in der Literatur als "homolog-by-homolog separation" beschrieben. Hierbei eluieren alle Komponenten mit dem gleichen Alkylrest unter einem Peak, unabhängig vom EO-Grad. An Kieselgel-Normalphasen oder den robusteren chemisch modifizierten Normalphasen gelingt die Auftrennung allein nach dem hydrophilen Teil der AEO, also nach der Länge der Ethoxylatkette. Letzteres wird in der Literatur als "ethoxymer-by-ethoxymer separation" bezeichnet, wobei alle Komponenten mit dem gleichen EO-Grad, unabhängig von der Länge des Alkylrestes coeluieren. Die separate Bestimmung von Alkylkettenverteilung und Ethoxymereverteilung (EO-Verteilung) stützt sich auf die Annahme, daß alle Edukte zum gleichen Anteil mit dem Ethylenoxid reagieren und alle Homologen mit unterschiedlichen Alkylresten die gleiche EO-Verteilung aufweisen. Dies wurde in der Praxis gefunden (Krusche, 1990), ist aber theoretisch keine korrekte Annahme (Cserháti und Forgács, 1997).

1.2.3.6 HPLC mit weiteren, universellen Detektionsmethoden

HPLC-Detektoren wie der Brechungsindex-Detektor (engl.: refractive index detector: RID) oder der Lichtstreuendetektor (engl.: evaporative light scattering detector: ELSD) haben den Vorteil, daß sie keine vorherige Derivatisierung der AEO erfordern. Allerdings besitzen sie nicht die nötige Empfindlichkeit, welche zur Detektion der Einzelkomponenten in den komplexen Gemischen notwendig ist. Es müssen größere Konzentrationen injiziert werden, die wiederum die analytische Trennsäule überladen. Zudem kann bei der RI-Detektion nur isokratisch getrennt werden, was eine Auftrennung nach Einzelkomponenten sehr erschwert. Die Responsefaktoren bei der RI-Detektion korrelieren zwar linear zum Alkylrest, sie variieren aber signifikant und nicht linear mit dem EO-Grad (Desbène et al., 1996), so daß eine Kalibrierung nur unter Zuhilfenahme aller Standards bewerkstelligt werden kann. Auch der ELSD birgt Probleme bei der Anwendung von Laufmittelgradienten. Der Response ist nicht linear und neben vielen anderen Faktoren abhängig von der Laufmittelzusammensetzung. Die Tröpfchengröße beim Versprühen des Eluenten wird von der Verdampfbarkeit

des Eluentengemisches bestimmt (Rissler 1996). Ein abnehmender Gehalt an Wasser und ein zunehmender Gehalt an organischem Lösungsmittel bei RP-Gradienten erzeugen eine Abnahme der Tröpfchengröße und damit weniger Lichtstreuung der "Analytenpartikel". Da der Response hiermit von zahlreichen Variablen abhängig ist und der Detektor nur einen kleinen Konzentrationsbereich zwischen Sättigung und Nachweisgrenze erfassen kann, können zur Zeit noch keine allgemein gültigen Responsefaktoren für AEO ermittelt werden (Rissler, 1996). Tabelle 2 gibt eine Übersicht über Referenzen zu HPLC-Methoden mit unspezifischer Detektion, die keine Derivatisierung erfordern. McClure (1982) koppelte die HPLC mit einem Rotating Disc-FID, der jedoch nicht kommerziell erhältlich ist. Obwohl zur Detektion mit dem FID keine Derivatisierung notwendig ist, wurde hier zwecks höherer Auflösung bei der Normalphasen-HPLC eine Acetylierung der AEO vorgenommen. Mit dieser Methode konnten sehr gute Übereinstimmungen mit dem chemisch ermittelten mittleren EO-Grad gefunden werden.

Tabelle 2: HPLC-Methoden mit unspezifischer Detektion ohne Derivatisierung

Referenz	HPLC-Methode	Detektion
Aserin et al., 1984	NP	UV (220 nm)
Kibbey et al., 1996	NP	ELSD
Murphy et al., 1998	NP / RP	ELSD
König et al., 1985	RP	RI-Detektion
Desbène et al., 1996	RP	RI-Detektion
McClure, 1982	NP	FID (Acetylierung verbessert hier jedoch die Auflösung)

1.2.3.7 HPLC mit spezifischer massenspektrometrischer Detektion

Die Entwicklung von Kopplungstechniken der HPLC mit der Massenspektrometrie wie z.B. der Ionisierung unter Atmosphärendruck (engl.: atmospheric pressure ionization: API), erlaubt es, den Nachteil der unzureichenden Auflösung in der HPLC durch den Vorteil der selektiven Detektion zu kompensieren. Aufgrund der massenselektiven Detektion ist lediglich eine Antrennung der Komponenten bzw. allenfalls eine Abtrennung möglicher störender Komponenten erforderlich. Ist keine störende Matrix vorhanden, kann mit einer API-Quelle sogar eine Fließinjektionsanalyse (FIA), also die direkte Aufgabe der flüssigen Probe in das

Massenspektrometer, durchgeführt werden. Ein weiterer Vorteil der HPLC-MS oder FIA-MS besteht darin, daß keine vorherige Derivatisierung zur Detektion der AEO erforderlich ist.

Die ersten Ionenquellen/Interfaces, die zur Einführung von flüssigen AEO-Proben in das Massenspektrometer genutzt wurden, waren vor allem Thermospray (TSP) (Schröder, 1991, 1993, 1993a; Evans et al., 1994) und FAB (engl.: Fast Atom Bombardment) (Rockwood und Higuchi, 1992). In letzter Zeit wurden jedoch die chemische Ionisierung unter Atmosphärendruck (engl.: atmospheric pressure chemical ionization: APCI) (Yamagishi et al., 1997; Jandera et al., 1998) und das Elektrospray (Crescenzi et al., 1995; Evans et al., 1997; Schreiber et al., 1998) bevorzugt, das gegenüber dem TSP eine bessere Reproduzierbarkeit der Signale aufweist (Evans et al., 1997).

Für qualitative Screeninganalysen ist die FIA-MS sehr gut geeignet (Schröder, 1993a). Analog zur GC-EI-MS bzw. GC-CI-MS ist jedoch die Ionisierung über FAB, TSP oder API-MS strukturabhängig und nichtlinear mit steigendem EO-Grad der AEO (Di Corcia, 1998). Infolge mangelnder Reinsubstanzen mit höheren EO-Graden und der Unmöglichkeit der Berechnung von Responsefaktoren ist die Quantifizierung von ethoxylierten Tensiden bei der FIA-MS bzw. LC-MS problematisch. Schreiber et al. (1998) und Castillo et al. (1999) haben eine Quantifizierung durchgeführt, erläutern ihre Quantifizierungsmethode aber nicht näher. Jewett et al. (1999) gehen in ihrer Methode von gleichen Responsefaktoren für alle Komponenten aus. Bei anderen erfolgt die Quantifizierung über technische Gemische statt über Reinsubstanzen (Schröder, 1991) oder durch technische Gemische, die durch vorherige Analysen mittels GC-FID (EO 1-6) in Kombination mit HPLC-UV (EO > 6) charakterisiert wurden (Evans et al., 1997 und Kravetz et al., 1991). Auf eine Quantifizierung von Komponenten mit EO > 18 wurde von Evans et al. (1997) jedoch verzichtet, da die Prozedur zu aufwendig und die untersuchten typischen technischen Produkte nur sehr wenige dieser hochethoxylierten Komponenten enthalten. Di Corcia et al. (1998) ermittelten die Elektrospray-MS-Responsefaktoren von Reinsubstanzen für EO-Grade 1 - 8. Für Komponenten mit EO > 8 wurde mangels Reinsubstanzen der Responsefaktor gleich dem von EO = 8 gesetzt. Die Quantifizierung aller Einzelkomponenten ohne zur Verfügung stehende Reinsubstanzen stellt bei der MS damit noch ein ungelöstes Problem dar.

1.2.3.8 Analytik mit anderen massenspektrometrischen Methoden

Eine relativ neue leistungsfähige Analysenmethode für schwer verdampfbare Stoffe insbesondere Polymere stellt die matrixunterstützte Laser-Desorptions / Ionisations-Massenspektrometrie (engl.: matrix assisted laser desorption / ionization mass spectrometry: MALDI-MS) dar. Durch die schonende Ionisierung der Laserdesorption mit Energieübertragung durch eine Matrix, die ohne vorherigen Verdampfungsschritt arbeitet, lassen sich auch Makromoleküle im intakten Zustand untersuchen. Für qualitative Untersuchungen läßt sich die MALDI-MS sehr gut einsetzen (Pasch und Resch, 1996; Hammes et al., 1996; Cumme et al., 1997; Bartsch et al., 1998; Barry et al., 1998). Dennoch bestehen hier ebenso die oben besprochenen Probleme bezüglich der Responsefaktoren von AEO. Eine Quantifizierung von Einzelkomponenten ist mit dieser Methode nicht möglich.

1.2.3.9 Gaschromatographie nach Bromwasserstoffspaltung

Analog zur HPLC-Trennung nach der Länge des Alkylrestes ("homolog-by-homolog separation"), bietet auch die GC die Möglichkeit die Alkylkettenverteilung des AEO-Gemisches unabhängig vom EO-Grad zu untersuchen. Bei Behandlung des AEO-Gemisches mit Bromwasserstoff (Luke, 1973; Dowle und Campbell, 1988) werden die Alkylbromide sowie Dibrommethan gebildet, die sich aufgrund ihrer leichten Verdampfbarkeit sehr gut zur gaschromatographischen Untersuchung eignen. Bei der Reaktion mit HBr entsteht aus jedem AEO mit identischem Alkylrest unabhängig vom EO-Grad das gleiche Alkylbromid. Die resultierenden Gaschromatogramme werden dadurch stark vereinfacht wobei jedoch die Information zur EO-Verteilung des Gemisches verlorenght. Die Methode, die in der Literatur als "Bromwasserstoff-Spaltung" bezeichnet wird, bietet die Möglichkeit auch hochethoxylierte Gemische auf ihre Alkylkettenverteilung gaschromatographisch untersuchen zu können. Bei der Untersuchung von matrixhaltigen Proben muß jedoch beachtet werden, daß auch andere Stoffe mit dem Bromwasserstoff reagieren und identische Reaktionsprodukte entstehen können. Fendinger et al. (1995) untersuchten mit der Methode der Bromwasserstoffspaltung Umweltproben mit Aufreinigung und Anreicherung mittels Festphasenextraktion (C1-Phase) und Ionenaustausch. Die resultierenden Alkylbromide analysierten sie mittels GC-MS im SIM (engl.: selecte*d* ion monitoring) Modus.

1.2.3.10 Aufarbeitungsmethoden

In der Literatur werden viele Umweltanalysen von AEO beschrieben, die eine Probenaufarbeitung zur Anreicherung und Aufreinigung erfordern. Die konventionelle Methode zur Extraktion von ethoxylierten nichtionischen Tensiden aus wässrigen Proben stellt die Methode nach Wickbold (1971) dar, welche die Grenzflächenaktivität der Tenside ausnutzt: In die mit Ethylacetat überschichtete wässrige Tensidlösung wird Stickstoff geblasen und die Tenside in die organische Phase übergetrieben (Nitschke und Huber, 1993; Kiewiet et al., 1995).

Einfache Flüssig-Flüssig-Extraktionen (engl.: liquid liquid extraction: LLE) von wässrigen AEO-Proben mit organischen Lösungsmitteln wurden mit Ethylacetat (Szymanski et al., 1995), Dichlormethan (Sun et al., 1997) und Chloroform (Wee, 1981) durchgeführt.

Aus festen matrixhaltigen Proben, wie Fisch, wurden AEO mittels MSPD (engl.: matrix solid phase dispersion extraction) mit Hexan, Ethylacetat und Methanol extrahiert (Tolls et al., 1999).

In den letzten Jahren wurde zur Aufarbeitung von wässrigen Proben vorwiegend die Festphasenextraktion (engl.: solid phase extraction: SPE) eingesetzt. Aufgrund des amphiphilen Charakters der Tenside können sowohl apolare als auch polare Wechselwirkungen zur Extraktion eingesetzt werden. Zur Anwendung kamen hauptsächlich Sorbentien auf der Basis der apolaren Wechselwirkung. Die bevorzugten Materialien waren die Kieselgel-Umkehrphasen C1 (Fendinger, 1995), C8 (Evans et al., 1994), C18 (Desbène et al. 1996; Stan et al., 1998), Styroldivinylbenzolphasen wie XAD-2 (Schmitt et al., 1990; Nitschke und Huber, 1993) und graphitisierter Kohlenstoff (Crescenzi et al., 1995; Zanette et al., 1996; Marcomini et al., 1998).

Die Festphasenmikroextraktion (engl.: solid phase microextraction: SPME) mit Polydimethylsiloxan-Divinylbenzolfasern wurde von Aranda und Burk (1998) zur Extraktion von AEO aus Wasserproben eingesetzt.

1.2.3.11 Übersichtsartikel

Einen guten Überblick über Aufarbeitungs- und Trennmethode sowie Bestimmungsvorgänge von AEO geben die Übersichtsartikel von Kiewiet und De Vogt (1996), Rissler (1996) und Cserháti und Forgács (1997) wieder. Umwelt- bzw. Spurenanalysen von AEO

fassen Matthijs und Hennes (1991), Marcomini und Zanette (1996), Thiele et al. (1999) und Vogt und Heinig (1999) zusammen. Di Corcia (1998) gibt eine Übersicht über Methoden zur Charakterisierung von AEO und Metaboliten mittels LC-MS.

2 PROBLEMSTELLUNG UND ZIEL DER ARBEIT

Im Sonderforschungsbereich (Sfb) 193 "Biologische Behandlung industrieller und gewerblicher Abwässer" der Deutschen Forschungsgemeinschaft werden in der Technischen Universität Berlin seit 1991 Grundkenntnisse über den biologischen Abbau und Behandlungsmöglichkeiten von Abwässern untersucht. Ein Hauptziel des Projektbereichs E "Abwässer mit Tensiden", der seit 1997 besteht, stellt die Rückgewinnung von Tensiden aus Spülwässern ihrer Batch-Produktion dar. Zur Anreicherung der Tenside aus den Spülabwässern wird in verschiedenen kooperierenden Teilprojekten (TP) die Anwendung unterschiedlicher physikalisch-chemischer Trennverfahren⁵ wie Membrantrennverfahren, Schaumfraktionierung und Adsorptions-/Desorptionsverfahren untersucht (Abbildung 5).

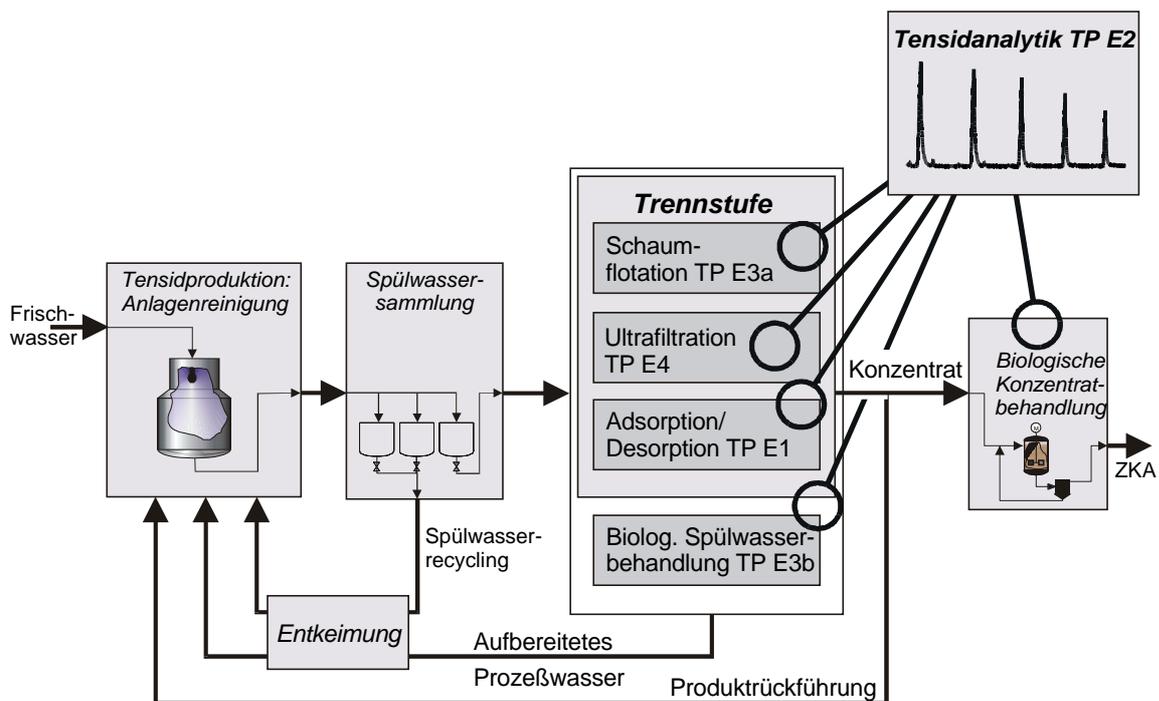


Abbildung 5: Spülwasserbehandlung. Konzept des Sfb-Projektbereiches E.

⁵ Membrantrennverfahren (TP E4, Arbeitsgruppe Prof. Dr.-Ing. G. Wozny, Institut für Prozeß- und Anlagentechnik), Schaumfraktionierung (TP E3a, Arbeitsgruppe Prof. Dr.-Ing. U. Wiesmann, Institut für Verfahrenstechnik) und Adsorptions-/Desorptionsverfahren (TP E1, Arbeitsgruppe Prof. Dr. rer. nat. Findenegg; Iwan-N.-Stranski-Institut für Physikalische und Theoretische Chemie, alle Technische Universität Berlin)

Diese Verfahren können bei der Aufkonzentrierung von AEO-haltigen Abwässern eine Veränderung der komplexen Zusammensetzung der AEO-Gemische verursachen. Veränderungen in der Alkylkettenverteilung oder der EO-Verteilung, d.h. eine Änderung des mittleren EO-Grades können die Folge sein, die zu möglichen Abweichungen der Produkteigenschaften führen. Zur Überprüfung ist daher eine Einzelstoffanalytik der Tensidkomponenten in den Wässern vor und nach Anreicherung erforderlich.

Im Teilprojekt E2, in dessen Rahmen die vorliegende Arbeit angefertigt wurde, sollte eine Analytik für die Identifizierung und Quantifizierung von Einzelkomponenten in technischen AEO-Produkten und wässrigen Proben unterschiedlicher Herkunft (Spülwasser, Konzentrate, etc.) erarbeitet werden. In Zusammenarbeit mit den kooperierenden Teilprojekten sollte analytisch verfolgt werden, ob sich bei den Rückgewinnungsverfahren einzelne Komponenten anreichern und damit zu einer veränderten Zusammensetzung des Tensidgemisches führen.

In Zusammenarbeit mit dem TP E3b, in dem der biologische Abbau von Tensidkonzentraten erforscht wird, sollte untersucht werden, ob ein vollständiger Abbau der AEO-Komponenten stattfindet und gegebenenfalls Metabolite identifiziert werden. Auch diese Untersuchungen erfordern eine umfassende Einzelkomponentenanalytik.

Da zur Einzelkomponentenanalytik der komplexen AEO-Gemische nicht alle erforderlichen Reinsubstanzen als Standards zur Verfügung stehen, war die Methodenentwicklung auf die Zielsetzung "universeller Kalibrierungsmethoden" ausgerichtet.

3 THEORETISCHER TEIL: GRUNDLAGEN DER ANGEWENDETEN ANALYSEMETHODEN

3.1 Probenvorbereitung

Tensidproben liegen in der Regel als wäßrige oder wasserhaltige Proben vor. Die angewendeten chromatographischen Trennungsmethoden sind jedoch häufig inkompatibel mit Wasser, wie z.B. die GC oder die NP-HPLC an Kieselgel. Die meisten Analysemethoden für AEO erfordern zudem eine Derivatisierung, die - als Reaktion mit der endständigen Hydroxylgruppe - ebenfalls wasserfrei durchgeführt werden muß. Die einfachste Methode zur Abtrennung des Wassers ist die Gefriertrocknung, d.h. die Sublimationstrocknung der tiefgefrorenen Probe im Hochvakuum. Die Gefriertrocknung bietet jedoch keine Möglichkeit zur Abtrennung von nichtflüchtigen Matrixinhaltsstoffen, was im einfachsten Fall Salze sind. Diese und eventuell andere Matrixinhaltsstoffe können durch Überführung des Analyten in ein organisches Lösungsmittel abgetrennt werden. Diese sogenannten "Phase-Switching-Methoden" sind die LLE und die SPE.

3.1.1 Anreicherung und Aufreinigung wäßriger Proben durch Flüssig-Flüssig-Extraktion

Das Prinzip der klassischen LLE, d.h. der Überführung und Anreicherung des Analyten aus einer Wasserprobe in eine organische Phase beruht auf der unterschiedlichen Verteilung des Analyten in der nicht miteinander mischbaren wäßrigen und organischen Phase. Die Verteilung erfolgt dabei nach dem Nernst'schen Verteilungssatz (Gleichung 1), der besagt, daß das Verhältnis der Konzentrationen des gelösten Stoffes in beiden Phasen konstant ist.

$$\frac{c_1}{c_2} = K$$

$c_{1(2)}$ = Konzentration des Analyten in Phase 1 bzw. 2
K = Nernst'scher Verteilungskoeffizient

Gleichung 1: Nernst'scher Verteilungssatz

Der Nernst'sche Verteilungssatz gilt jedoch nur, wenn der Analyt in beiden Phasen in der gleichen Molekülart vorliegt. Assoziationsvorgänge wie die bei den Tensiden bekannte Mizellbildung müssen mit einbezogen werden.

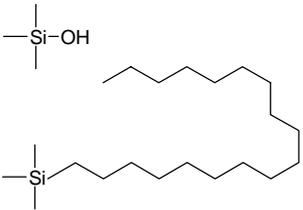
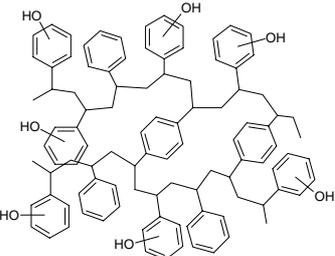
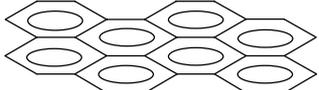
Die Konzentration des Analyten in der organischen Phase c_1 wird um so höher, je größer der Verteilungskoeffizient K ist. Für Analyten mit kleinen Verteilungskoeffizienten, die mittels eines Verteilungsschrittes nicht vollständig extrahiert werden, läßt sich die Extraktionsausbeute durch mehrfache Extraktion steigern (multiplikative Verteilung).

3.1.2 Anreicherung und Aufreinigung wäßriger Proben durch Festphasenextraktion

Bei der SPE tritt der in wäßriger Phase gelöste Analyt in reversible physikalische Wechselwirkung mit dem Festphasenmaterial (Sorbens) und wird auf diesem angereichert. Die wäßrige Matrix soll idealerweise keine Wechselwirkungen aufweisen. Die Wechselwirkung des Analyten, die apolarer, polarer oder ionischer Natur sein kann, soll reversibel sein, damit dieser mit einem geeigneten Lösungsmittel wieder eluiert (desorbiert) werden kann. In Tabelle 3 sind einige in dieser Arbeit zur Extraktion von AEO verwendete Sorbentien mit vorwiegend apolarem Retentionsmechanismus zusammengestellt. Die möglichen Wechselwirkungen sind hier nicht rein apolarer Natur, da durch freie Silanol- bzw. Hydroxylgruppen noch sekundäre polare Wechselwirkungen hinzukommen können, die auch polare Analyten zurückhalten. Dem graphitisierten Kohlenstoff werden ebenfalls sekundäre polare Retentionsmechanismen zugesprochen. Durch chemische Heterogenitäten in der Oberfläche, die positive Ladungen tragen können, kann das Material gleichzeitig als Anionenaustauscher wirken (Crescenzi et al., 1996). Diese Sorbentien unterscheiden sich bezüglich der Partikelgrößen, Porosität und Oberfläche zum Teil erheblich, was sich auf die Kapazität, die Flußraten und die Trocknungseigenschaften auswirkt.

Eine umfassende Übersicht über Festphasenextraktionsmethoden und ihre Entwicklung gibt Hennion (1996).

Tabelle 3: Verwendete SPE-Sorbentien mit apolarem Retentionsmechanismus

Sorbens	Struktur	Handelsname	Spezifikationen
oberflächenmodifiziertes Kieselgel RP-C18 (Octadecyl-Modifizierung und freie Silanolgruppen)		J.T. Baker "Bakerbond Polar Plus"	Partikelgröße 40 - 60 μm porös Porenweite 60 \AA Oberfläche 500 m^2/g
Hochquervernetztes hydroxyliertes Styrol-divinylbenzol-Copolymer		IST, Separtis "Isolute ENV+"	Partikelgröße 40 - 150 μm porös Porenweite 800 \AA Oberfläche 1200 m^2/g
Graphitisierter Kohlenstoff: auf ca. 3000°C unter inertter Atmosphäre erhitzter Ruß (Hennion, 1999)		Supelco "ENVI- CARB"	Partikelgröße 40 - 120 μm nicht porös Oberfläche 100 m^2/g

*Quelle: Angaben aus Herstellerkatalogen Mallinckrodt Baker 1997/98, Griesheim; Separtis, Grenzach-Wyhlen, 1999; Supelco, Deisenhofen 1999

Neben der Ersparnis an Lösungsmitteln, hat die SPE gegenüber der LLE den Vorteil, daß infolge der vielfältigen Retentionsmöglichkeiten der Analyt einfacher und selektiver angereichert werden kann. Große Probenvolumina lassen sich einfacher handhaben und der Analyt stärker anreichern. Zudem entfallen Probleme mit Emulsionsbildungen, die insbesondere durch die Grenzflächenaktivität der Tenside auftreten können.

3.2 Chromatographische Trennverfahren

Zur Trennung von Stoffgemischen werden in der chemischen Analytik chromatographische Verfahren eingesetzt. Aufgrund verschiedener Wechselwirkungen der Analyten mit der stationären und der mobilen Phase werden diese unterschiedlich lange zurückgehalten (retardiert), was zur Auftrennung des Gemisches führt. Das Prinzip der Adsorptionschromatographie sind verschieden starke Adsorptionen der Analyten an der stationären Phase.

Die Verteilungschromatographie beruht auf unterschiedlichen Verteilungskoeffizienten der Analyten in beiden Phasen.

3.2.1 Hochleistungsflüssigchromatographie

Die HPLC ist eine trennanalytische Methode für in Flüssigkeiten lösliche Stoffgemische, sie kann aber auch für präparative Zwecke eingesetzt werden. Die mobile Phase ist eine Flüssigkeit (Eluent) und wird im Vergleich zur konventionellen Säulenchromatographie unter hohem Druck durch die Säule gepumpt, wodurch unter anderem die Leistungsfähigkeit gesteigert werden konnte. Im Gegensatz zur GC bei der die Anpassung des Systems an das Trennproblem nur durch Änderung der stationären Phase und bedingt der Temperatur möglich ist, hängt die Trennung bei der HPLC von der Wahl der stationären und (veränderbaren) mobilen Phase und ihrem Zusammenspiel gleichermaßen ab. Aufgrund der unterschiedlichen stationären Phasen unterscheidet man verschiedene Trennmethoden: Die Ausschlußchromatographie, die nach Molekülgröße klassifiziert, die NP-HPLC, die auf polaren Wechselwirkungen (Adsorptionschromatographie) basiert und die RP-HPLC, deren Trenneffekt auf apolaren Wechselwirkungen (Adsorptions- und Verteilungschromatographie) beruht. Stationäre Phasen bei der NP-HPLC stellen Kieselgel oder die robusteren mit Diol-, Cyano- oder Aminofunktionen modifizierten Kieselgele dar, die im Gegensatz zu Kieselgel wasserträglich sind. Generell wird hier jedoch mit einem apolaren Eluenten gearbeitet. Inverse Verhältnisse findet man bei der RP, bei der polare Eluenten und apolare stationäre Phasen eingesetzt werden, wie z.B. mit Octadecylgruppen modifiziertes Kieselgel (RP-C18).

3.2.1.1 Angewendete HPLC-Detektionsmethoden

3.2.1.1.1 Lichtabsorption

UV/VIS-Detektoren sind die meistverbreitesten HPLC-Detektoren, deren Meßprinzip auf der Abschwächung eines monochromatischen Lichtstrahls durch den Analyten beruht. Der Detektor registriert Substanzen, die sichtbares Licht (engl. visible: VIS) bzw. UV-Licht oberhalb der Absorptionswellenlänge der mobilen Phase bei ca. 200 bis 380 nm absorbieren. Dies sind Stoffe, die mindestens eine Doppelbindung, Carbonylgruppe oder Heteroatome wie Brom, Iod, Schwefel enthalten und als chromophore Gruppen bezeichnet werden.

3.2.1.1.2 Massenspektrometrie mit Ionisierung unter Atmosphärendruck

Die Kopplung der HPLC mit der Massenspektrometrie ist aufgrund der hohen Massenströme der mobilen Phase ungleich schwieriger als die GC-MS-Kopplung. Eine Einführung in das unter Hochvakuum stehende Massenspektrometer ist nur möglich, wenn das Lösungsmittel vorher entfernt wird oder bei sehr niedrigen Flüssen gearbeitet wird. Zudem muß die Überführung und Ionisierung der meist nichtflüchtigen, polaren, thermolabilen Analyten unter schonenden Bedingungen durchgeführt werden. Die ersten Techniken zum Versprühen und anschließendem Verdampfen des Lösungsmittels waren das "Particle Beam (PB) Interface", welches pneumatisch arbeitet sowie das Thermospray auf thermischer Basis. Das PB wurde noch mit der traditionell aus der GC-MS bekannten EI und der CI mit separater Zufuhr des Gases gekoppelt. Die Verdampfung der Komponenten **vor** der Ionisierung brachte die schon von der GC-MS bekannten Probleme mit sich: sie war nicht für schwer verdampfbare Substanzen geeignet. Später erkannte man den Nutzen der probeeigenen Lösungsmittelmoleküle zur sanften chemischen Ionisierung (solvent-mediated CI) und entwickelte das APCI, bei dem die Ionisierung schon bei der Zerstäubung unter Atmosphärendruck stattfindet. Hierbei wird an einer Corona-Entladungsnadel ein lokales Reagenzgas-Plasma erzeugt. Die durch Entladung entstandenen Lösungsmittel-Ionen kollidieren mit den neutralen Analytmolekülen und ionisieren diese über Ion/Molekül-Reaktionen in der Gasphase. Dabei entstehen Quasi-Molekülonen wie $[M+H]^+$ oder $[M-H]^-$. Außerdem kann auch ein sogenannter Ionenverdampfungsprozeß stattfinden wobei es zu einer Verdampfung bereits in Lösung vorgebildeter Ionen kommt, die als Kationen-Addukte $[M+Me]^+$ (Me = Na, K, NH_4 etc.) oder Anionen-Addukte $[M+Cl]^-$ vorliegen.

Zu der Kategorie der API-Einlaßsysteme gehört auch das Elektrospray, bei dem die Ionisierung auf dem Ionenverdampfungsprozeß beruht. Daher ist die "Elektrospray-Ionisierung" (ESI) auch keine Ionisierungsmethode in dem Sinne, sondern ermöglicht den Transfer des bereits ionisierten Analyten als isolierte Species von der kondensierten Phase in die Gasphase. Durch Ion-Molekül-Kollisionen ist im beschränkten Maß aber auch eine Ionisierung möglich (Gaskell, 1997). Die flüssige Probe oder der Eluent wird beim ESI aus einer Kapillare versprüht, an der ein hohes elektrisches Potential anliegt. Durch das hohe elektrische Feld werden feinverteilte elektrisch geladene Tröpfchen erzeugt. Die Vernebelung wird durch den konzentrischen Fluß von Stickstoff um die Kapillare (Nebulizer) unterstützt. Gleichzeitig wird dadurch verhindert, daß die Kapillare wie eine Corona-Entladungsnadel des

APCI wirkt. Das ESI-Einlaßsystem wird zwischen Kapillare und MS stufenweise evakuiert, es liegt also ein Druck- und Potentialgradient in Richtung MS vor. Liegt z.B. ein positives Potential an der Kapillare an, wie in Abbildung 6 dargestellt, werden die negativen Ionen entladen, die positiven Ionen werden abgestoßen. Die Flüssigkeit bildet eine sogenannte "Taylor-Cone" aus. Angezogen vom negativeren Potential des Filaments werden schließlich Tröpfchen abgesprengt. Durch die Einwirkung eines hohen Stickstoffflusses ("Desolvation Gas") verdampft das Lösungsmittel aus den Tröpfchen allmählich und die geladenen Tröpfchen werden immer kleiner. Schließlich kommt es zu einer Ladungsabstoßung, die größer als die Oberflächenspannung ist (Raleigh-Grenze) und damit zu einer "Coulomb-Explosion", durch die noch kleinere Tröpfchen entstehen. Am Schluß bleiben nur noch Ionen ohne Solvathülle, sogenannte desolvatisierte Ionen, übrig.

Einen umfassenden Überblick über die Grundlagen der LC-MS geben Niessen (1999) und Gaskell (1997) (letzterer speziell Elektrospray).

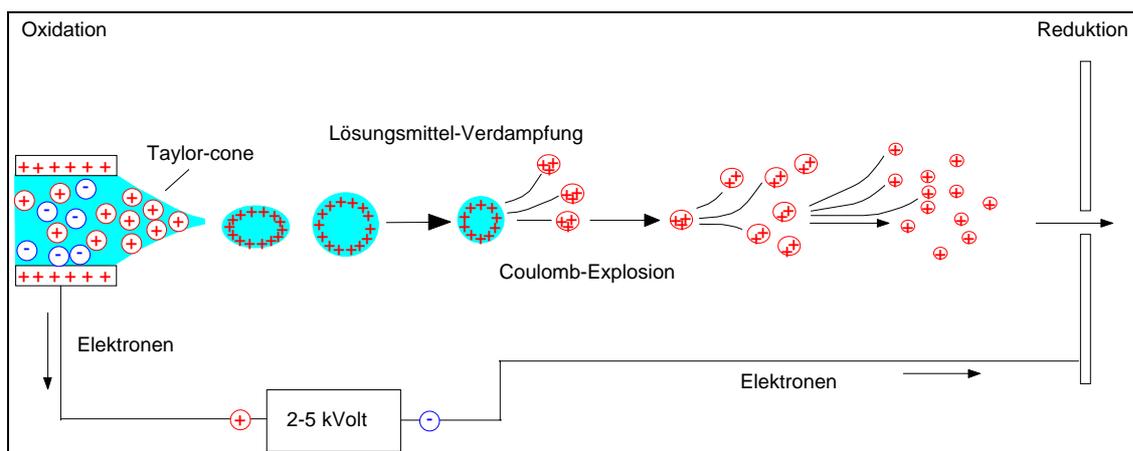


Abbildung 6: Prinzip des Elektrospray

Im Aufbau der Quelle sind sich APCI (Abbildung 8) und Elektrospray (Abbildung 7) sehr ähnlich. Sie unterscheiden sich jedoch in den in Tabelle 4 beschriebenen Punkten:

Tabelle 4: Unterschiede der ESI- und der APCI-Quelle

ESI	APCI
Flußraten zwischen 0,005 und 1 mL/min	Flußraten zwischen 0,2 und 2,0 mL/min
hohe Spannung an der Kapillare	hohe Spannung an der Corona-Entladungsnadel
Prinzip: Ionenverdampfung	Prinzip: Chemische Ionisierung
Analyse von Makromolekülen wie Peptiden, Oligonukleotiden usw. bis 200 000 D möglich, da durch das Prinzip der "Ionenverdampfung" mehrfach geladene Ionen erzeugt werden können, die mit ihrem Masse-Ladungs-Verhältnis im Massenbereich des Analysators liegen	zusätzlich Beheizung der Kapillare, um die Verdampfung der größeren Lösungsmittelmengen zu unterstützen

An der Kapillare (ESI, Abbildung 7) bzw. Corona-Entladungsnadel (APCI, Abbildung 8) liegt ein hohes Potential von etwa 2 kV an. Die fokussierenden Linsen besitzen eine konische Form, und werden im Englischen als "Cones" bezeichnet. Die sogenannte "Sample-Cone" steht im Winkel von 90° zur Flugrichtung der Tröpfchen. Hier liegt ein schwächer positives Potential von etwa 20 V an, wodurch die positiv geladenen Ionen fokussiert werden, wenn sie entlang des Potentialgradienten in Richtung Analysator fliegen. Tröpfchen ohne Ladung gelangen auf ein Prallblech, was die Säuberung der Quelle stark vereinfacht. Ebenfalls 90° zur Flugrichtung ist die zweite fokussierende Linse angebracht, die sogenannte "Extraction-Cone", an der ein noch schwächeres positives Potential von etwa 2 V anliegt. Durch die zweifache orthogonale Ablenkung bei Quellen der Fa. Micromass wird diese Konstruktion auch Z-Spray genannt.

Z-Spray der Fa. Micromass

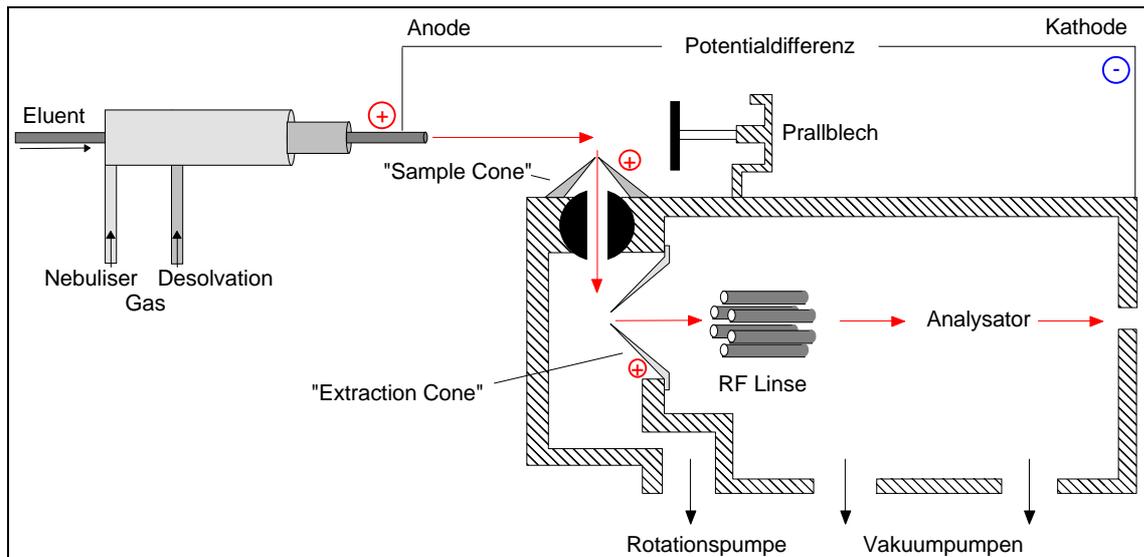


Abbildung 7: Aufbau einer Elektrospray-Quelle, Z-Spray (nach Micromass, 1998)

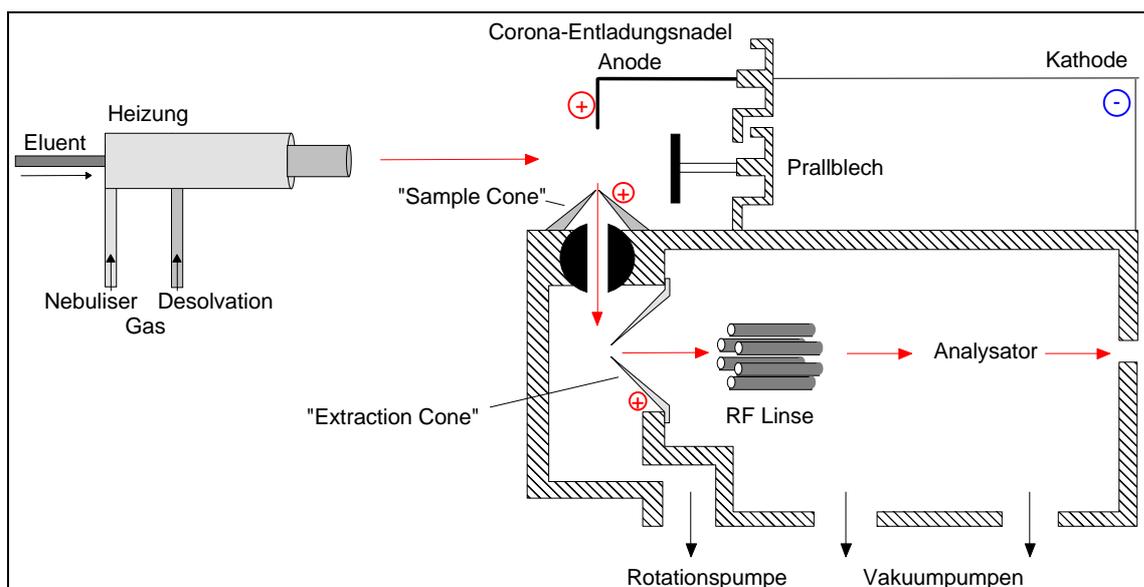


Abbildung 8: Aufbau einer APCI-Quelle, Z-Spray (nach Micromass, 1998)

Analysator der Fa. Micromass

Nach einer weiteren Fokussierung durch ein Hexapol, genannt RF-Linse, gelangen die Ionen in den Hochvakuum-Bereich des Analysators, der aus zwei Quadrupolen (Kap. 3.2.2.1.1) und einem Hexapol besteht und zu selektiven massenspektrometrischen "Target-Analysen" befähigt ist. Das erste Quadrupol dient als Massenfilter zur Trennung der Ionen nach ihrem

Masse-Ladungs-Verhältnis. Im Scan-Modus erhält man zur Zeit x ein Massenspektrum der vorkommenden Ionen über den gesamten Massenbereich. Werden alle Einzelscans addiert und über die gesamte Zeit geplottet, erhält man ein Totalionenstrom-Chromatogramm (engl.: total ion current: TIC).

Bei der Einzelionenregistrierung (engl.: single ion recording: SIR) wird nur bei bestimmten, für die erwartete Komponente signifikanten Massen gemessen. Im Scan- und SIR-Modus werden die Ionen ungehindert durch das Hexapol und das zweite Quadrupol durchgelassen.

Im optionalen Tandembetrieb (MS-MS) wird mit dem ersten Quadrupol eine ausgesuchte Masse eines sogenannten Mutterions (Precursor-Ion) selektiert und durch eine Kollision mit Argonatomen in dem zwischengeschalteten Hexapol eine Fragmentierung induziert. Das zweite Quadrupol dient in diesem Modus als Massenfilter zur Trennung der Tochterionen (Produktionen). In allen Modi werden die durchgelassenen Ionen schließlich von einem Detektor, der einen Photomultiplier enthält, registriert.

3.2.2 Kapillargaschromatographie

Die Kapillar-GC stellt im Hinblick auf die Meßempfindlichkeit und Auflösung der chromatographischen Trennung (Trennleistung) ein besonders leistungsfähiges Verfahren dar. Die flüssige stationäre Phase befindet sich als durchgehender und gleichmäßiger Film von etwa 0,05 bis 0,5 μm Dicke auf der Innenwand einer Kapillare, die von einem inerten Trägergas als mobile Phase durchströmt wird. Voraussetzung für die GC ist, daß sich die Analyten möglichst unzersetzt verdampfen lassen. Die Maskierung polarer funktioneller Gruppen wie Hydroxyl- oder Carboxylgruppen durch eine Derivatisierung verbessert die Flüchtigkeit und Gaschromatographierbarkeit. Dies geschieht durch die Herabsetzung polarer Wechselwirkungen mit freien Silanolgruppen des Säulenmaterials, die zur unsymmetrischen Signalverbreiterung (Peaktailing) und Substanzverlust führen können. Die in dieser Arbeit verwendeten Derivatisierungsverfahren werden in Kapitel 4.3.1 beschrieben.

Die Kapillar-GC kann durch Auswahl von stationären Phasen unterschiedlicher Polaritätsgrade und Optimierung der Temperaturprogramme an verschiedenste Trennprobleme angepaßt werden. Die wichtigste Klasse der stationären Phasen bilden die Polysiloxane, die sich durch Einführung verschiedener Substituenten, wie Methyl-, Phenyl-, Vinyl-, Cyanopropyl- und Trifluorpropylgruppen in ihrer Polarität variieren lassen. Bei der Hochtemperatur (HT)-GC mit Temperaturen über 330 bis ca. 450°C werden hochquer-

vernetzte (crosslinked) unpolare Phasen eingesetzt, die ein verringertes Säulenbluten aufweisen. Mit der HT-GC kann der obere Anwendungsbereich der GC ausgedrückt in Analyt-Molmassen von ca. 600 g/mol auf über 1000 g/mol ausgedehnt werden.

Mit der GC können eine Vielzahl empfindlicher sowohl universeller (FID) als auch selektiver Detektoren (Atomemissionsdetektor, Massenspektrometer) gekoppelt werden.

Ausführliche Grundlagen der Gaschromatographie finden sich in Übersichtsarbeiten von Grob (1985), Jennings (1987) und Schomburg (1987).

3.2.2.1 Angewendete GC-Kopplungstechniken

Die GC eignet sich sehr gut zur Kopplung mit spektroskopischen Nachweismethoden, die eine selektive Detektion erlauben und zur Identifizierung unbekannter Probenbestandteile sehr hilfreich sein können.

3.2.2.1.1 Gaschromatographie-Quadrupol-Massenspektrometrie (GC-MS)

Das am häufigsten zur Strukturaufklärung eingesetzte Verfahren ist die Massenspektrometrie. Ein Quadrupol-Massenspektrometer - auch massenselektiver Detektor genannt - erreicht die Massentrennung durch Wechselwirkungen der Ionen mit elektrischen Hochfrequenzwechselfeldern zwischen vier Stabmagneten. Nur Ionen mit einem bestimmten Masse-Ladungs-Verhältnis (m/z) bewegen sich dabei auf stabilen Bahnen durch den Detektor. Die Ionen werden meist durch EI erzeugt, bei der neutrale Moleküle durch Beschuß mit Elektronen mit einer Energie von 70 eV ionisiert werden. Die entstandenen Ionen sind oft nicht stabil und zerfallen in Bruchstücke, die sich in typischen Fragmentierungsmustern in den Massenspektren äußern und zur Identifizierung herangezogen werden können. Bei einer völligen Fragmentierung wird die Molmasse der intakten Verbindung (Molekülion) nicht mehr detektiert. In diesem Fall wird zur Strukturaufklärung auch die CI herangezogen, die durch eine "weiche" indirekte Ionisierung über ein Reaktandgas-Plasma ein schonenderes Verfahren darstellt. Die Protonen- oder Reaktandgasaddukte mit dem intakten Analyten geben Auskunft über die zugrundeliegende Molmasse des Analyten.

3.2.2.1.2 Gaschromatographie-Atomemissionsdetektion (GC-AED)

Durch Kopplung der GC mit der optischen Atomemissionsspektroskopie können ausgesuchte Elemente im Säuleneluat nachgewiesen werden. Wie in Abbildung 9 dargestellt, werden bei der Atomemissionsdetektion die zuvor gaschromatographisch aufgetrennten Substanzen in einem mikrowelleninduzierten Helium-Plasma bei Temperaturen $> 3000^{\circ}\text{C}$ atomisiert und angeregt. Beim Übergang zu einem niedrigeren Energieniveau, emittieren sie element-spezifisches Licht, welches registriert und ausgewertet wird. Die Intensität des Lichtes ist dabei proportional zur Anzahl der angeregten Atome. Die einzelnen Element-Spuren, d.h. die Emissionen einzelner Wellenlängen können selektiv und unabhängig voneinander vermessen werden, z.B. die Sauerstoff-Spur bei 777 nm.

Der Aufbau eines Atomemissionsdetektors ist in Abbildung 10 dargestellt. Die Kapillarsäule des Gaschromatographen mündet in eine heizbare Verbindungskapillare (Transferline), welche die aufgetrennten Substanzen in das Entladungsröhrchen überführt. Dieses beherbergt den 1,0 mm x 10 mm großen Plasmaraum. Das Helium-Plasma wird durch die Zufuhr von zusätzlichem Helium (Make-up Gas) und Mikrowellen erzeugt. Die Einspeisung weiterer Reaktandgase erhöht die Empfindlichkeit der elementspezifischen Messungen, indem sie die Anregung der Atome im Plasma verbessert. Gleichzeitig dient sie zur Vermeidung von Ablagerungen an den Innenwänden des Entladungsröhrchens. Die emittierten charakteristischen Linienspektren der Atome werden durch ein Spektrometer zerlegt und mit einem Diodenarraydetektor registriert. Dadurch können bei Auswahl geeigneter Wellenlängen Signale für verschiedene Elemente parallel detektiert werden.

4 EXPERIMENTELLER TEIL: METHODENENTWICKLUNG

4.1 Probenvorbereitung von Wasserproben

4.1.1 Gefriertrocknung

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Spülwässer und Formulierungen enthalten Wasser. Die Analytik von AEO erfordert jedoch im Regelfall eine Abtrennung des Wassers. Die Gründe sind in der Wasserunverträglichkeit von Derivatisierungs- und Chromatographieverfahren, wie z.B. Gaschromatographie oder Normalphasen-HPLC, zu suchen. Die Abtrennung des Wassers ist auch dann von Vorteil, wenn sie gleichzeitig mit einer Anreicherung der AEO verbunden werden kann. Als einfachste Form zur Abtrennung des Wassers kommt dabei zunächst die Gefriertrocknung in Frage. Nachteilig wirken sich hier jedoch, neben des hohen Zeitaufwandes bei großen Volumina, mögliche Abdampfverluste des Alkohols und der niedrig ethoxylierten Verbindungen aus, wenn AEO-Gemische mit kurzen Alkylketten wie z.B. Genapol UDD-079 gefriergetrocknet werden. Solche Verluste traten dann zutage, wenn die Gefriertrocknung über die notwendige Dauer hinaus überschritten wurde. Es ist daher von besonderer Wichtigkeit unterschiedlich konzentrierte Proben gegebenenfalls durch Verdünnen auf den gleichen Füllstand (Volumina) zu bringen, den Verlauf der Trocknung zu beobachten sowie diese rechtzeitig zu beenden, so daß alle Proben und eine Kontrolle gleich behandelt werden und möglichst schnell wieder gelöst vorliegen.

Matrixstoffe wie andere Tenside und Inhaltsstoffe in Reinigungsmitteln sowie störende Salze oder Biomasse aus Abbauproben, können mit der Gefriertrocknung im Gegensatz zu anderen Aufarbeitungsmethoden nicht abgetrennt werden.

4.1.1.1 Durchführung

Nach dem Vorfrieren der Proben bei -30°C wurde das Wasser in der Gefriertrocknungsanlage Beta IL (Christ, Osterode / Harz) entfernt. In Abhängigkeit von dem Volumen der wäßrigen Proben war der Trocknungsvorgang nach 24-72 h beendet.

4.1.2 Flüssig-Flüssig-Extraktion

Die LLE mit Chloroform oder Ethylacetat ist im Vergleich zur zeitaufwendigen Gefriertrocknung über Nacht ein sehr schnelles Verfahren zur Extraktion von AEO aus Wasserproben. Dabei wird ausgenutzt, daß die AEO-Moleküle und der Alkohol einen hydrophoben Alkylrest besitzen und insbesondere niedrig ethoxylierte AEO-Gemische keine sehr gute Wasserlöslichkeit aufweisen. Aufgrund des amphiphilen Charakters der Tenside darf hier jedoch kein zu apolares Lösungsmittel wie z.B. Hexan gewählt werden. Polare Lösungsmittel wie Ethylacetat, Dichlormethan oder Chloroform stellen die beste Löslichkeit von AEO sicher, ohne selbst mit Wasser mischbar zu sein und wurden bereits erfolgreich eingesetzt (Stand der Analytik Kapitel 1.2.3.10). Ethylacetat löst sich jedoch zu einem großen Teil selbst in Wasser, so daß die Extraktion von großen Wasservolumina problematisch wird. Hier besteht auch das Problem, daß die Extraktionsausbeute bei geringen Konzentrationen aufgrund des Verteilungsgleichgewichtes nur klein ausfällt.

Tenside haben aufgrund ihrer Grenzflächenaktivität die Eigenschaft Emulsionen zu bilden und zu stabilisieren. Es wurde aber die Erfahrung gemacht, daß eine vor der Extraktion durchgeführte Sättigung von AEO-haltigen Wasserproben mit Natriumchlorid Emulsionen grundsätzlich verhindern kann. Eine nachträgliche Zugabe von Natriumchlorid zu einer bestehenden AEO-Ethylacetat-Wasser-Emulsion führte dagegen nicht immer zum Erfolg.

Bei der LLE von matrixhaltigen Wasserproben wie z.B. Abbauproben kann die Biomasse störend in Erscheinung treten, indem sie Emulsionen hervorruft bzw. das Abpipettieren der organischen Phase behindert. Die Emulsionen treten hier trotz vorheriger Natriumchloridzugabe in Erscheinung, sie lassen sich jedoch durch eine Zentrifugation der Proben brechen. Die Biomasse ordnet sich dabei zwischen Chloroform- und Wasserphase in Form einer festen Schicht an. Zum Abnehmen der unteren Chloroformphase muß diese "Scheibe" vorsichtig mit der Pipette beiseite geschoben werden.

Ein generelles Problem bei der Analytik von Tensiden stellt ihre Grenzflächenaktivität dar, die zu Adsorptionen an Oberflächen von Laborgeräten oder an fester Probenmatrix selbst führen kann. Durch Abspülen solcher Flächen mit polaren organischen Lösungsmitteln können jedoch adsorbierte AEO-Rückstände gut abgelöst werden. Ein anderes Problem ist die hohe Komplexität der AEO-Gemische. Die Einzelkomponenten unterscheiden sich vom C20-Alkohol bis zum hoch ethoxylierten C9-Alkohol drastisch in ihren physikochemischen Eigenschaften. Das Spektrum der unterschiedlichen Analyteigenschaften stellt hohe Anforderungen an die Extraktionsmethode, die möglichst keine Komponenten diskriminieren

sollte. Die Extraktionsausbeute von Komponenten in Abhängigkeit von ihrem Alkylrest sowie ihrem EO-Grad wurde mangels ausreichender Zahl an Reinsubstanzen mit dem zuvor mittels HT-GC-AED vollständig charakterisierten technischen Gemisch Brij 30 bestimmt.

4.1.2.1 Durchführung

Die LLE wird im Mikromaßstab in 4 mL-Schraubdeckel-Probenfläschchen durchgeführt. Da die erste Extraktion bereits Wiederfindungen von über 80% liefert, wurde auf Mehrfachextraktionen verzichtet. Für die Wiederfindungsversuche wurde 1 L Wasser mit 1 g Brij 30 versetzt. Zu 2 mL dieser Probe wird 200 mg Natriumchlorid und 10 µL Interner Standard (ISTD) Stearylalkohol gegeben, gut durchmischt und mit 1 mL Ethylacetat über- oder mit 1 ml Dichlormethan bzw. Chloroform unterschichtet. Der Inhalt der gut verschlossenen Fläschchen wird 30 Sekunden mit einem Reagenzglasschüttler bei 2400 U/min innig vermischt. Nach erfolgter Phasentrennung werden 500 µL der organischen Phase abpipettiert und das Lösungsmittel unter leichtem Stickstoffstrom entfernt. Die getrocknete Probe wird gemäß Abschnitt 4.3.1.1 mit Bis(trimethylsilyl)trifluoracetamid (BSTFA) derivatisiert und mittels HT-GC-AED gemäß Abschnitt 4.3.4 untersucht. Die Wiederfindungsraten für Komponenten mit gleichem Alkylrest sind in Abbildung 11 vergleichend gegenübergestellt. Alle untersuchten Extraktionsmittel zeigten mit dieser Methode ein zufriedenstellendes Ergebnis, wobei die C16-Homologen geringfügig schlechter wiedergefunden wurden und die Chloroform-Extraktion die größten Standardabweichungen aufwies.

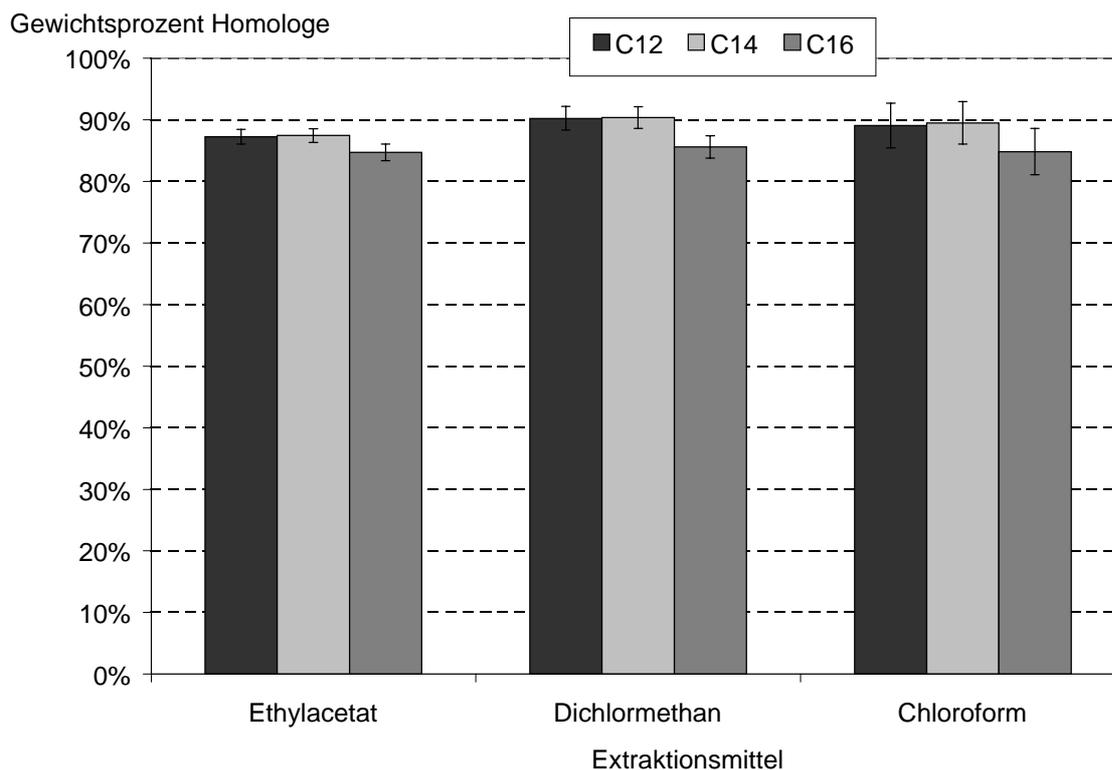


Abbildung 11: Mittlere Wiederfindungsraten von Brij 30-Homologen mit verschiedenen Alkylresten bei der LLE mit unterschiedlichen Lösungsmitteln (n = 5)

Die Ethoxymereverteilungen der C12-Homologen der Kontrolle und der Extrakte sind in Abbildung 12 gegenübergestellt. Die Extraktion mit Ethylacetat erbrachte im Vergleich das beste Ergebnis, da mit Dichlormethan und Chloroform die hochethoxylierten Komponenten von Brij 30 (E13 bis E15) nicht extrahiert werden konnten. Die Extraktion mit Ethylacetat hat jedoch den Nachteil, bei der Aufarbeitung von Wasserproben mit großen Volumina unzureichend zu werden, da sich mit 79 g/L verhältnismäßig viel Ethylacetat in der wässrigen Phase löst. Die Methode eignet sich aber gut als schnelles Verfahren zur Aufarbeitung von konzentrierten wässrigen Spülwasserproben. Beim Einsatz von 2 mL, wie in der obigen Vorschrift beschrieben, lösen sich 176 μL Ethylacetat in der wässrigen Phase. Es wird jedoch nicht mit der gesamten organischen Phase weitergearbeitet, sondern nur 500 μL der organischen Phase abgenommen und der Extraktionsverlauf mit einem internen Standard kontrolliert. Wird Chloroform als Extraktionsmittel gewählt, welches neben Dichlormethan - bis auf kleine Verluste bei den hochethoxylierten Komponenten - auch für niedrig ethoxylierte AEO-Gemische geeignet ist, so wird das in der Probe vorhandene Polyethylenglykol coextrahiert. Dies kann beim Monitoring von Abbauproben vorteilhaft

sein. Bei biomassehaltigen Abbauproben muß jedoch, wie oben erwähnt, ein Zentrifugationsschritt zwischengeschaltet werden, um die gebildete Emulsion zu brechen.

Gewichtsprozent Ethoxymere

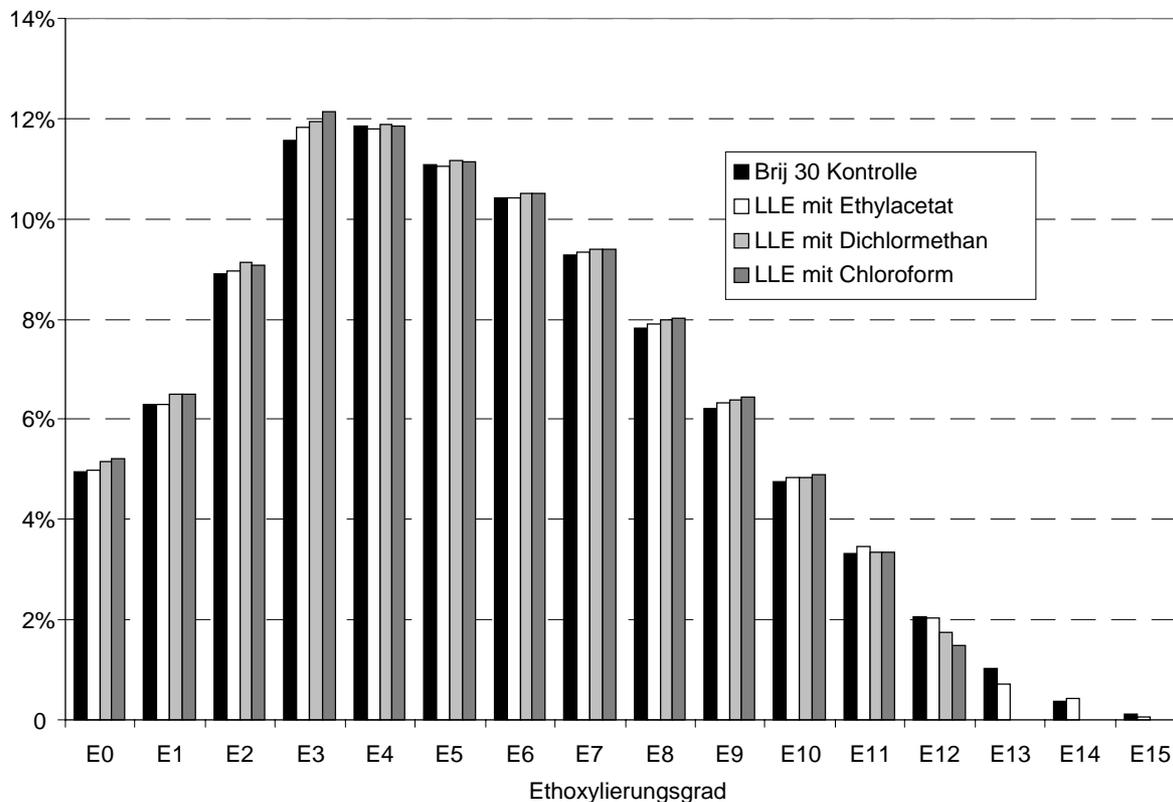


Abbildung 12: Überprüfung der Flüssig-Flüssig-Extraktion von wäßriger Brij 30-Lösung mit verschiedenen Lösungsmitteln: resultierende EO-Verteilungen der C12-Ethoxymere der Kontrolle und der Extrakte

Die Methode wurde auf ihre Eignung - bedingt durch die HT-GC-AED-Methode - nur für AEO-Gemische mit niedrigen mittleren EO-Graden (bis EO7) überprüft. Da sich schlechtere Wiederfindungsraten bei den hochethoxylierten Komponenten andeuten, ist diese Methode nicht für hochethoxylierte AEO-Gemische geeignet.

4.1.3 Festphasenextraktion

Die SPE hat im Vergleich zur Gefriertrocknung und LLE den Vorteil, daß sehr große Wassermengen aufgearbeitet werden können und damit in relativ kurzer Zeit eine große Anreicherung erreicht werden kann. Zudem ist durch geschickte Wahl des SPE-Materials und der Elutionsmittel auch eine Aufreinigung durch Abtrennung der Fremdstoffe möglich. Ein

wichtiges Kriterium für die Wahl des Festphasenmaterials ist, daß die Wiederfindung aller Komponenten gleich ist. Diese Eigenschaft ist wichtiger einzustufen als eine hohe Gesamtwiederfindung (Extraktionsausbeute), da Diskriminierungen zu Änderungen der Verteilung führen.

4.1.3.1 Sorbensauswahl

In der Literatur sind hauptsächlich Sorbentien auf der Basis der apolaren Wechselwirkung als geeignet beschrieben worden. Die bevorzugten Materialien waren die Kieselgel-Umkehrphasen C1 (Fendinger, 1995), C8 (Evans et al., 1994), C18 (Stan et al., 1998), Styroldivinylbenzolphasen (SDB) wie XAD-2 (Schmitt et. al, 1990; Nitschke und Huber, 1993) und graphitisierter Kohlenstoff (Crescenzi et al., 1995; Zanette et al., 1996; Marcomini et al., 1998). Die Adsorption erfolgt bei allen auf der Basis apolarer Wechselwirkungen, jedoch sind SDB und graphitisierter Kohlenstoff auch für polarere Stoffe geeignet. Aufgrund des amphiphilen Charakters der Tenside, die einen apolaren und einen polaren Teil aufweisen sind sie für beide Wechselwirkungen zugänglich. Die Festphasenextraktion aufgrund apolarer Wechselwirkungen des Alkylrestes ist jedoch für technische AEO-Gemische besser geeignet, da insbesondere bei dem Alkohol und den niedrig ethoxylierten Verbindungen der apolare Charakter stärker ausgeprägt ist.

Die Eigenschaft der AEO in Chloroform- oder Dichlormethan-Lösung nicht an Kieselgel zu adsorbieren, kann zur Abtrennung der Alkylpolyglucoside (APG) ausgenutzt werden (Wodarczak und Burford, 1998). Diese Eigenschaft stellt eine der wenigen Möglichkeiten zur Abtrennung dieser ebenfalls nichtionischen Tenside von den AEO dar.

4.1.3.1.1 Kieselgel-Umkehrphasen

Die klassisch verwendeten modifizierten Kieselgel-Umkehrphasen tragen in der Regel C8- oder C18-Alkylketten. Als Grundlage wurde die bereits im Arbeitskreis erprobte Methode nach Stan, Heberer und Billian (1998) herangezogen. Eingesetzt wird hierbei das Festphasenmaterial Bakerbond RP-C18 Polar Plus in Kombination mit einer zweistufigen Gradientenelution mit Methanol und Aceton.

4.1.3.1.1.1 Durchführung

Für die Wiederfindungsversuche wurde 1 L Wasser mit 60 mg Brij 30 versetzt. Eine mit 1 g Bakerbond RP-C8 oder Bakerbond RP-C18 Polar Plus (beide Mallinckrodt Baker, Griesheim) gefüllte 6 mL-Extraktionssäule aus Polyethylen (ICT, Bad Homburg) wird durch Waschen mit je zwei Säulenfüllungen Elutionsmittel und Wasser konditioniert, ohne das Festphasenbett trocken laufen zu lassen. Die Extraktionssäulen werden dazu auf eine Vakuumstation (Mallinckrodt Baker, Griesheim) gesetzt, an die ein leichtes Vakuum angelegt wird. Bei einer Tropfgeschwindigkeit von maximal 5 mL/min werden 20 mL Wasserprobe, die mit 10 µL ISTD (Stearylalkohol 1 mg/mL) dotiert wird, in die Kartusche gegeben. Sowohl die 70 mL-Vorratsgefäße (ICT, Bad Homburg) als auch die Kartuschen werden mit zwei Säulenfüllungen Wasser nachgewaschen. Das Festphasenmaterial wird erst im Vakuum (ca. 5 min), später mit Hilfe eines leichten Stickstoffstroms über Nacht getrocknet.

Die Analyten werden in einer zweistufigen Gradientenelution mit jeweils 7,5 mL Methanol und 7,5 mL Aceton eluiert und die Fraktionen vereint. Anschließend wird das Eluat am Rotationsverdampfer bis fast zur Trockne eingengt und der Rückstand sofort mit 2 x 500 µL Methanol in ein Samplerfläschchen überführt. Nach erneuter Entfernung des Lösungsmittels unter leichtem Stickstoffstrom wird die getrocknete Probe gemäß Abschnitt 4.3.1.1 mit BSTFA derivatisiert und mittels HT-GC-AED gemäß Abschnitt 4.3.4 untersucht.

Neben der Kombination von Methanol und Aceton wurden beide Lösungsmittel auch einzeln (2 x 7,5 mL) sowie weitere polare Elutionsmittel getestet, die sich bei der LLE bereits bewährt hatten, z.B. Chloroform und Ethylacetat. Auch Acetonitril wurde untersucht, welches ein gutes Lösungsmittel für AEO ist. Wurden als Elutionsmittel nicht mit Wasser mischbare Lösungsmittel, wie Ethylacetat oder Chloroform verwendet, wurden beim Konditionieren zwei Säulenfüllungen Methanol dem Waschschrift mit Wasser vorgeschaltet.

Es stellte sich heraus, daß mit der Kombination von Methanol und Aceton die beste Ethoxymere elution gelingt. Bei den anderen erwähnten Lösungsmitteln traten mehr oder weniger starke Diskriminierungen im hoch ethoxylierten Bereich auf. Durch die Gradientenelution, bei der im zweistufigen Prozeß zunächst mit Methanol eluiert wird, kann durch die zweite Elution mit Aceton die Gesamtwiederfindung um 10% gesteigert werden, wie in Abbildung 13 ersichtlich ist. Acetonitril ist nicht in der Lage, underivatisierte AEO-Gemische vollständig zu eluieren. Nach Derivatisierung der AEO mit Phthalsäureanhydrid

und Einführung einer Carboxylgruppe ist mit Acetonitril jedoch eine vollständige Elution der polareren Komponenten möglich (beschrieben in Abschnitt 4.7.4.1).

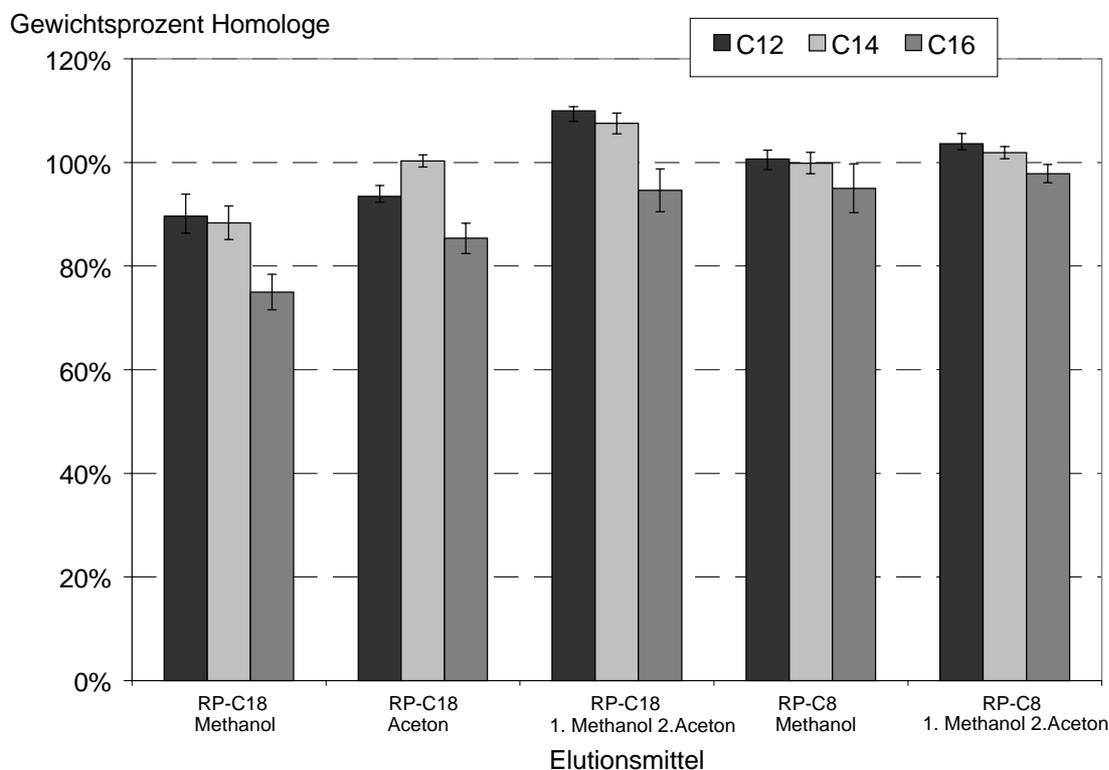


Abbildung 13: Mittlere Wiederfindungsraten von Brij 30-Homologen mit verschiedenen Alkylresten bei der Festphasenextraktion an Umkehrphasen mit verschiedenen Elutionsmitteln (n = 3)

Die apolaren Wechselwirkungen zwischen den Alkylresten und der Umkehrphase sind bei der C8-Phase schwächer ausgeprägt als bei der C18-Phase, was sich positiv auf die Elution auswirkt, d.h. eine Wiederfindung von 95 - 100% kann bei der C8-Phase bereits mit Methanol erreicht werden. Die Wiederfindungen der C16-Homologen zeigen jedoch auch hier, daß zur Elution die Kombination von Methanol und Aceton am besten geeignet ist. In Abbildung 14 sind die gefundenen Ethoxymereverteilungen der C12-Homologen der Kontrollen und Extrakte mit verschiedenen Elutionsmitteln gegenübergestellt. Die SPE zeigt im Vergleich zur LLE bessere Wiederfindungen für Komponenten mit höheren EO-Graden. Insgesamt wurde die C8-Phase in Kombination mit der Gradientenelution mit Methanol und Aceton als die besser geeignete Umkehrphase befunden.

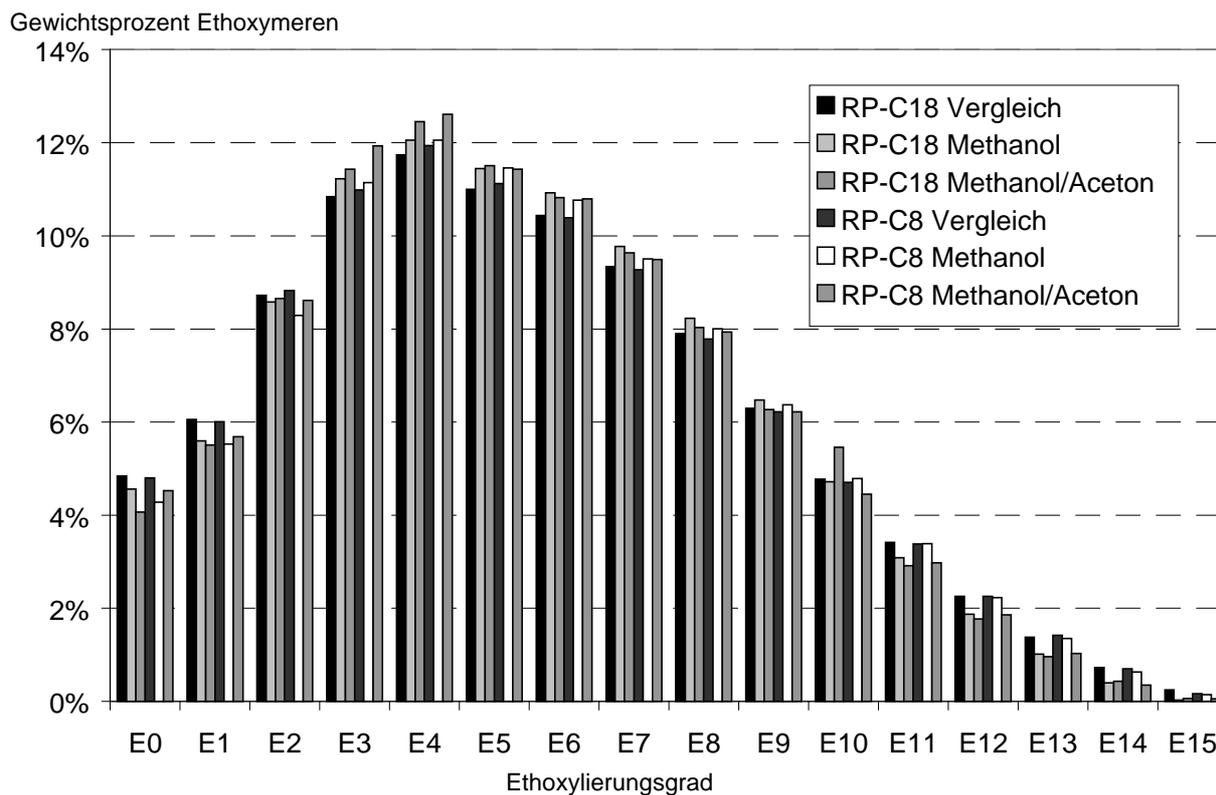


Abbildung 14: Festphasenextraktion von wäßriger Brij 30-Lösung an RP-C18 und RP-C8 mit verschiedenen Elutionsmitteln, resultierende EO-Verteilungen der C12-Ethoxymeren der Kontrollen und der Extrakte

Neben den Kieselgel-Umkehrphasen wurden die Styroldivinylbenzol-Copolymere und der graphitisierte Kohlenstoff getestet. Diese Sorbentien weisen sich durch eine bessere Handhabbarkeit aus. Im Gegensatz zu den modifizierten Kieselgelphasen, welche aus porösen Teilchen mit kleinen Porengrößen bestehen (siehe Tabelle 3), haben SDB-Teilchen große Porenweiten bzw. ist graphitisierter Kohlenstoff nicht porös, wodurch die Durchflußgeschwindigkeiten und die Trocknungszeiten wesentlich verkürzt werden.

4.1.3.1.2 Styroldivinylbenzol-Copolymere

Die Festphasenextraktion an SDB wurden mit verschiedenen Elutionsmitteln und SDB-Phasen Chromabond HR-P (Macherey-Nagel, Düren) und Isolute ENV+ (IST Separtis, Grenzach-Wyhlen) getestet. Die SPE wurde gemäß der Vorschrift in Abschnitt 4.1.3.1.1 für Umkehrphasen durchgeführt, es wurde jedoch aufgrund der höheren Kapazität des Festphasenmaterials nach Empfehlung des Herstellers nur 0,2 g Sorbens eingesetzt und dieses

nicht über Nacht, sondern nur für zwei Stunden getrocknet. Das Material hat den Vorteil, daß die Farbe des feuchten Materials sich von der des Trockenen unterscheidet und so der Trocknungsgrad leicht feststellbar ist. Abbildung 15 zeigt, daß die besten Wiederfindungsraten die Elution mit Ethylacetat ergab. Die Elution wurde mit 2 x 7,5 mL verschiedenen Lösungsmitteln durchgeführt. Die Elutionskraft der Lösungsmittel nimmt in der Reihenfolge Hexan-Diethylether 8:2 << Acetonitril < Methanol < Chloroform < Aceton < Ethylacetat zu. Mit Hexan-Diethylether 8:2 (v/v) >> Dichlormethan-Acetonitril 8:2 (v/v) > Methanol konnten nur niedrig ethoxylierte Komponenten eluiert werden. Die übrigen Lösungsmittel waren in der Lage auch hochethoxylierte Komponenten zu eluieren. Es kommt aber unabhängig vom Elutionsmittel zu stark unterschiedlichen Wiederfindungen der AEO in Abhängigkeit von der Länge der Alkylkette, so daß diese Phase eine drastische Veränderung der Alkylketten-Verteilung des AEO-Gemisches bewirkt. Die Flüssig-Flüssig-Extraktion des Durchlaufs bei der Probenaufgabe zeigte, daß der Grund für die Diskriminierung nicht in einer schlechteren Bindung der Komponenten, sondern in einer schlechteren Desorption vom SDB-Material zu suchen ist.

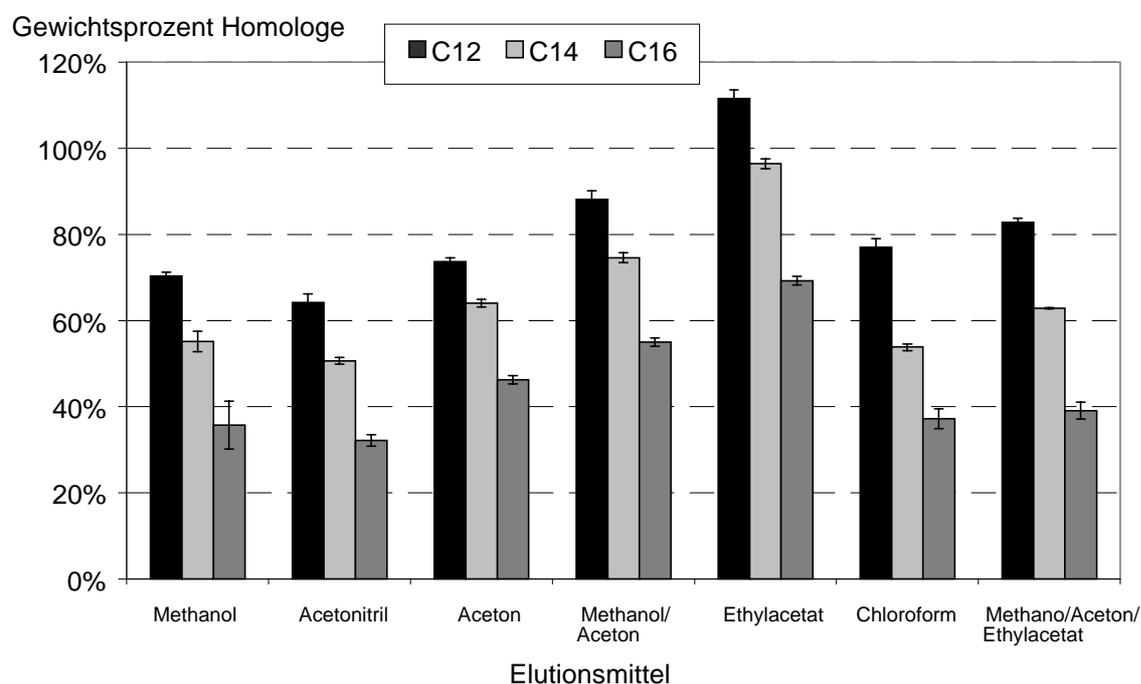


Abbildung 15: Mittlere Wiederfindungen von Brij 30-Homologen mit verschiedenen Alkylresten bei der Festphasenextraktion an Isolute ENV+ mit verschiedenen Elutionsmitteln (n = 2)

4.1.3.1.3 Graphitisierter Kohlenstoff

Als Grundlage für die Methodenentwicklung wurde die Methode nach Zanette et al. (1996) herangezogen.

4.1.3.1.3.1 Durchführung

Für die Wiederfindungsversuche wurde jeweils 1 L Wasser mit ca. 60 mg Brij 30, Eumulgin P bzw. Genapol UDD-079 versetzt. Eine mit 0,5 g ENVI-CARB (Supelco, Deisenhofen) gefüllte 6 mL-Extraktionssäule wird durch Waschen mit 8 mL Dichlormethan-Methanol 8:2 (v/v), 4 mL Methanol und 20 mL wäßriger 0,1 M Salzsäure konditioniert ohne das Festphasenbett trocken laufen zu lassen. Anschließend wird 20 mL Wasserprobe dotiert mit 10 µL 1 mg/mL ISTD (Stearylalkohol bei Brij 30, Laurylalkohol bei Eumulgin P bzw. Arachidylalkohol bei Genapol UDD-079) mit Hilfe eines leichten Vakuums und bei einer Tropfgeschwindigkeit von maximal 5 mL/min aufgegeben sowie mit zwei Säulenfüllungen Wasser nachgewaschen. Das Festphasenmaterial wird erst im Vakuum (ca. 5 min), später mit Hilfe eines leichten Stickstoffstroms zwei Stunden lang getrocknet.

Die Analyten werden in einer zweistufigen Gradientenelution mit 2 mL Methanol und 8 mL Dichlormethan-Methanol 8:2 (v/v) eluiert und die Fraktionen vereint. Anschließend wird das Eluat am Rotationsverdampfer bis fast zur Trockne eingengt und der Rückstand sofort mit 2 x 500 µL Methanol in ein Samplerfläschchen überführt. Nach erneuter Entfernung des Lösungsmittels unter leichtem Stickstoffstrom wird die getrocknete Probe gemäß Abschnitt 4.3.1.1 mit BSTFA derivatisiert und mittels HT-GC-AED gemäß Abschnitt 4.3.4 untersucht.

Die vollständig charakterisierten technischen Gemische Brij 30, Eumulgin P und Genapol UDD-079 wurden als Multikomponenten-Standards eingesetzt, da sie einen weiten Bereich unterschiedlichster AEO-Komponenten mit Alkylresten C9, C10, C11, C12, C14, C16, C18 und C20 mit EO-Graden von E0 bis E17 abdecken. Dies ermöglichte eine breitgefächerte Untersuchung der SPE an graphitisiertem Kohlenstoff auf mögliche Diskriminierungen bezüglich des EO-Grades oder der Kettenlänge des Alkylrestes. Abbildung 16 zeigt die mittleren Wiederfindungen der Komponenten mit den unterschiedlichen Alkylresten. Die Wiederfindung der Komponenten mit unterschiedlichen EO-Graden wird am Beispiel der C16-Homologen von Eumulgin P in Abbildung 17 demonstriert.

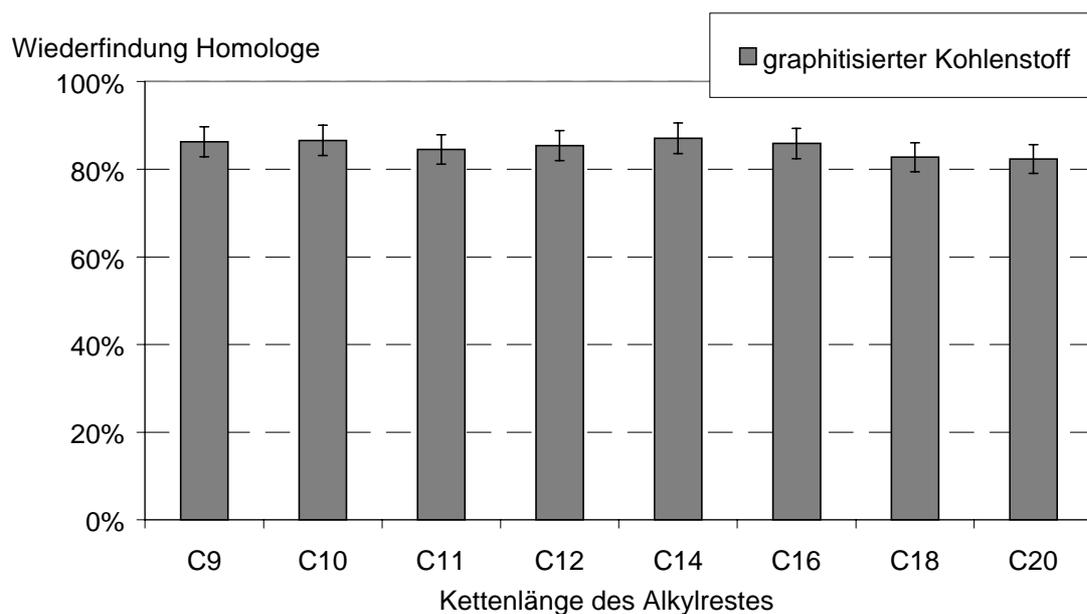


Abbildung 16: Mittlere Wiederfindungen von Homologen mit verschiedenen Alkylresten bei der Festphasenextraktion an ENVI-CARB mit Dichlormethan-Methanol (8:2, v/v) Elution (n = 3)

Gewichtsprozent Ethoxymere

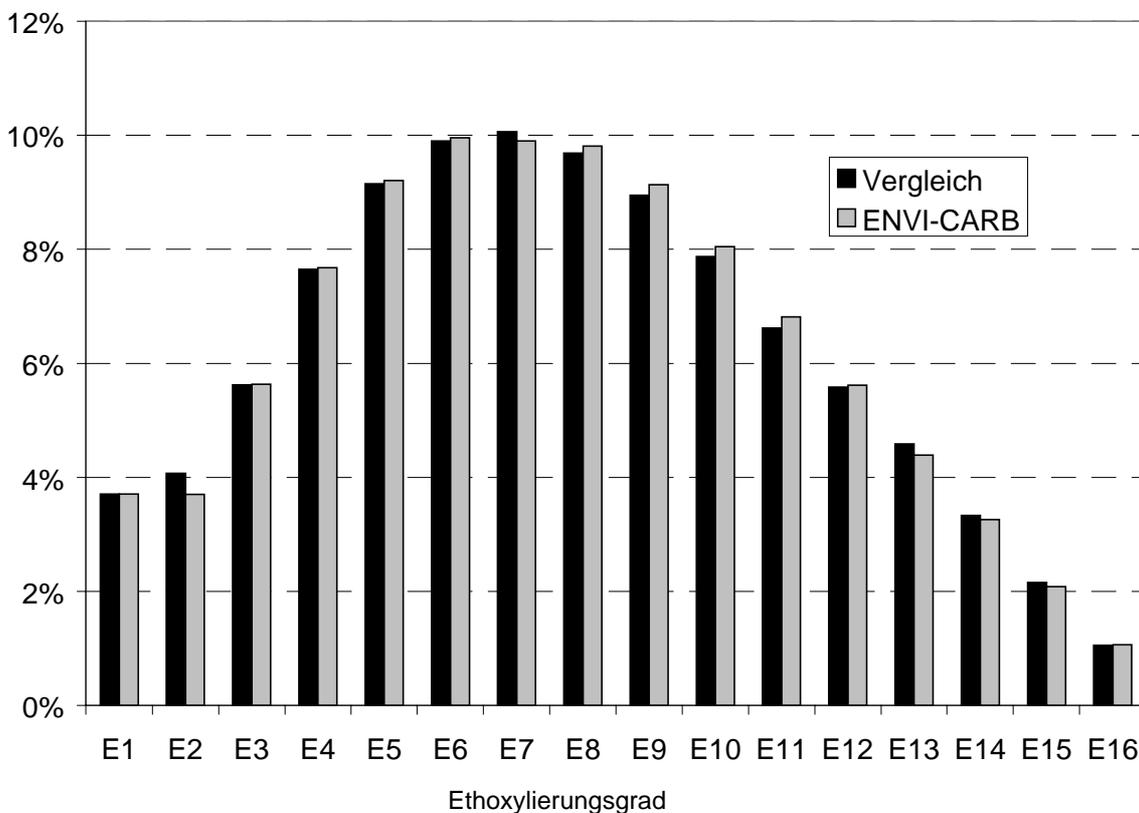


Abbildung 17: Festphasenextraktion von wäßriger Eumulgin P-Lösung an ENVI-CARB mit Dichlormethan-Methanol (8:2, v/v) Elution, resultierende EO-Verteilungen der C16-Ethoxymere der Kontrolle und des Extraktes

Wie Abbildung 16 und Abbildung 17 zeigen, konnten keine Diskriminierungen festgestellt werden. Alle Komponenten wiesen Wiederfindungen von ca. 85% auf. Diese Daten beziehen sich auf eine Elution mit Dichlormethan-Methanol 8:2 (v/v) nach Zanette et al. (1996). Mit einem Elutionsgemisch Chloroform:Methanol 15:1 (v/v) konnten die Wiederfindungen noch um 10% auf ca. 95% gesteigert werden. Der Wegfall des Konditionierungsschrittes mit Salzsäure erbrachte keine Verschlechterung der Wiederfindung. Die optimierte Vorschrift mit Chloroform:Methanol 15:1 (v/v) Elution ist in Kapitel 4.2 beschrieben.

Mit diesen Untersuchungen stellte sich der graphitisierte Kohlenstoff ENVI-CARB als das beste Sorbens für eine Anreicherung von AEO aus Wasser heraus. Dieses Sorbens eignet sich auch zur Anreicherung polarerer Metaboliten, wie z.B. PEG oder Carboxylaten von AEO. Zur Untersuchung dieser Metaboliten sollte jedoch die Konditionierung mit wäßriger Salzsäure durchgeführt werden, um die Anionenaustauschereigenschaften des graphitisierten Kohlenstoffs zu aktivieren.

4.2 Probenvorbereitung bei Waschmitteln und Körperpflegemitteln für Haut und Haar

Die Anwesenheit von tensidischer Matrix insbesondere Alkylpolyglucoside (APG) und Alkylethersulfate (AES), dargestellt in Abbildung 18, führt zu Problemen bei der Bestimmung von AEO mittels HT-GC.

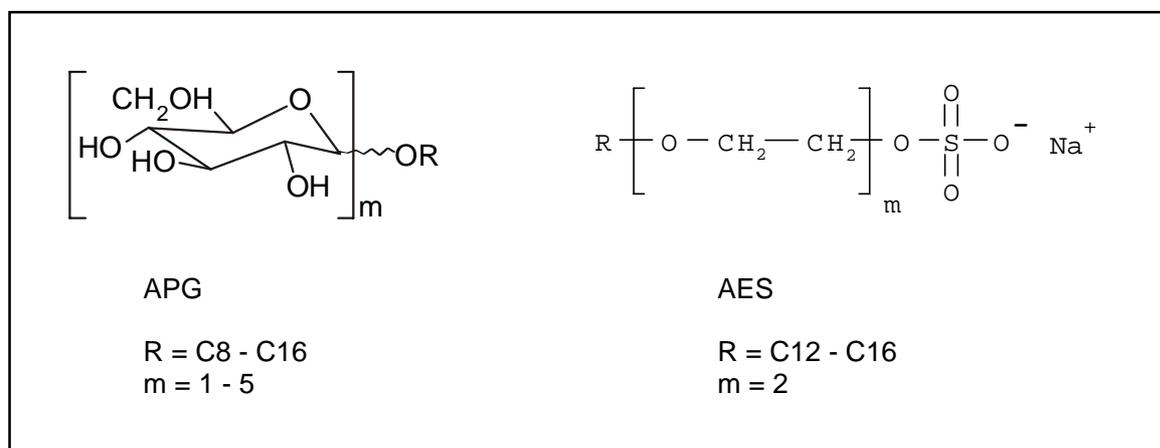


Abbildung 18: Struktur von APG und AES

APG gehören ebenfalls zu den nichtionischen Tensiden. Ein Alkylpolyglucosidmolekül weist mehrere Hydroxylgruppen auf. Die Umsetzung bei der Derivatisierung mit BSTFA ist nicht vollständig und führt zu vielen Produkten, deren Signale zu Peaküberlappungen mit AEO-Signalen führen. Das Gaschromatogramm eines technischen AEO-Gemisches weist im Durchschnitt 45 Signale auf, so daß Matrixpeaks sehr schnell zu Peaküberlappungen führen.

Anionische und kationische Tenside führen generell zu keiner Störung der GC-Bestimmung von AEO, da sie nicht gaschromatographierbar sind. Dennoch führen AES, die zu den anionischen Tensiden gehören, zu einer Störung. Sie werden durch Schwefelsäureveresterung (Sulfatisierung) aus AEO hergestellt. Da das Reaktionsgleichgewicht nicht vollständig auf der Produktseite liegt, sind stets AEO in technischen AES-Gemischen vorhanden. Hinzu kommt, daß das Erhitzen schnell zur Zersetzung der AES führt und AEO freigesetzt werden. Bei der Derivatisierung von AES oder AES-haltigen Proben mit BSTFA 20 min bei Raumtemperatur können silylierte AEO nachgewiesen werden. Die Ausbeute silylierter AEO wird signifikant gesteigert, wenn die Derivatisierung 20 min bei 70°C durchgeführt wird. Infolgedessen ist gleich zu Beginn der Probenaufarbeitung die schonende Entfernung der AES notwendig, um den tatsächlichen AEO-Gehalt der Probe bestimmen zu können. Andernfalls besteht die Gefahr, daß AEO aus den AES generiert werden und das Ergebnis verfälschen. Da in technischen AES-Gemischen stets AEO vorhanden ist, wird auch dieser AEO-Anteil erfaßt. In Shampoo-Proben wie z.B. Crisan werden daher auch AEO gefunden, obwohl keine AEO zugesetzt wurden.

Zur Aufarbeitung von Wasch- und Reinigungsmitteln für Haut und Haar wurde aufgrund der genannten Schwierigkeiten ein Trennungsgang entwickelt, durch den sowohl vorhandene APG als auch AES abgetrennt werden können. Als Grundlage wurde der Trennungsgang von Wodarczak und Burford (1998) herangezogen, der ursprünglich für die Bestimmung von APG in wäßrigen Proben konzipiert wurde. Bei diesem Trennungsgang erfolgt zunächst eine Anreicherung aller Tenside mit Kohlenwasserstoffketten an RP-C18-Material. Danach wird zur Trockne eingedunstet, in Chloroform-Methanol 15:1 (v/v) aufgenommen und der Extrakt auf Kieselgel aufgegeben. Dabei wird die Tatsache ausgenutzt, daß AEO in diesem Lösungsmittelgemisch im Gegensatz zu APG nicht an Kieselgel adsorbieren und APG und AEO voneinander getrennt werden können. Der AEO-haltige Durchlauf wurde von Wodarczak und Burford verworfen und die APG mit Methanol eluiert. Der methanolische Extrakt wurde anschließend noch durch einen SAX-Anionenaustauscher und einen SCX-Kationenaustauscher geleitet, um die ionischen Tenside zu entfernen.

4.2.1 Durchführung

Der in dieser Arbeit zur Bestimmung von AEO modifizierte Trennungsgang ist schematisch in Abbildung 19 dargestellt. Der erste Schritt der SPE an RP-C18 wurde durch die SPE an graphitisiertem Kohlenstoff ersetzt, wie in Abschnitt 4.1.3.1.3 beschrieben. Statt mit Dichlormethan-Methanol 8:2 (v/v) wurde jedoch mit dem Gemisch Chloroform:Methanol 15:1 (v/v) eluiert, womit die Wiederfindungsrate der AEO auf im Mittel 95% gesteigert werden konnte. Hierbei wird der zweite Schritt zugleich vorbereitet, ohne zwischendurch zur Trockne eindampfen zu müssen, um einen Lösungsmitteltausch vorzunehmen. Zur Elution der AEO mit Chloroform-Methanol werden die ENVI-CARB-Kartusche und die Kieselgelkartusche übereinandergesteckt, so daß das Eluat direkt in Tropfgeschwindigkeit durch das Kieselgel geleitet wird, um die APG abzutrennen. Der Durchlauf wird aufgefangen und nachfolgend zur Abtrennung der AES einem Anionenaustausch unterworfen. Da die AES den AEO strukturell sehr ähnlich sind, verhalten sie sich bis zu diesem Punkt des Trennungsganges gleich. Dennoch gelingt der Anionenaustausch an SAX nicht in Chloroform-Methanol-Lösung, so daß nun mittels eines Rotationsverdampfers vorsichtig bis fast zur Trockne eingedampft werden und in Methanol wieder aufgenommen werden muß. Der methanolische Extrakt wird dann auf eine SAX-Kartusche aufgegeben und der Durchlauf weiterverwendet. Auf den Kationenaustausch an SCX kann verzichtet werden, da kationische Tenside keine Störungen verursachen.

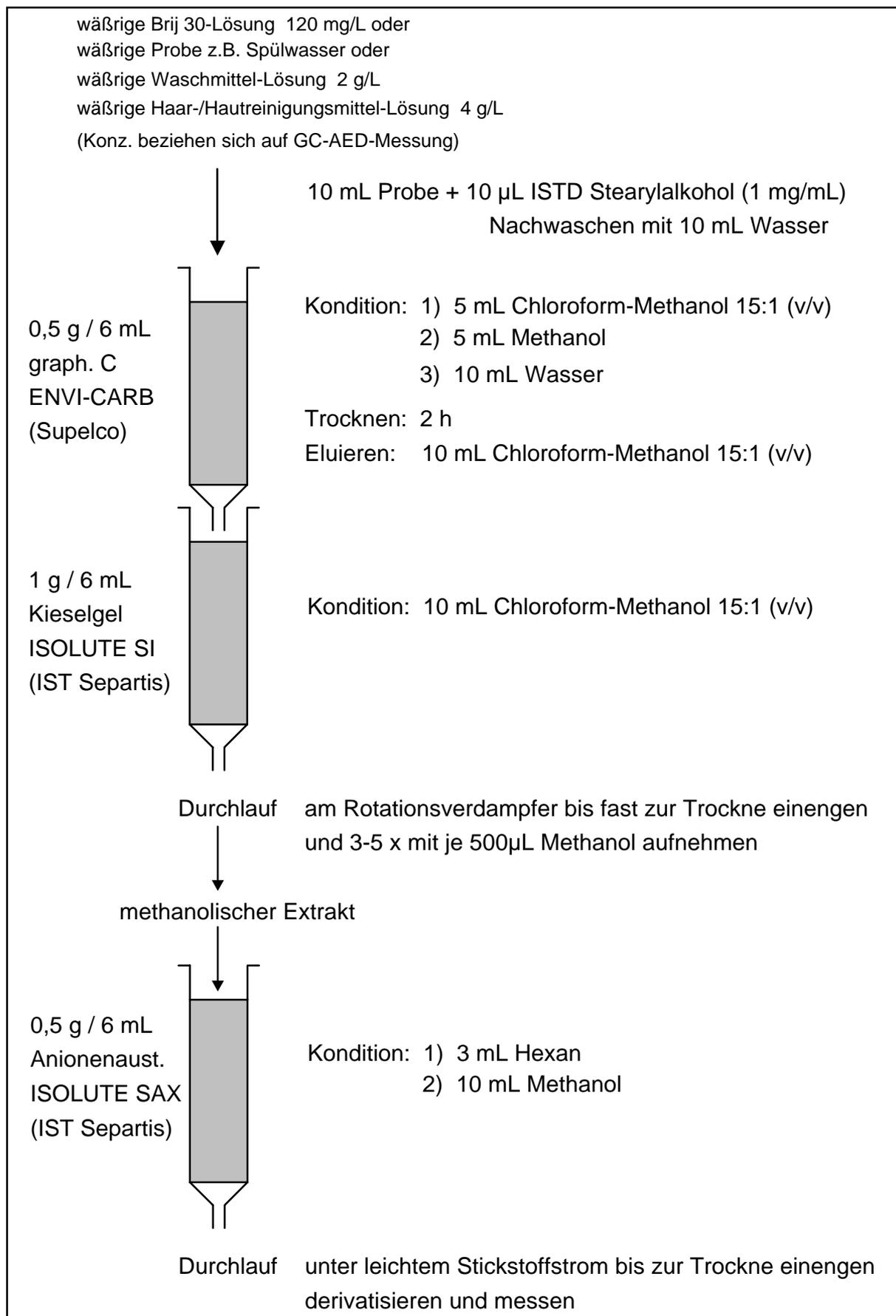


Abbildung 19: Aufarbeitung von Wasch- und Reinigungsmittelproben

4.3 Hochtemperaturgaschromatographie mit Atomemissionsdetektion

Die Kapillargaschromatographie stellt im Hinblick auf die Auflösung der chromatographischen Trennung ein besonders leistungsfähiges Verfahren dar. Die Analyse der AEO, die insbesondere mit zunehmendem EO-Grad schwerer verdampfbar werden, macht den Einsatz von hohen Temperaturen notwendig.

Die Trennung von derivatisierten AEO mittels HT-GC wurde bereits mehrfach beschrieben (Sandra und David, 1990; Silver und Kalinoski, 1992; Rasmussen et al., 1994). Als Detektor kam in allen Fällen der FID zum Einsatz, der eine Quantifizierung über die Berechnung relativer molarer Responsefaktoren, nach der Theorie der effektiven Kohlenstoffzahl nach Sternberg et al. (1962), erlaubt. Damit ist eine Quantifizierung durchführbar, ohne daß alle Reinsubstanzen zur Verfügung stehen müssen. Diese Art der "universellen Kalibrierung" ist auch mit der Atomemissionsdetektion möglich.

Bei der Atomemissionsdetektion wird nach Atomisierung und Anregung des Analyten die Stärke des emittierten elementspezifischen Lichtes registriert. Die Intensität des Lichtes ist dabei proportional zur Anzahl der angeregten Atome. Erfolgt die Atomisierung und Anregung der Atome im Plasma mit der gleichen Ausbeute, ist der Response für ein Element gleich bei allen Probensubstanzen. Bei Kenntnis der elementspezifischen Responsefaktoren kann aus dem Verhältnis der Signale für die einzelnen Elemente das Verhältnis der Elemente im Molekül und damit die Summenformel einer Substanz ermittelt werden. Umgekehrt kann bei bekannter Struktur des Analyten der Analyt-Response vorausberechnet werden. Es wurde mehrfach gezeigt, daß der molare Elementresponse bei der Atomemissionsdetektion unabhängig von der Molekülstruktur ist (Sullivan und Quimby, 1989; Wylie et al., 1990; Yieru et al., 1990; Pedersen-Bjergaard et al., 1992; Kovacic und Ramus, 1992; Gelencsér et al., 1993; Andersson und Schmid, 1993; Webster und Cooke, 1995; Gurka et al., 1997). Die besten Resultate wurden jedoch innerhalb von homologen Reihen gefunden (Linkerhägner, 1994), die aufgrund ähnlicher Strukturen und Bindungsenergien die beste Voraussetzung dafür liefern, daß die Atomisierung und nachfolgend Anregung mit der gleichen Ausbeute erfolgt. Mit einem konstanten molaren Response kann die Kalibrierung mit einem Multikomponentengemisch auf die Kalibrierung mit einer oder wenigen Referenzsubstanzen reduziert werden. Für diese Form der Kalibrierung wurde der Begriff "komponentenunabhängige Kalibrierung" (engl.: compound-independent-calibration: CIC) oder "universelle Kalibrierung" geprägt (Sullivan und Quimby, 1989).

4.3.1 Derivatisierungsmethoden

4.3.1.1 Silylierung

200 μL eines in Methanol gelösten technischen AEO-Gemisches (10 mg/mL) oder 100 μL einer methanolischen Stammlösung von AEO-Reinsubstanzen (10 mg/mL) werden in einem GC-Samplerfläschchen im Stickstoff-Strom vorsichtig getrocknet. Der trockene Rückstand oder der trockene Rückstand aus einer SPE-Aufarbeitung wird sofort mit 30 μL Pyridin und 30 μL Bis(trimethylsilyl)trifluoracetamid versetzt. Bei matrixhaltigen Proben, die hygroskopisch erschienen, wurde die Menge Pyridin und BSTFA auf jeweils 50 μL erhöht. Das Fläschchen wird sofort verkappt, mit einem Reagenzglasschüttler vermischt und nach Rasmussen et al. (1994) 20 Minuten in einem Trockenschrank bei 70°C temperiert. Es wurde festgestellt, daß das Reagenz so reaktiv ist, daß bereits bei Raumtemperatur eine vollständige Umsetzung nach dem Reaktionsschema in Abbildung 20 erfolgt. Um jedoch eine vollständige Reaktion unter allen Bedingungen zu gewährleisten, wurde die Temperaturerhöhung beibehalten. Nach Abkühlung wird mit 940 μL bzw. 900 μL Chloroform auf 1 mL aufgefüllt und 1, 2 oder 2,5 μL des silylierten technischen AEO-Gemisches direkt in den Gaschromatographen injiziert. Bei dem Standardgemisch erfolgen weitere Verdünnungen zur universellen Kalibrierung des GC-AED-Systems.

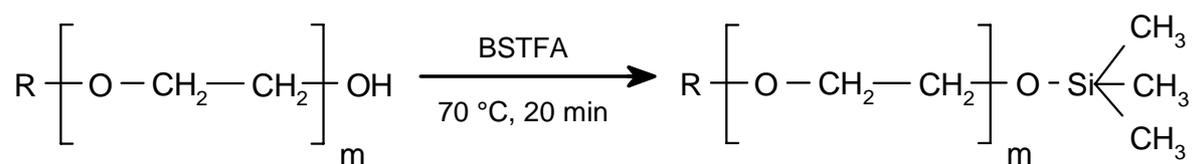


Abbildung 20: Silylierung mit BSTFA

4.3.1.2 Acetylierung

Die Veresterung mit Essigsäure erfolgt analog zur Silylierung in Abschnitt 4.3.1.1 im Mikromaßstab. Der trockene Rückstand aus 4.3.1.1 wird mit 30 μL Pyridin und 30 μL Acetanhydrid versetzt, 20 Minuten bei 70°C temperiert. Nach Abkühlung wird mit 940 μL Chloroform aufgefüllt und 1, 2 oder 2,5 μL zur GC eingesetzt.

4.3.2 Injektion bei der HT-GC-AED

Das vorhandene GC-AED-System ist mit einem Gerstel Kaltaufgabesystem KAS 3 ausgerüstet. Es handelt sich dabei um einen PTV-Injektor (engl.: Programmed Temperature Vaporizer) der eine temperaturprogrammierte Verdampfung erlaubt. Zur splitlosen PTV-Injektion der trotz Derivatisierung noch schwer verdampfbaren AEO wurde die maximale Starttemperatur von 150°C gewählt und mit der maximalen Aufheizrate von 12°C/s auf die Maximaltemperatur von 350°C aufgeheizt. Da mit diesen Einstellungen an das Limit des Kaltaufgabesystems herangegangen wurde, wurde das System zum Vergleich auf "on-column" umgebaut. Bei der on-column-Technik wird die Probe direkt in die Vorsäule injiziert, wobei sie ebenfalls schonend temperaturprogrammiert verdampft wird. Mit Hilfe des GC-Ofens können in diesem Fall jedoch höhere Temperaturen als 350°C erreicht werden. Ein Vergleich einer Injektion von silyliertem Brij 30 mit on-column und KAS-Injektion erbrachte jedoch im Vergleich der Peakflächen das gleiche Resultat (Abbildung 21). Die on-column erreichbaren Temperaturen sind zwar höher, werden aber erst gegen Ende der GC erreicht. Damit wird keine bessere Verdampfung der leicht zersetzlichen hoch ethoxylierten Komponenten erreicht.

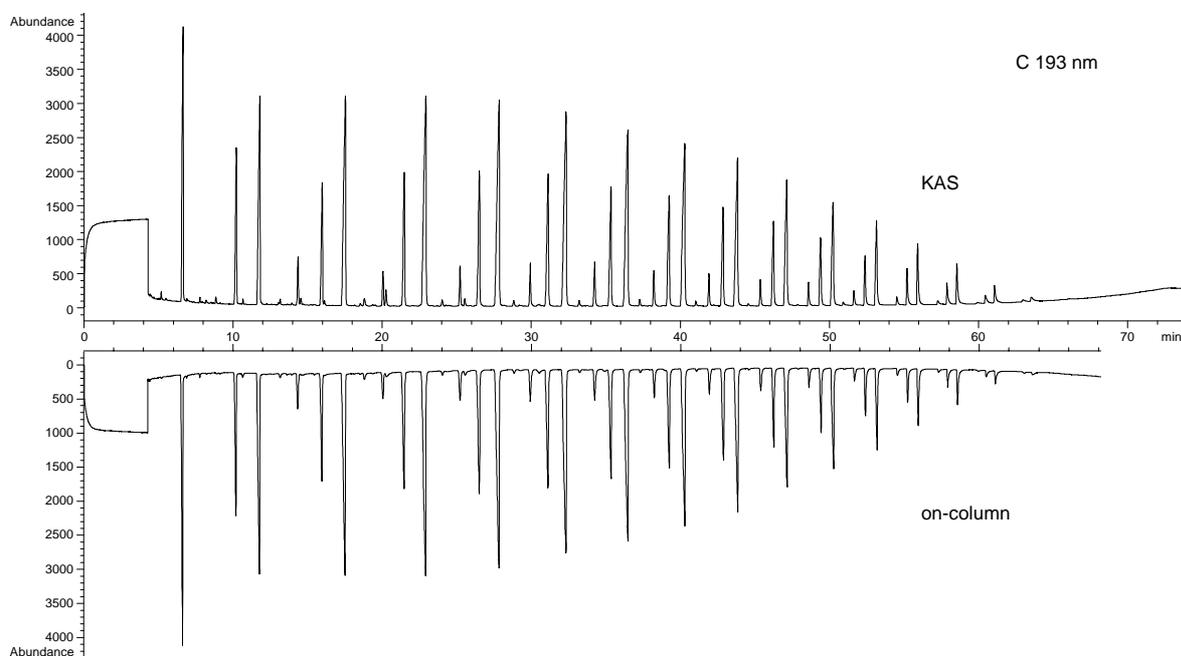


Abbildung 21: Vergleich der KAS-Injektion (oben) mit der on-column-Injektion (unten).
Parameter siehe Anhang A

Das KAS ist langfristig gegenüber der on-column-Injektion von Vorteil, da das Verdampferrohrchen leicht austauschbar und zu reinigen ist, im Gegensatz zum aufwendigeren und kostenintensiven Wechsel einer Vorsäule. Es kommt bei on-column Injektionen schnell zu Verschmutzungen des Systems. 2,5 μL Flüssigkeitsfilm breiten sich nach Munari et al. (1995) über 40 bis 60 cm Vorsäule aus. Durch nicht verdampfbare Matrixinhaltsstoffe kommt es zur Bildung von polaren Stellen über diese Säulenlänge, die zur Zersetzung polarer (schwer verdampfbarer) Analyten führen. Zur Messung von Proben aus dem biologischen Abbau und bei Waschmittel- und Körperpflegeprodukten ist daher das KAS von Vorteil. Die in dieser Arbeit beschriebenen Messungen erfolgten mit der KAS-Injektion, sofern die on-column-Injektion nicht speziell vermerkt wurde.

4.3.3 Identifizierung von AEO im Gaschromatogramm

Zur HT-GC wurde eine hochquervernetzte Dünnschichtkapillare DB5-HT mit einer Filmdicke von 0,1 μm gewählt. Die Trennphase mit 5% Diphenyl- und 95% Dimethylsiloxan ist als verhältnismäßig unpolar einzustufen. Als Säulenlänge wurden 15 m zur GC von hochmolekularen Substanzen gewählt. In den beschriebenen Methoden wird eine Säulenlänge von 10 - 15 m nicht überschritten. Die Trennung der AEO an dieser Phase erfolgt nach dem Siedepunkt. Dadurch können die AEO sowohl nach der Kettenlänge des Alkylrestes als auch nach dem Ethoxyierungsgrad getrennt werden.

Abbildung 22 zeigt die HT-GC-Trennung des technischen AEO-Gemisches Brij 30 mit und ohne Derivatisierung und Atomemissionsdetektion in der Kohlenstoff-Spur. Die eindeutige Zuordnung der Elutionsreihenfolge erfolgte anhand von Einzelinjektionen von Reinstoffen sowie Überprüfung mittels GC-MS (Abschnitt 4.4). Das Gemisch weist den ethoxylierten Lauryl- (C12), Myristyl- (C14) und Cetyl-Alkohol (C16) und einen mittleren molaren Ethoxyierungsgrad von 4 auf. Jeder Alkylrest bildet eine homologe Reihe der unterschiedlichen EO-Grade (Ethoxymere-reihe), die in der Abbildung durch unterschiedliche Symbole hervorgehoben sind. Die homologe Reihe startet mit dem Alkohol, der am wenigsten retardiert wird, dann folgen die AEO mit steigender Zahl an Ethoxy-Einheiten. Die Derivatisierung in Abbildung 22 b führt zu einer Verschiebung zu höheren Retentionszeiten, erhöht die Empfindlichkeit der Detektion der höhermolekularen Verbindungen und vermindert das Peaktailing.

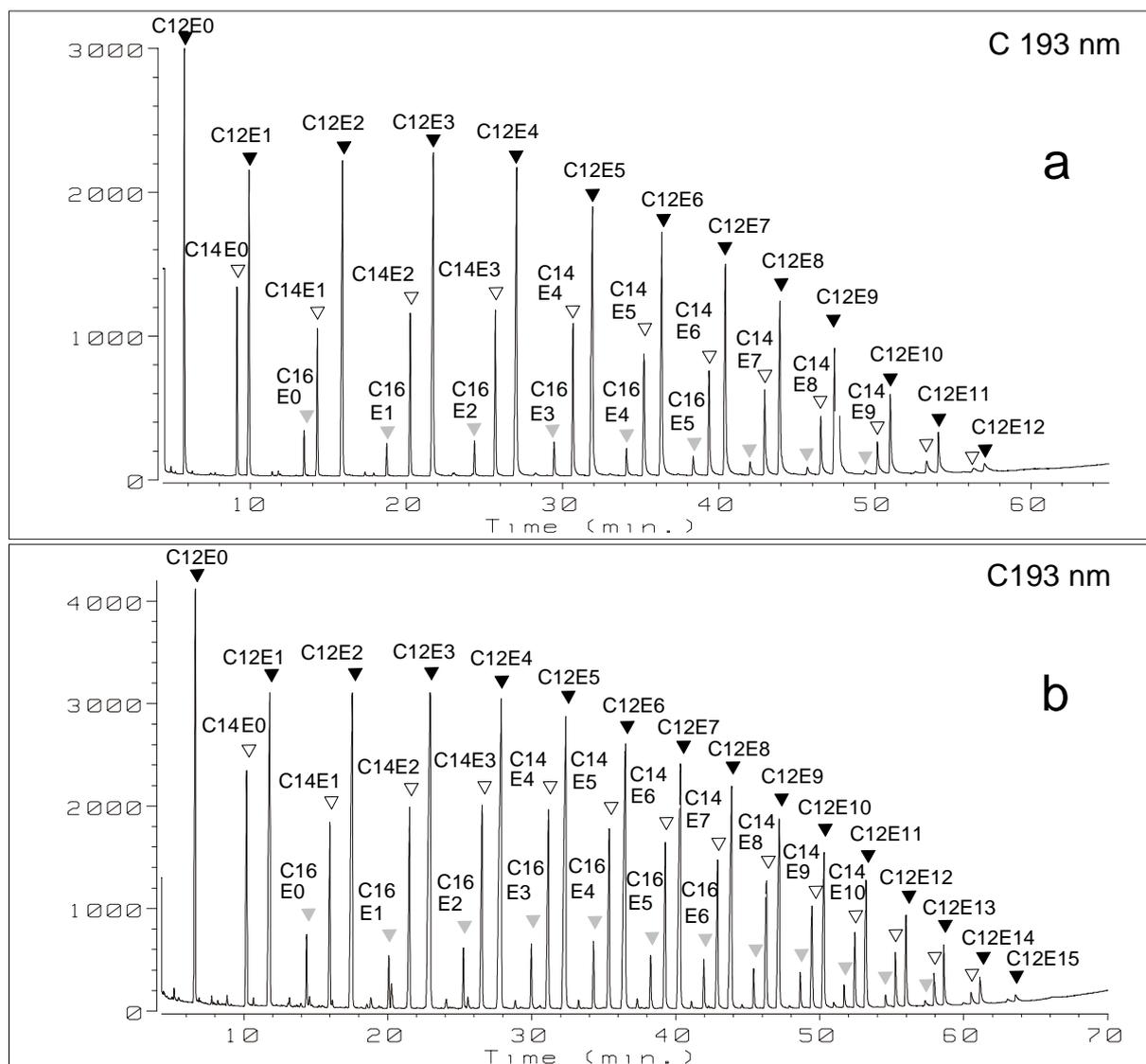


Abbildung 22: HT-GC- Trennung von Brij 30 (2 μ g) mit Atomemissionsdetektion in der Kohlenstoff-Spur; a: nicht derivatisiert, b: silyliert mit BSTFA. Parameter siehe Anhang A, Injektion: on-column

Unabhängig von Derivatisierung oder Nichtderivatisierung folgt die Elutionsreihenfolge einer Ethoxymere Reihe (C12E0, C12E1, C12E2, ...) einer polynomischen Funktion. Die Elutionsreihenfolge einer Homologenreihe (C10E1, C11E1, C12E1, ...) folgt dagegen einer linearen Funktion, die es erlaubt, Peaks zuzuordnen für die keine Reinsubstanz erhältlich ist (Abbildung 23, volle farbige Linien). Gleichzeitig ist aus dem Diagramm ersichtlich, daß es bei der Vielzahl der Verbindungen zu Coelutionen kommt. So haben beispielsweise C18- und C10-, sowie C20- und C12-Komponenten jeweils die gleichen Retentionszeiten (Abbildung 23, gestrichelte Linien). Bei den untersuchten AEO-Gemischen konnte jedoch kein Gemisch

gefundenen werden, welches ein Alkylkettenspektrum über einen derart großen Bereich aufweist. Die Problematik tritt dann zutage, wenn zwei technische Alkylethoxylyate wie z.B. Eumulgin ET5 und Genapol UDD 079 miteinander vermischt werden (siehe Abschnitt 5.2.2).

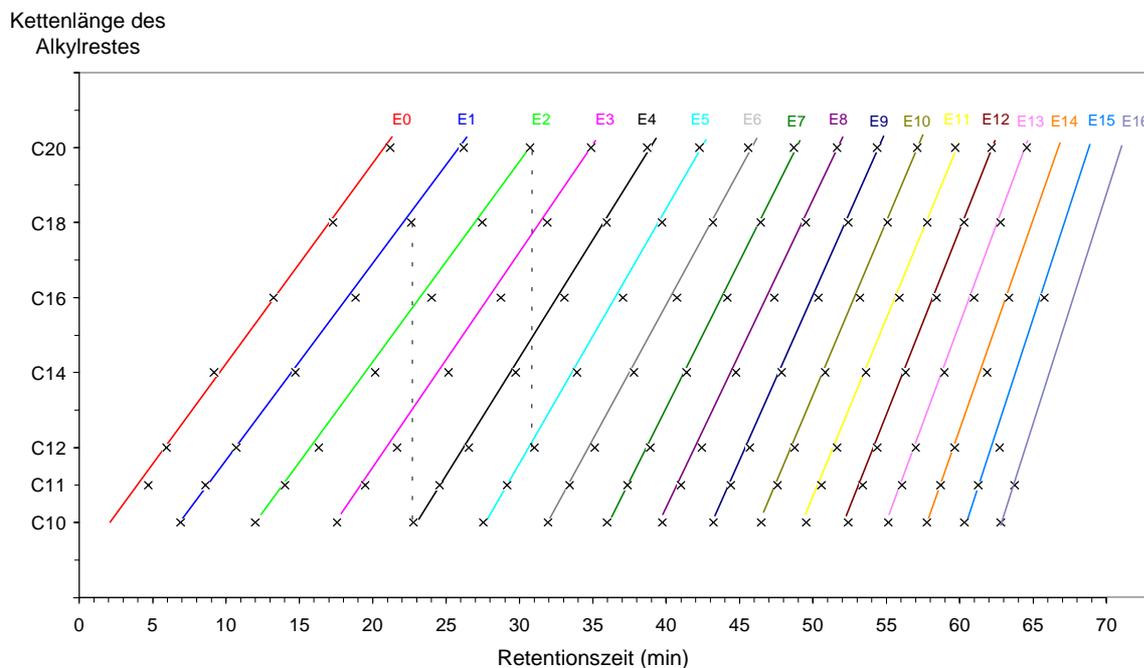


Abbildung 23: Retentionszeitendiagramm von silylierten AEO im HT-GC-AED-System. Parameter siehe Anhang A, Injektion: Kaltaufgabesystem (KAS)

Durch die Silylierung mit BSTFA wird endständig ein Heteroatom (Silizium) eingeführt (Abbildung 20), welches die Messung in der selektiven Silizium-Spur des Atomemissionsdetektors ermöglicht. Diese Messung erlaubt die selektive Betrachtung ausschließlich der Substanzen, die mit BSTFA reagieren. In Abbildung 24 ist ein HT-GC-AED-Chromatogramm von Brij 30 in der Silizium-Spur dargestellt. Diese Spur spiegelt das molare Verhältnis der AEO wider, da nur ein Silizium-Atom pro Molekül vorhanden ist. Die Fähigkeit des Atomemissionsdetektors sowohl die Silizium- als auch die Kohlenstoff- und Sauerstoff-Spur zu registrieren, ermöglicht es, die AEO gegebenenfalls in Gegenwart von überlagernder Matrix zu identifizieren. Auch die Quantifizierung über mehrere Spuren ist ein Mittel, eventuelle Peaküberlagerungen zu detektieren. Im Vergleich zur Silizium- und Sauerstoff-Spur ist jedoch die Kohlenstoff-Spur bei 193 nm am empfindlichsten.

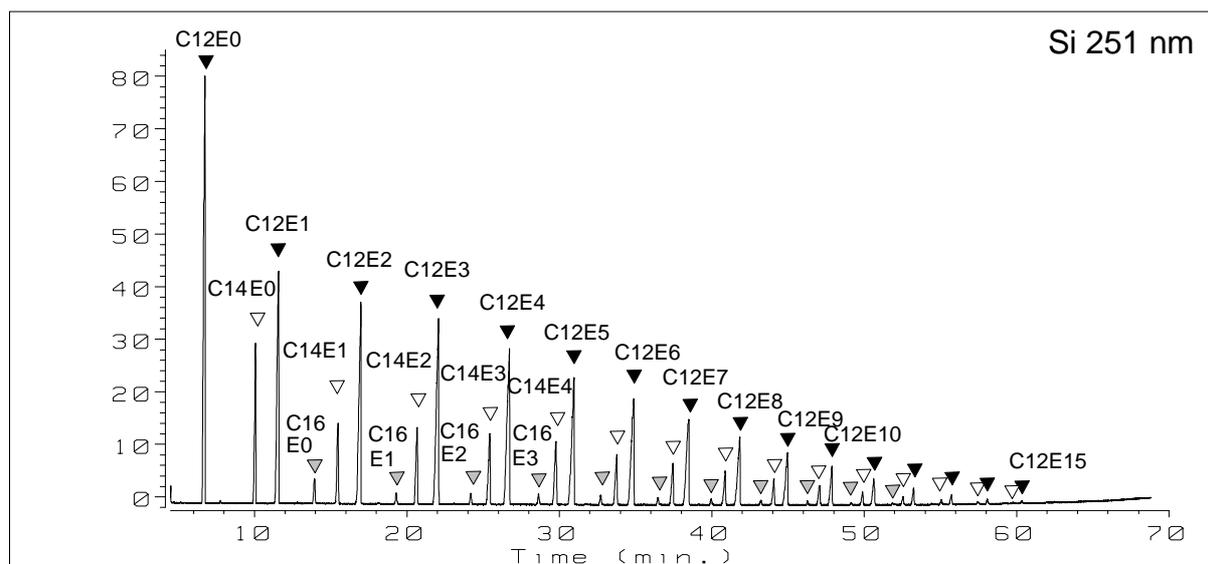


Abbildung 24: HT-GC- Trennung von silyliertem Brij 30 (5 μg) mit Atomemissionsdetektion in der Silizium-Spur. Parameter siehe Anhang A, Injektion: on-column

4.3.4 Quantifizierung von Einzelkomponenten über die universelle Kalibrierung

Mit Hilfe von 9 Reinsubstanzen, die underivatisiert und derivatisiert zur HT-GC-AED eingesetzt wurden, wurden Kalibriergeraden für die Kohlenstoff- (193 nm), die Sauerstoff- (777 nm) und die Silizium-Spur (251 nm) erstellt. Als Reinsubstanzen standen vier Fettalkohole, zwei AEO mit mittlerem EO-Grad und drei AEO mit höherem EO-Grad zur Verfügung.

Für jede Substanz wurde die erhaltene Elementsignalfläche gegen die Stoffmenge des jeweiligen Elementes aufgetragen und mit Hilfe des Tabellenkalkulationsprogramms "Microsoft Excel" eine lineare Regression durchgeführt. Die resultierenden Geradengleichungen des Typs $y = mx + b$ geben mit "m" die Steigung der Geraden und mit "b" den Achsenabschnitt an, der den Wert des Schnittpunkts der Geraden mit der y-Achse liefert. Für alle eingesetzten Substanzen wurde ebenso eine (lineare) Regression gemeinsam durchgeführt, deren Gleichung für die universelle Kalibrierung herangezogen wird. Tabelle 5 stellt die Werte der Steigungen und Achsenabschnitte der Einzel-Kalibriergeraden der underivatisierten Substanzen in der Kohlenstoff- und Sauerstoff-Spur gegenüber.

Tabelle 5: Werte der linearen Regression von Kalibriergeraden der Einzelsubstanzen

	Kohlenstoff (underivatisiert)		Sauerstoff (underivatisiert)	
	Steigung	Achsenabschnitt	Steigung	Achsenabschnitt
C14E0	31017121	6647	23284587	-2663
C16E0	32596446	15168	22202466	-1708
C18E0	35260023	8884	21595687	-660
C20E0	36958126	7182	22167063	-1219
C16E4	35959410	-733	25382938	-2363
C18E4	35803939	4383	25244009	-1849
C10E8	37223071	-22085	23636509	-7707
C16E8	33086558	-33449	23447115	-5037
Mittelwert	34738087	-1750	23370047	-2901
VK	6,5%	-967,3% (Tendenz)	6,0%	-80,73% (Tendenz)

Der Vergleich der Werte in Tabelle 5 zeigt, daß die Steigungen der Einzel-Geraden in der Kohlenstoff- und Sauerstoff-Spur mit einer relativen Standardabweichung von ca. 6% konstant sind. Bei den Abweichungen kann kein Zusammenhang zwischen den Werten und der chemischen Struktur gefunden werden. Da die Steigung der Kalibriergeraden ein Maß für die Empfindlichkeit der Detektion ist, werden alle untersuchten Standardsubstanzen mit der gleichen Empfindlichkeit detektiert. Beim Vergleich der Werte der Achsenabschnitte der Einzelgeraden ist jedoch folgende Tendenz zu beobachten: der Achsenabschnitt wird mit steigendem EO-Grad deutlich kleiner. Dieser Sachverhalt bedeutet bei konstanter Steigung, daß bei der graphischen Darstellung der Werte im x-y-Diagramm in Abbildung 25, die Punkte und die korrespondierende Kalibriergerade mit steigendem EO-Grad parallel nach unten verschoben werden. Dies wird am deutlichsten ersichtlich anhand der Parallelverschiebung der Werte von C16E8, der Substanz mit dem höchsten Siedepunkt. C16E8 wird im Diagramm dargestellt durch die quadratischen Symbole. Dieser Effekt läßt sich maßgebend durch eine Diskriminierung der höher ethoxylierten, schwerer verdampfenden AEO während der GC erklären.

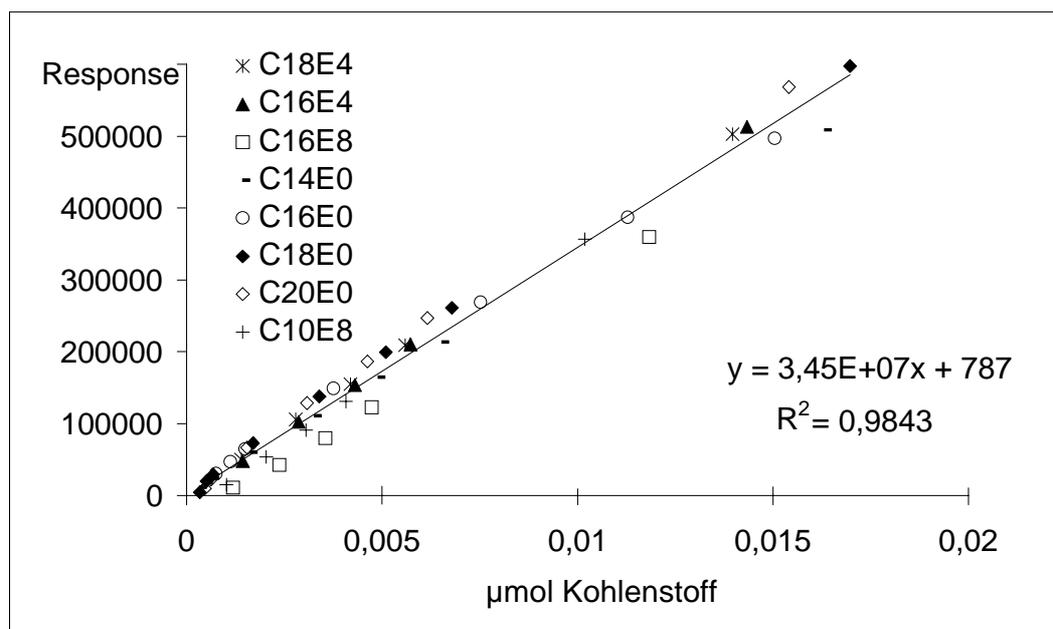


Abbildung 25: Universelle Kalibrierung in der Kohlenstoff-Spur (193 nm) ohne Derivatisierung. Auftragung der Elementsignalfläche gegen die injizierte Stoffmenge Kohlenstoff. Jeder Punkt ist Mittelwert von 5 Injektionen

Tabelle 6: Werte der Linearen Regression von Kalibriergeraden der Einzelsubstanzen

	Kohlenstoff (derivatisiert*)		Silizium (derivatisiert*)	
	Steigung	Achsenabschnitt	Steigung	Achsenabschnitt
C14E0	26140492	13906	6251054	-196
C16E0	27808530	11943	6172227	-189
C18E0	28170063	10948	6114958	-178
C20E0	29026604	9947	6133056	-169
C16E4	30660345	3033	5440027	-141
C18E4	31155681	3340	5538579	-130
C14E7	29788738	-1175	4741577	-109
C10E8	31363176	-3638	4818212	-117
C16E8	32332606	-6868	5168285	-125
Mittelwert	29605137	4604	5597553	-150
VK	6,7%	162,2% (Tendenz)	10,7% (leichte Tendenz!)	-21,9% (Tendenz)

* Derivatisierung mit BSTFA

Tabelle 6 stellt die Werte der Steigungen und Achsenabschnitte der Einzel-Kalibriergeraden in der Kohlenstoff- und Silizium-Spur nach Derivatisierung mit BSTFA gegenüber.

Die Silylierung bewirkt eine verbesserte Korrelation der Achsenabschnitte und damit der Kalibriergeraden in der Kohlenstoff-Spur. Die silylierten Verbindungen sind weniger polar und damit flüchtiger und besser gaschromatographierbar. Der VK der Achsenabschnitte nach Messung der derivatisierten Verbindungen weist einen deutlich niedrigeren Wert auf (Tabelle 6). Dies wird auch anhand der graphischen Darstellung in Abbildung 26 deutlich, die eine bessere Korrelation der Punkte bei der linearen Regression zeigt.

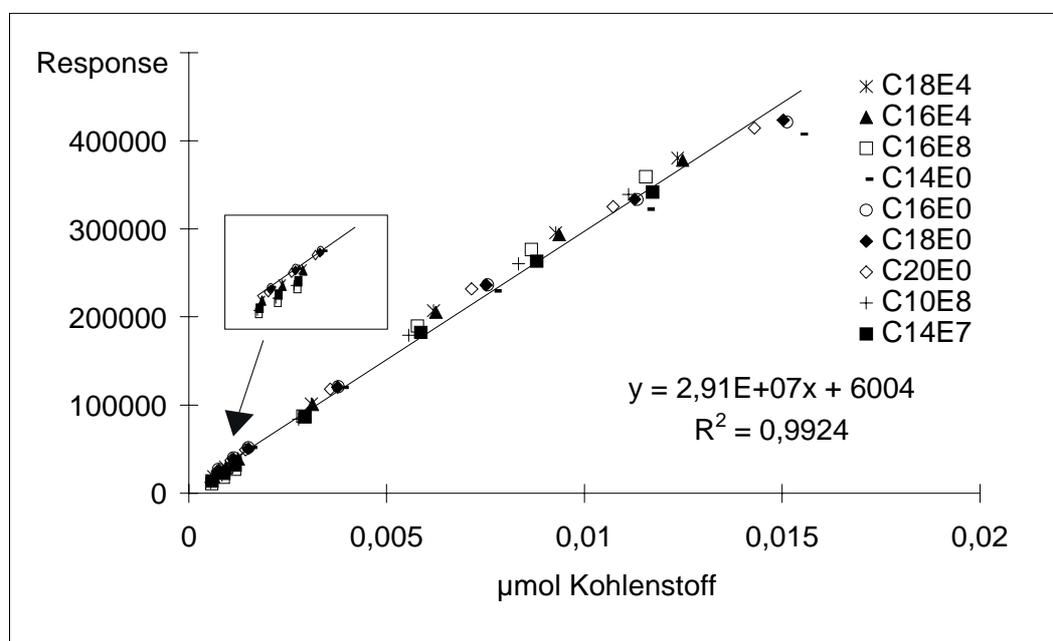


Abbildung 26: Universelle Kalibrierung in der Kohlenstoff-Spur (193 nm) nach Silylierung mit BSTFA. Auftragung der Elementsignalfläche gegen die injizierte Stoffmenge Kohlenstoff. Jeder Punkt ist Mittelwert von 5 Injektionen

Beim Vergleich der Achsenabschnitte der Kohlenstoff-Spur und der Heteroelement-Spuren von Sauerstoff und Silizium ist jedoch auffällig, daß die VK in den Heteroelement-Spuren deutlich niedriger liegen als diejenigen in der Kohlenstoff-Spur. Der VK der Achsenabschnitte in der Sauerstoff-Spur liegt bei Messung der underivatisierten Verbindungen deutlich niedriger als derjenige in der Kohlenstoff-Spur, sogar niedriger als der VK der derivatisierten Verbindungen in der Kohlenstoff-Spur. Da es sich um eine Messung exakt derselben Proben und Verbindungen handelte, gibt dieser Sachverhalt einen Hinweis

darauf, daß neben der Diskriminierung schwerer flüchtiger Verbindungen in der GC noch andere Effekte eine Rolle spielen. Eine Erklärung hierzu könnte sein, daß der molare Response nicht konstant ist, sondern eine leichte Strukturabhängigkeit zeigt. Die Ursache könnten unterschiedlich gebundene Species der Elemente sein. Im AEO-Molekül treten jeweils zwei verschiedene Kohlenstoff-Species auf. Ein an Kohlenstoff gebundener Kohlenstoff (C-C) in der hydrophoben Alkylkette liefert möglicherweise einen anderen Response als ein an Sauerstoff gebundener Kohlenstoff (C-O) in der hydrophilen Ethoxylatkette. Wird die Kohlenstoff-Species, die an Sauerstoff gebunden ist, schwerer atomisiert oder angeregt, so kommt es zu einem geringeren Response. Hochethoxylierte Komponenten bei denen diese Species überwiegt, zeigen dann einen niedrigeren Response. Unter dem Gesichtspunkt der Sauerstoff-Messung betrachtet, sind alle Sauerstoff-Atome im AEO-Molekül in eine Etherbrücke eingebunden (C-O-C). Lediglich ein Sauerstoff ist in die terminale Hydroxylgruppe eingebunden und weist underivatisiert eine Bindung zum Wasserstoff auf (C-O-H). Möglicherweise fällt diese Species nicht so sehr ins Gewicht. Diese Theorie wird dadurch unterstützt, daß die Messung in der Silizium-Spur den kleinsten VK der Achsenabschnitte aufweist. Hier ist nur eine einzige Elementspecies im Molekül gebunden (siehe Abbildung 20).

Abbildung 27 zeigt die universelle Kalibrierung in der Silizium-Spur, die gegenüber der Kalibrierung in der Kohlenstoff-Spur eine noch verbesserte Korrelation bezüglich der Achsenabschnitte aufweist.

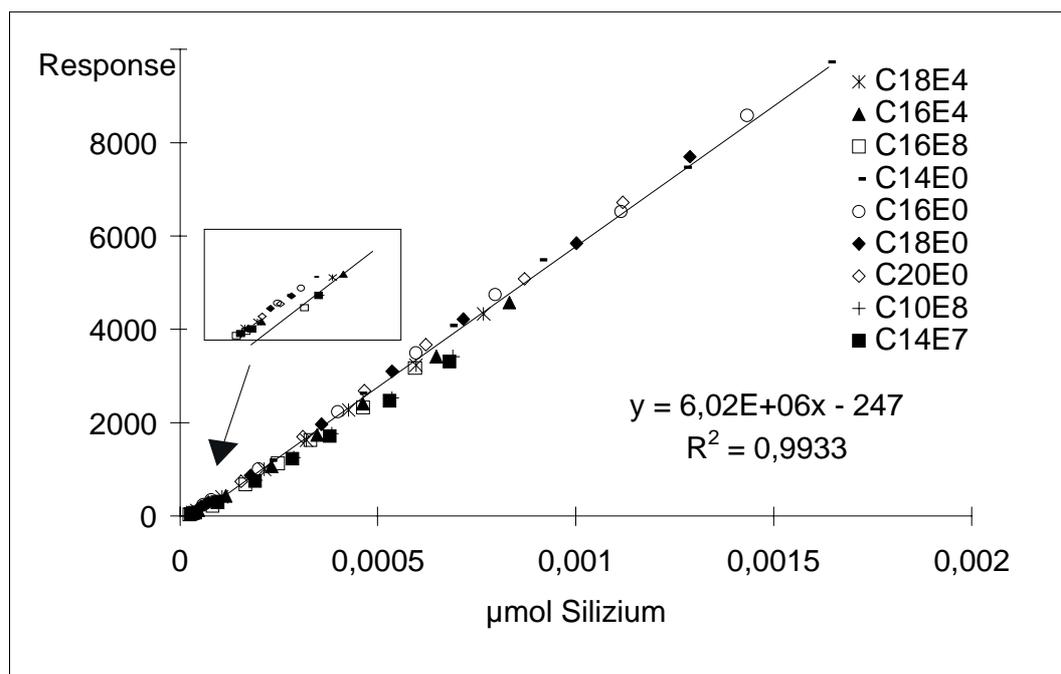


Abbildung 27: Universelle Kalibrierung in der Silizium-Spur (Si 251 nm) nach Silylierung. Auftragung der Elementsignalfläche gegen die injizierte Stoffmenge Silizium. Jeder Punkt ist Mittelwert von 5 Injektionen

Bei der universellen Kalibrierung in der Silizium-Spur werden jedoch größere Unterschiede bei den Steigungen beobachtet (VK = 11%). So zeigen die Alkohole eine größere Steigung als die AEO. Da die Steigung ein Maß für die Empfindlichkeit eines Detektors ist, wird das Silizium der Alkohole empfindlicher detektiert als das Silizium der AEO. Der Unterschied liegt offensichtlich im Sauerstoffgehalt dieser Verbindungen. Es kommt teilweise zu einer Reaktion des Siliziums mit dem Sauerstoff, bei dem Siliziumdioxid gebildet wird. Dies konnte durch sichtbare Ablagerungen von SiO_2 im Entladungsröhrchen des Atomemissionsdetektors nachgewiesen werden. Das Resultat ist eine verschlechterte Anregung und Emission des Siliziums bei dieser Wellenlänge. Diese Effekte treten bei der Messung und Kalibrierung in der Silizium-Spur jedoch nur leicht in Erscheinung. Größere Einschränkungen ergeben sich dagegen bei der Messung in der Sauerstoff-Spur. Hier kommt es bei der Elution des Alkohols und der einfach ethoxylierten AEO zu einem starken Abfall der Basislinie, also zu einer größeren Störung (Abbildung 28 a). Bei den später eluierenden Verbindungen ist der Sauerstoffgehalt im Molekül größer, wodurch dieser Effekt nicht mehr so stark in Erscheinung tritt. Eine Störung der Messung von silylierten Verbindungen in der Sauerstoff-Spur wurde bereits von Schäfer (1993) berichtet. Aus diesen Gründen wurde hier eine alternative Derivatisierungsmethode vorgezogen: die Acetylierung. Bei der Reaktion mit Acetanhydrid

werden Essigsäureester gebildet, die eine mit den silylierten Verbindungen vergleichbare Flüchtigkeit zeigen. Die Chromatogramme in der Sauerstoff-Spur weisen keine Störungen mehr auf (Abbildung 28 b).

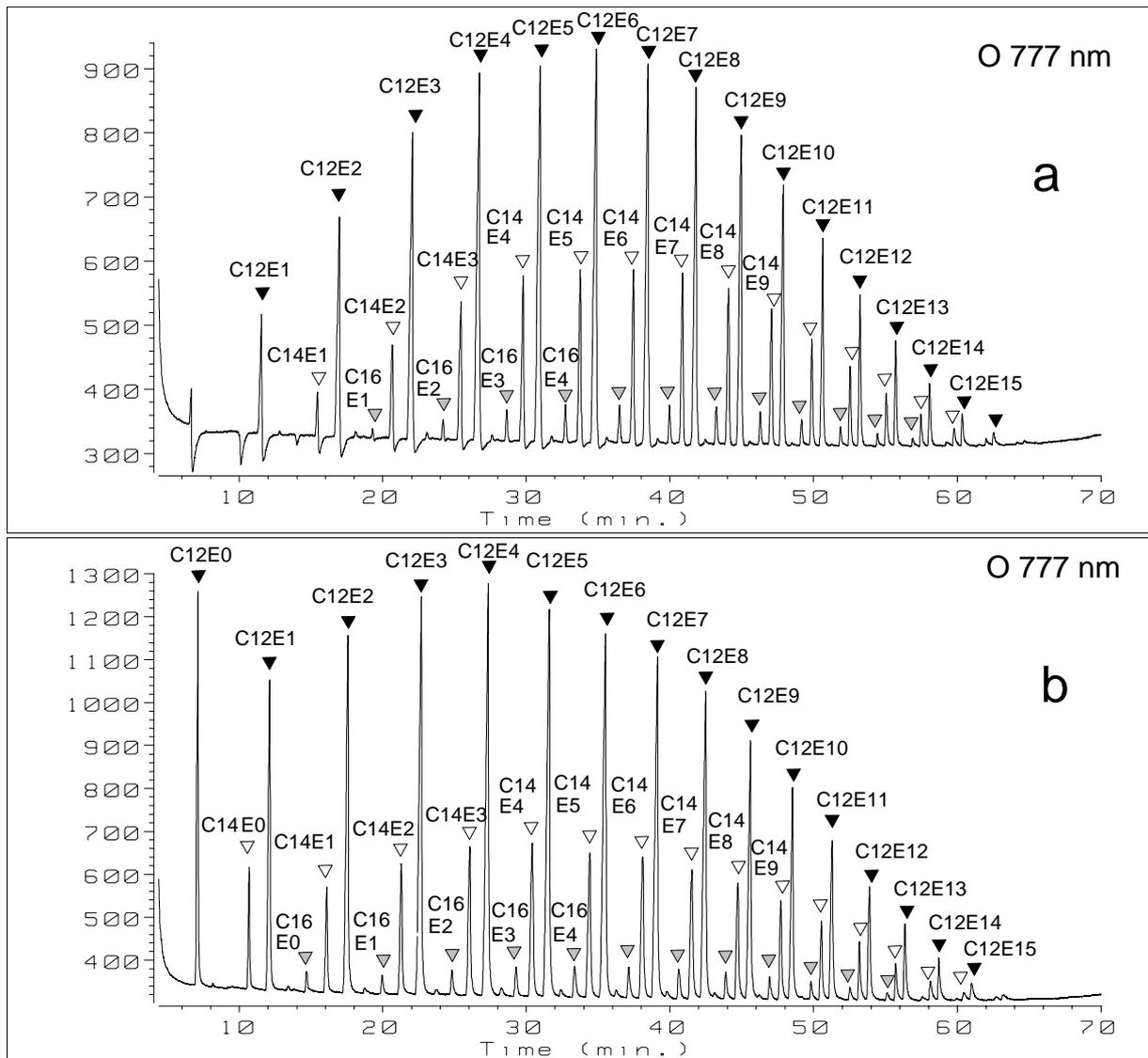


Abbildung 28: HT-GC- Trennung von silyliertem Brij 30 (a) und acetyliertem Brij 30 (b) mit Atomemissionsdetektion in der Sauerstoff-Spur. Parameter siehe Anhang A, Injektion: on-column

In der Kohlenstoff-Spur werden mit silylierten sowie acetylierten Verbindungen gleiche Ergebnisse erzielt. Abbildung 29 zeigt ein HT-GC-AED-Chromatogramm von acetyliertem Brij 30 in der Kohlenstoff-Spur.

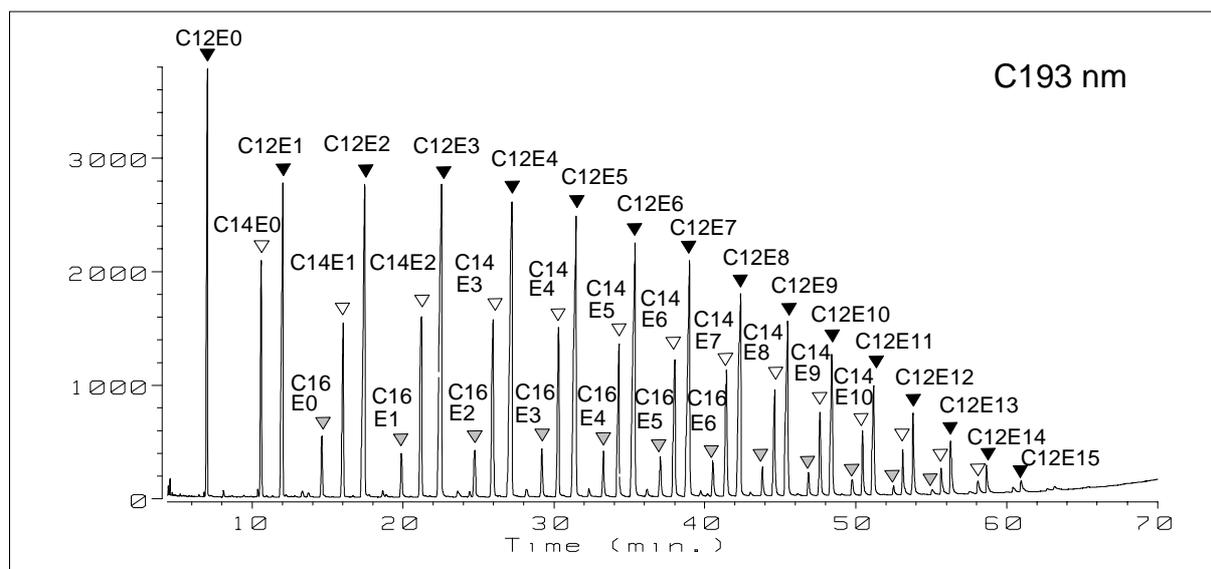


Abbildung 29: HT-GC- Trennung von acetyliertem Brij 30 mit Atomemissionsdetektion in der Kohlenstoff-Spur. Parameter siehe Anhang A, Injektion: on-column

Mit Hilfe der universellen Kalibrierung kann in der homologen Reihe der AEO jedes einzelne Oligomer quantifiziert werden. Die einzigen Voraussetzungen sind die Gaschromatographierbarkeit und die zuvor gesicherte Identifizierung. Die Zuordnung der Peaks erfolgt anhand der Retentionszeit mit Hilfe des Diagramms aus Abbildung 23 und der logischen Elutionsreihenfolge der Ethoxymere.

Die universelle Kalibrierung für die AEO wurde in drei Elementspuren Kohlenstoff, Sauerstoff und Silizium vergleichend durchgeführt und anhand des technischen Gemisches Brij 30 validiert (Abbildung 30). Der Vergleich der Quantifizierung der derivatisierten C12-Ethoxymere von Brij 30 in allen drei Elementspuren zeigt gute Übereinstimmung der Daten. Lediglich beim Alkohol und bei den höher ethoxylierten Verbindungen zeigen sich Abweichungen. Die Abweichung bei der Quantifizierung des Alkohols begründet sich damit, daß der Alkohol in seiner Struktureigenschaft stärker aus der homologen Reihe der AEO herausfällt, wodurch erneut die leichte Strukturabhängigkeit des Response deutlich wird. Dennoch kann der Alkohol mit der universellen Kalibrierung zufriedenstellend quantifiziert werden.

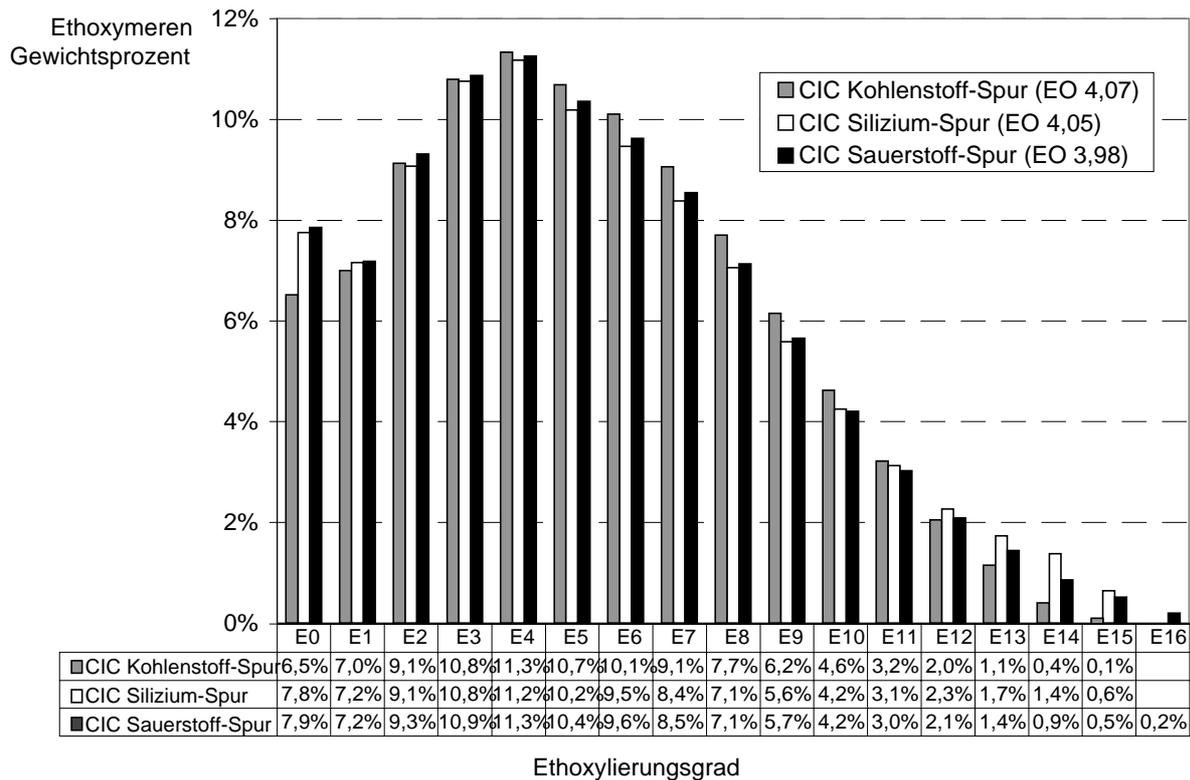


Abbildung 30: Prozentuale Ethoxymereverteilung der C12-Ethoxymere von Brij 30 mittels Messung in der HT-GC-AED Kohlenstoff-, Silizium- und Sauerstoff-Spur. Parameter siehe Anhang A, Injektion on-column

Bei den höher ethoxylierten Verbindungen kommt es bei der Quantifizierung in der Kohlenstoff-Spur zu Unterbefunden, während es in der Silizium-Spur zu Überbefunden kommt. Die Ursache ist im linear dynamischen Bereich des Detektors zu suchen. Gerade bei sehr niedrigen Konzentrationen weicht der Response von der Linearität ab. Wie in Abbildung 26 in der Vergrößerung des unteren Konzentrationsbereiches zu sehen, ist der tatsächliche Response kleiner als mit der Kalibriergerade berechnet wird, womit bei der universellen Kalibrierung in der Kohlenstoff-Spur Unterbefunde erhalten werden. Der umgekehrte Fall ergibt sich bei der Silizium-Spur (Abbildung 27). Der Fehler läßt sich reduzieren, wenn die Kalibriergerade über einen kleineren Konzentrationsbereich angepaßt oder über den gesamten Konzentrationsbereich eine polynomische Anpassung durchgeführt wird (Abbildung 31, Abbildung 32).

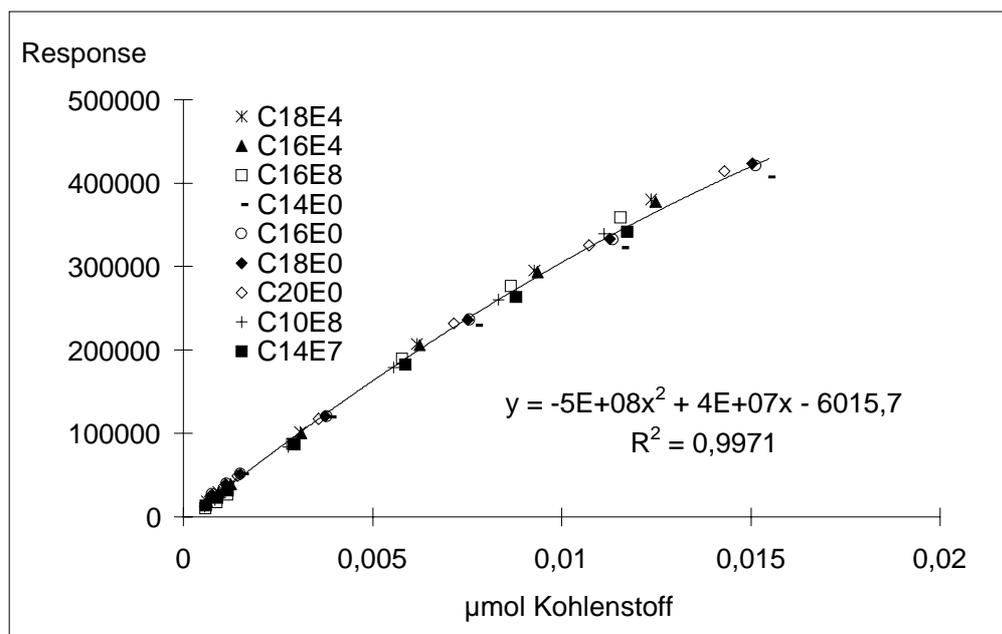


Abbildung 31: Universelle Kalibrierung in der Kohlenstoff-Spur (C 193 nm) nach Silylierung mit polynomischer Anpassung. Auftragung der Elementsignalfläche gegen die injizierte Stoffmenge Kohlenstoff

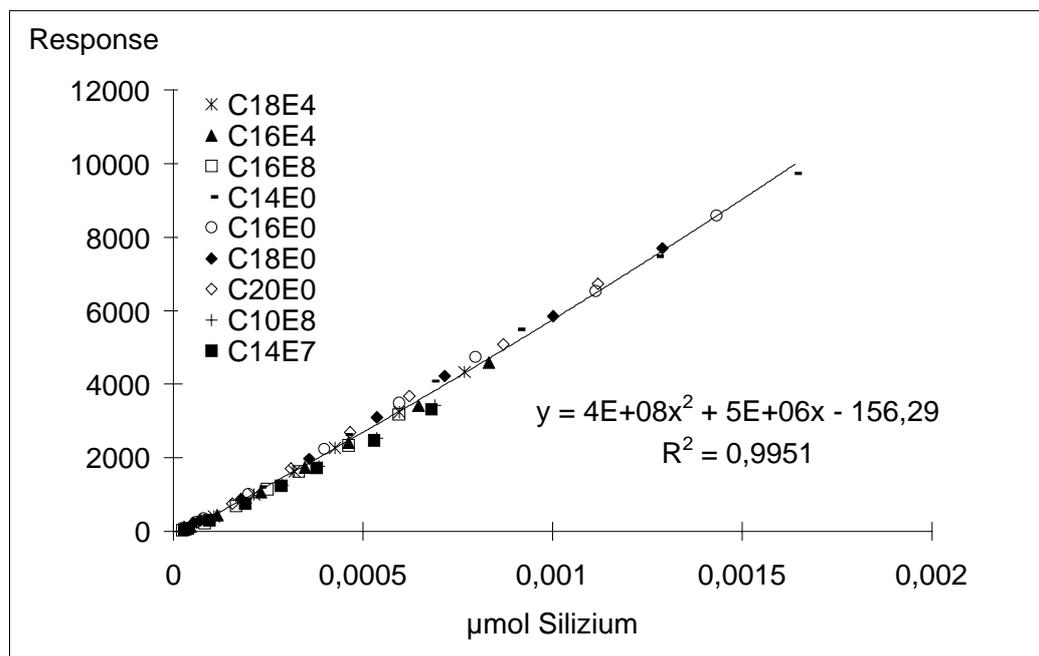


Abbildung 32: Universelle Kalibrierung in der Silizium-Spur (Si 251 nm) nach Silylierung mit polynomischer Anpassung. Auftragung der Elementsignalfläche gegen die injizierte Stoffmenge Silizium

Die Überprüfung der universellen Kalibrierung mit polynomischer Anpassung wurde mit den gleichen zur Kalibrierung verwendeten oben genannten Standardsubstanzen durchgeführt. Die

Injektion absoluter Mengen bis minimal auf 5 ng Fettalkohol, C16E4 und C18E4 liefert in der Kohlenstoff-Spur Fehler von maximal 10% Abweichung vom realen Wert. Bei den höher ethoxylierten Standardsubstanzen C10E8 und C18E8 werden jedoch bereits ab 10 ng Unterbefunde bis zu 40% Abweichung vom realen Wert erhalten. In der Silizium-Spur wird der Fehlerbereich im Rahmen von maximal 10% Abweichung bei Injektionen bis 10 ng eingehalten. Bei kleineren Mengen werden jedoch auch hier größere Fehler bis 40% Abweichung erhalten, die sich in diesem Fall in Überbefunden äußern. Die besten Ergebnisse konnten daher bei der Injektion der größtmöglichen Konzentration des technischen AEO-Gemisches erhalten werden. Die hohen Konzentrationen führen zwar zu einer Überladung der gaschromatographischen Säule, was sich in einem sogenannten "Fronting" der Peaks äußert, die gaschromatographische Trennleistung erfährt hierdurch jedoch keine Einbußen. Bei Messung in der Kohlenstoff-Spur können daher Gesamtmengen von 2 bis 6 µg technisches AEO-Gemisch, in der Silizium- und Sauerstoff-Spur 5 - 7 µg eingesetzt werden. Höhere Mengen sind nicht empfehlenswert, da sie zu Kohlenstoff-Ablagerungen im Entladungsröhrchen des Atomemissionsdetektors führen können und damit die Detektion beeinträchtigen. Ein "gealtertes" Entladungsröhrchen mit Ablagerungen führt zu einer verminderten Empfindlichkeit der Detektion, was sich in einer niedrigeren Steigung der Kalibriergeraden äußert. Die geringere Empfindlichkeit durch Ablagerungen wird nach Schäfer (1993) auf eine verminderte Temperatur des Plasmas infolge des "Glühens" des Kohlenstoffs zurückgeführt.

Aus den gleichen Gründen einer genaueren Quantifizierung bei höheren Konzentrationen empfiehlt sich, die Berechnung des mittleren EO-Grades aus den Gewichtsprozenten derjenigen Komponenten durchzuführen, die den Alkylrest mit dem größten prozentualen Anteil liefern (Majorkomponenten). Die Durchführung der Berechnung des mittleren molaren EO-Grades ist in Abschnitt 4.3.6 beschrieben.

Aus der Quantifizierung der C12-Ethoxymeren von Brij 30 mittels CIC in der Kohlenstoff-Silizium- sowie Sauerstoff-Spur in Abbildung 30 ließen sich mittlere molare EO-Grade von $4 \pm 0,1$ berechnen. Diese Daten von 1997 beziehen sich auf das frisch bezogene Gemisch. Die Herstellerangaben belaufen sich auf 4. Die Aufsummierung der absoluten Mengenbeträge aller Einzelkomponenten ergibt Abweichungen von 5 - 10% der absoluten Einwaage zur Derivatisierung (siehe dazu auch Abschnitt 4.3.5). Die relativen Standardabweichungen für die Messungen mit Derivatisierung betragen 3 - 4% (Einwaage-, Pipetten- und Injektionsfehler).

Zur Absicherung der gefundenen Alkylkettenverteilung des technischen Gemisches Brij 30 wurde eine Etherspaltung mit Bromwasserstoff durchgeführt. Ein Vergleich der erhaltenen Alkylkettenverteilung aus der universellen Kalibrierung in drei Elementspuren und der unabhängigen Analyse nach Bromwasserstoffspaltung ergab - nach Berücksichtigung des linear dynamischen Bereiches - übereinstimmende Ergebnisse. Vielen technischen Gemischen liegen Rohstoffgemische aus natürlichen Fetten zugrunde, Brij 30 wurde aus der Ethoxylierung von Fettalkoholen hergestellt, die ursprünglich dem Kokosfett entstammen. Der Laurylrest ist demzufolge Hauptkomponente mit ca. 68%, der Myristylrest besitzt einen Anteil von ca. 26% und der Cetylrest einen Anteil von nur noch 6%. Da sich diese 6% noch auf ca. 15 Komponenten aufteilen, die wiederum in unterschiedlichen Mengen vorliegen, gelangt man bei der Analyse eines solchen Gemisches leicht außerhalb des linear dynamischen Bereiches. Bei einer Injektion von 6 µg Brij 30 wird die höchstkonzentrierte Komponente C12E4 mit 496 ng bestimmt. Die kleinste Minorkomponente dagegen, die gerade noch detektiert wird, ist C16E13 mit 2 ng. Kritische Konzentrationen von < 10 ng werden nur bei C16E12 bis C16E15, C14E14 und C14E15 sowie C12E15 erreicht, die im Gesamtgemisch nur eine unbedeutende Rolle spielen.

Die Überprüfung der EO-Verteilung erfolgte mittels HPLC-UV (siehe Abschnitt 4.5.4).

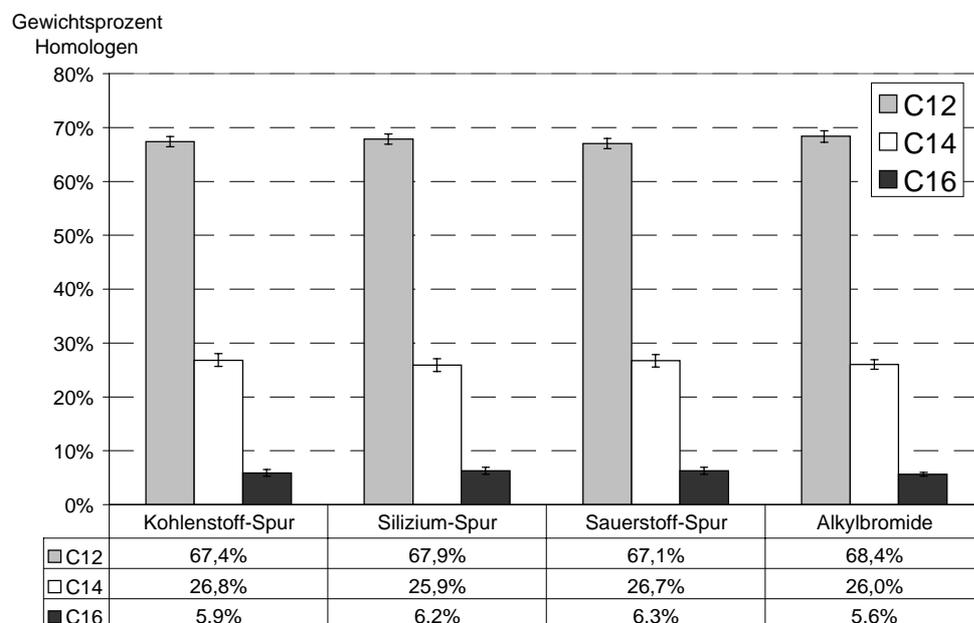


Abbildung 33: Vergleich der prozentualen Alkylkettenverteilung von Brij 30 mittels Messung in der HT-GC-AED Kohlenstoff-, Silizium- und Sauerstoff-Spur, n = 4. Parameter siehe Anhang A, Injektion: on-column

4.3.5 Präzision der HT-GC-AED

Im Zuge der Optimierungen der Festphasenextraktion wurde als Referenz das technische AEO-Gemisch Brij 30 verwendet. Die jeweils frisch hergestellte, mit BSTFA derivatisierte Kontrolle wurde in jeder Sequenz mit vermessen.

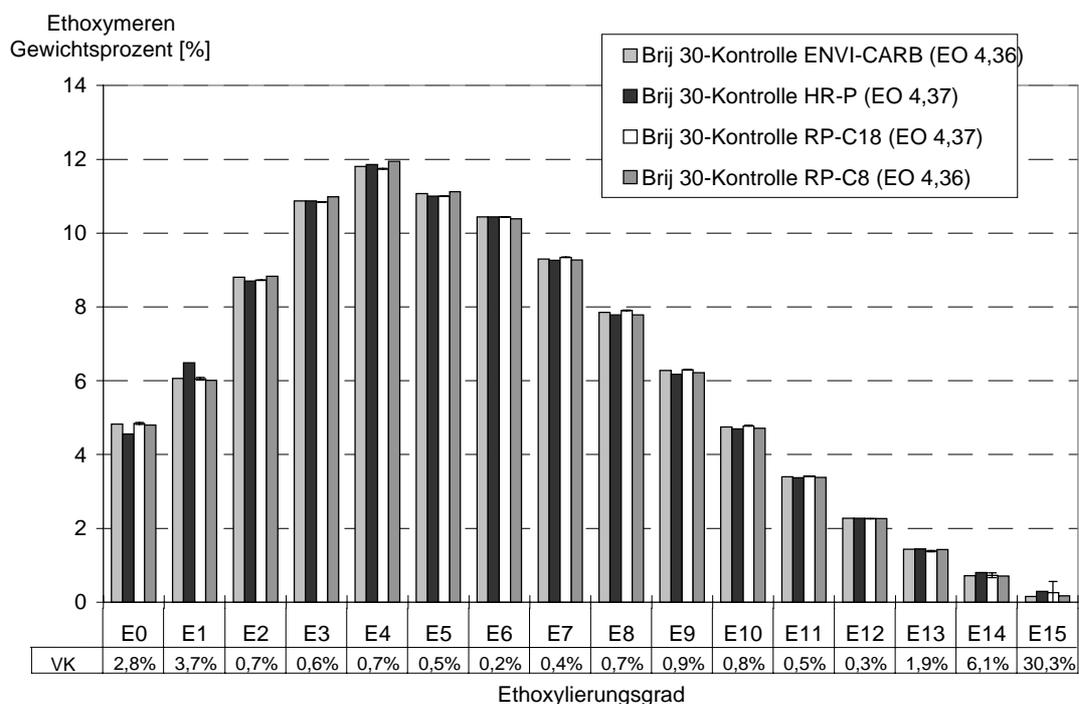


Abbildung 34: Vergleich der prozentualen Ethoxymereverteilung der C12-Ethoxymere von Brij 30 mittels Messung in der HT-GC-AED Kohlenstoff-Spur über einen Zeitraum von 3 Monaten. Parameter siehe Anhang A, Injektion: KAS

Abbildung 34 zeigt vier Vergleichsmessungen der Kontrolle Brij 30 über einen Zeitraum von drei Monaten (1999⁶). Die relativen Standardabweichungen VK dieser Messungen betragen 3,2% für E0 und E1 und im Mittel 0,7% für E3 bis E13. Die höheren Homologen E14 und E15 weisen höhere VK bis 30% auf.

Da die EO-Verteilung relativ ist, kommen absolute Schwankungen durch Ungenauigkeiten bei Pipettierungen oder der Injektion hier nicht zum Tragen. Unterschiedlich langes Stehenlassen oder unterschiedlich lange Trocknungszeiten mit Stickstoff können jedoch z.T. erhebliche Auswirkungen auf das Vorkommen der flüchtigen Verbindungen haben, die hier

⁶ Im Vergleich zu den Messungen aus Abbildung 30 ist hierbei anzumerken, daß sich das Gemisch nach 3 Jahren leicht in seiner Zusammensetzung geändert hat. Siehe hierzu auch Abschnitt 5.1.1

auch höhere VK aufweisen. Die Belastung des GC-Systems mit Matrixbestandteilen, die zu polaren Stellen in Injektor oder Vorsäule führen können, haben eine unmittelbare Auswirkung auf die Verdampfung der polaren hochethoxylierten Verbindungen, die ebenfalls höhere VK aufweisen. Die Auswertung der Alkylkettenverteilung zeigt ähnlich stabile Werte mit maximalen VK von 1,5% (Abbildung 35).

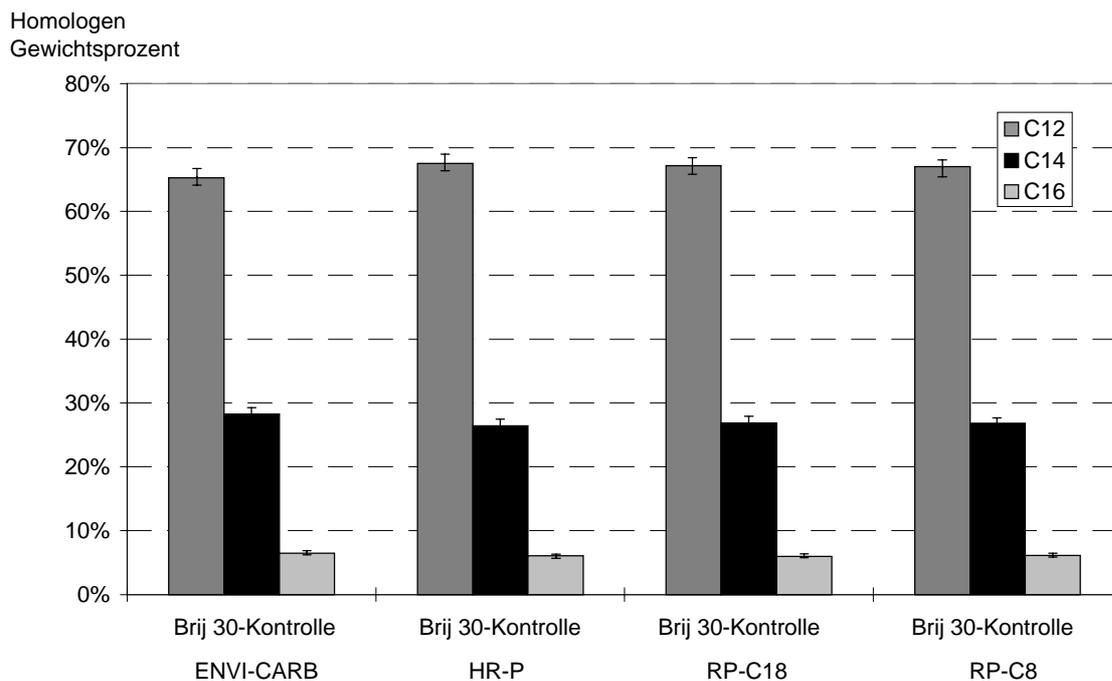


Abbildung 35: Vergleich der prozentualen Alkylkettenverteilung von Brij 30 mittels Messung in der HT-GC-AED Kohlenstoff-Spur über einen Zeitraum von 3 Monaten. Parameter siehe Anhang A, Injektion: KAS

Der absolute ermittelte Gehalt von Brij 30 schwankte bei diesen Messungen zwischen 98% und 116% mit VK von 9,4%. Die universelle Kalibrierung, deren Werte über den gesamten Zeitraum zur Quantifizierung herangezogen wurden, zeigt ihren größten Schwachpunkt bei der Bestimmung von absoluten Mengen. Belastungen des Systems mit Matrix können zu Unterbefunden der polaren Substanzen (hochethoxylierte Komponenten) führen.

4.3.6 Berechnung des mittleren molaren Ethoxyierungsgrades von technischen AEO-Gemischen

Die Quantifizierung der Einzelkomponenten mittels HT-GC-AED wird mittels externer universeller Kalibrierung unter Zuhilfenahme der polynomischen Kurvengleichung durchgeführt, deren Werte gegebenenfalls durch den Wert eines internen Standards korrigiert werden. Die absoluten Massen einer Komponente k_1 innerhalb einer Ethoxymere nreihe k_i mit n Komponenten und ($i = 1$ bis n) ergeben nach Division durch die Summe aller Massen k_i und Multiplikation mit dem Faktor 100 die Massenprozent von k_1 (Gleichung 2). Die Massenprozent geben die EO-Verteilung wieder. Diese Massenprozent von k_1 [g/100g] werden durch Division mit der Molmasse von k_1 [g/mol] in "Molprozent" von k_1 [mol/100g] umgerechnet (Gleichung 3). Der Kehrwert der Summe der Molprozent k_i [mol/g] ergibt wiederum die mittlere Molmasse dieser Ethoxymere nreihe k_i [g/mol] (Gleichung 4). Diese mittlere Molmasse ist quasi gewichtet durch das Vorkommen der einzelnen Ethoxymere k_i . Die Subtraktion der Molmasse des Alkohols von der mittleren Molmasse ergibt die mittlere Molmasse der Ethylenoxidkette. Die mittlere Molmasse der Ethylenoxidkette ergibt, dividiert durch die Molmasse einer Ethylenoxid-Einheit (44,05 g/mol), die mittleren Mole Ethylenoxid für diesen Alkylrest (d.h. die mittlere Anzahl EO-Einheiten pro Alkoholeinheit), die wiederum einheitslos ist (Gleichung 5).

Gleichung 2:
$$\text{Massen\% } k_1 = \frac{\text{Masse } k_1 \times 100\%}{\sum \text{Masse } k_i}$$

Gleichung 3:
$$\text{Mol\% } k_1 = \frac{\text{Massen\% } k_1}{\text{Molmasse } k_1}$$

Gleichung 4:
$$\text{mittlere Molmasse } k_i = \frac{1}{\sum \text{Mol\% } k_i}$$

Gleichung 5:

$$\text{mittlerer molarer EO Grad von } k_i = \frac{\text{mittlere Molmasse } k_i - \text{Molmasse Alkohol}}{44,05}$$

4.4 Identifizierung von Einzelkomponenten durch GC-MS (Bestätigungsanalyse)

4.4.1 Elektronenstoßionisation

Die GC mit massenselektiver Detektion erlaubt die Bestätigung der Peakidentifizierung mittels GC-AED. Im Full Scan Modus ist bereits mittels EI eine Identifizierung anhand der Spektren der ersten Peaks - insbesondere der Alkohole - möglich. Abbildung 36 zeigt ein TIC-Chromatogramm von Brij 30 ohne Derivatisierung. Die Geräteparameter der Messungen sind im Anhang B aufgeführt. Da das vorliegende GC-MS-System nicht für die Hochtemperatur-GC geeignet ist, kommt es selbst bei einer vorherigen Silylierung zu einer starken Diskriminierung der Substanzen ab einem EO-Grad von 4 - 5.

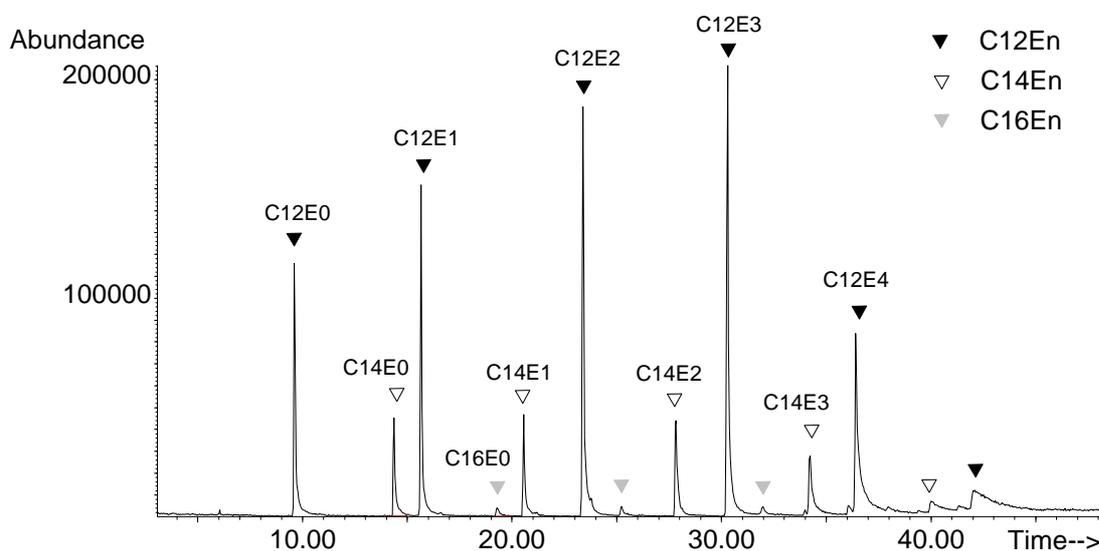


Abbildung 36: TIC-Chromatogramm von Brij 30. Injiziert wurden 2,5 µg. Geräteparameter Anhang B

Am Beispiel von C12E0 ist in Abbildung 37 ein typisches EI-Massenspektrum eines linearen längerkettigen Alkohols dargestellt. Die EI-Spektren der Alkohole weisen die durch Fragmentierungen von Kohlenwasserstoffketten charakteristischen Ionenserien auf, die sich durch CH₂-Gruppen ($\Delta m/z = 14$) unterscheiden. Die Maxima der Fragmente bei den **linearen Alkoholen** liegen bei m/z 41 ($[C_3H_5]^+$), m/z 55 ($[C_4H_7]^+$), m/z 69 ($[C_5H_9]^+$), m/z 83 ($[C_6H_{11}]^+$), m/z 97 ($[C_7H_{13}]^+$), m/z 111 ($[C_8H_{15}]^+$) etc. was der Formel $[C_nH_{2n-1}]^+$ entspricht.

Scan 157 (9.596 min)

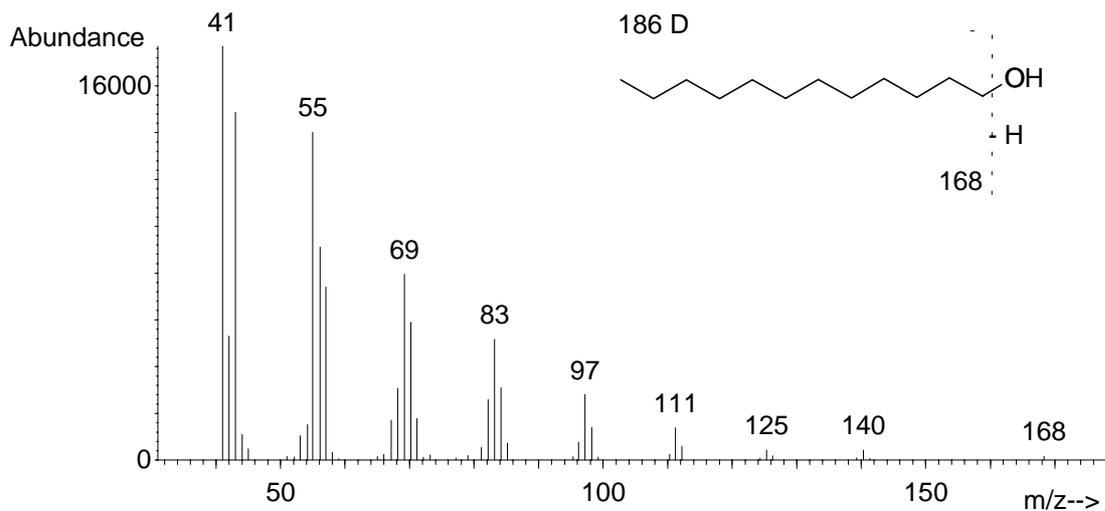


Abbildung 37: EI-Massenspektrum des underivatisierten C12-Alkohols

Nach Scheidegger (1995) kann anhand der Maxima dieser Ionenserien festgestellt werden, ob im Alkylrest eine Verzweigung vorliegt. Laut Abbildung 38 unterscheiden sich α -substituierte Isomere durch die Bruchstelle beim tertiären C-Atom, die sauerstoffhaltige Fragmente mit der Ionenserie $[C_nH_{2n-1}O]^+$ (m/z 43, 57, 71, 85) ergeben.

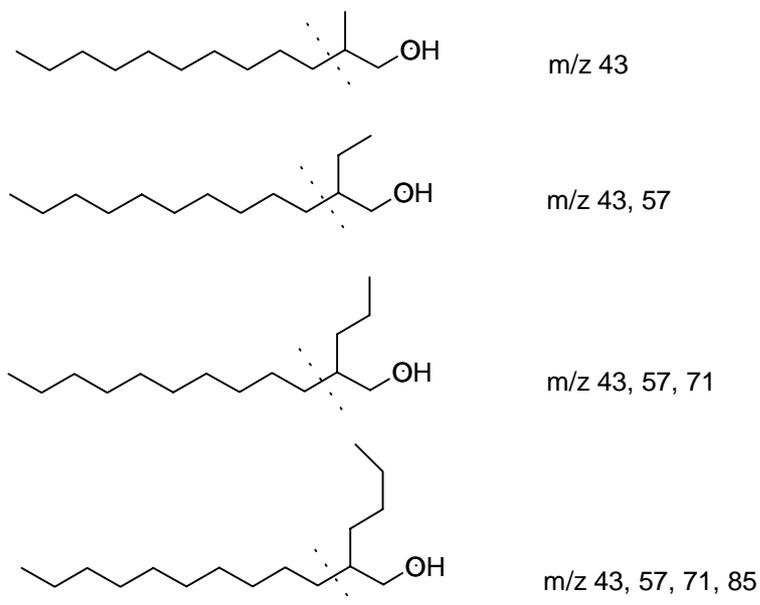


Abbildung 38: Fragmente von verzweigten Alkoholen, die im Spektrum überwiegen. Nach Scheidegger (1995)

Diese Unterscheidung ist aber nur bei den Alkoholen möglich, da eine Ionenserie mit den gleichen Ionen als Maxima auch bei den linearen Alkylethoxylaten zu finden ist. Diese ebenfalls für Alkylreste typische Ionenserie $[C_nH_{2n+1}]^+$ weist nämlich dieselben Massen m/z 43, 57, 71, 85 etc. auf. Weiterhin typisch für underivatisierte AEO (und ethoxylierte Verbindungen) ist das protonierte Polyethylenglycol $m/z [45+n*44]^+ = 45, 89, 133, 177, 221$ etc. wie in Abbildung 39 zu sehen.

Scan 798 (36.407 min)

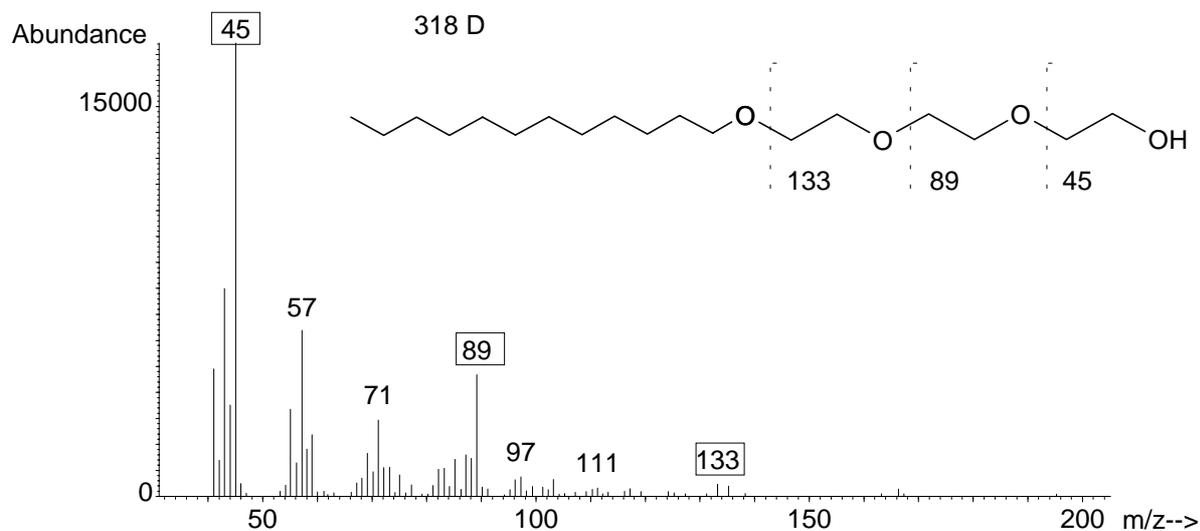


Abbildung 39: EI-Massenspektrum von C12E3, underivatisiert

Abbildung 40 zeigt das TIC eines silylierten Brij 30 Gemisches. Die Derivatisierung mit BSTFA wurde gemäß Abschnitt 4.3.1.1 durchgeführt.

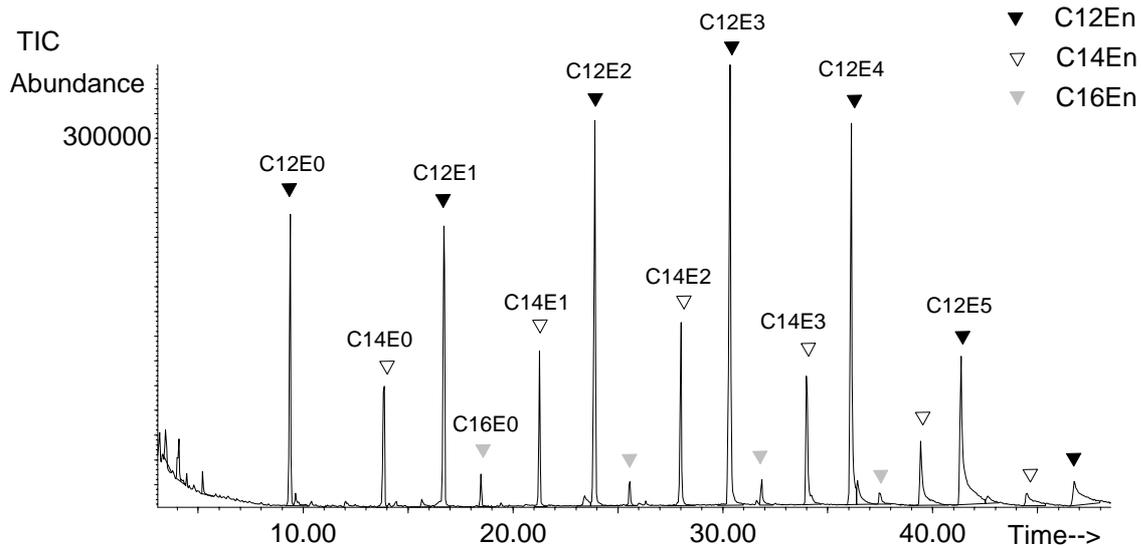


Abbildung 40: TIC-Chromatogramm von 2,5 µg Brij 30, derivatisiert mit BSTFA. Geräteparameter Anhang B

Bei den mit der Trimethylsilylgruppe (73 D) derivatisierten AEO überwiegen im Massenspektrum Fragmente, die diese Gruppe enthalten: $[(\text{CH}_3)_3\text{Si}]^+ = m/z\ 73$, $[(\text{CH}_3)_2\text{SiOH}]^+ = m/z\ 75$, $[(\text{CH}_2)_2\text{OSi}(\text{CH}_3)_3]^+ = m/z\ 103$, $[\text{CH}_2\text{OSi}(\text{CH}_3)_3]^+ = m/z\ 103$. Das typische Massenspektrum eines silylierten Alkohols zeigt Abbildung 41. Bei den Alkoholen wird teilweise das Molekülion gefunden und als sehr intensives Signal das Molekülion nach Abspaltung einer Methylgruppe. Damit können die Kettenlängen im technischen Gemisch mit Hilfe der Spektren der Alkoholderivate eindeutig identifiziert werden.

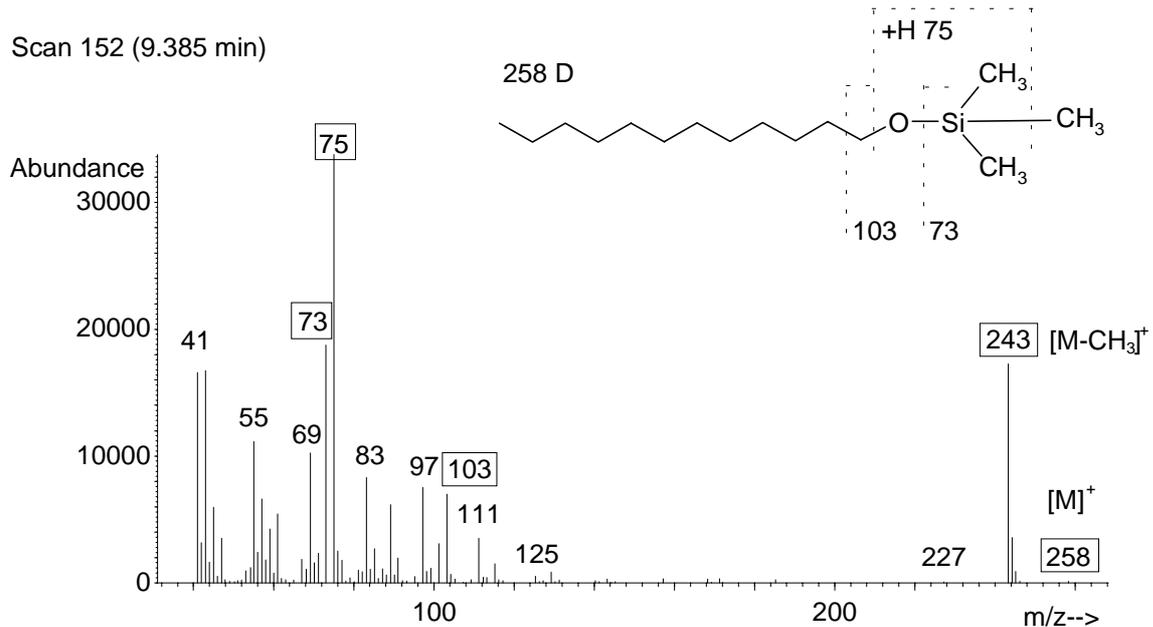


Abbildung 41: EI-Massenspektrum von C12E0, silyliert

Die Intensität des Moleküliions mit einer abgespaltenen Methylgruppe nimmt aber mit zunehmendem EO-Grad ab und die entsprechende Masse ist im Spektrum von C12E3 nicht mehr zu finden (Abbildung 42).

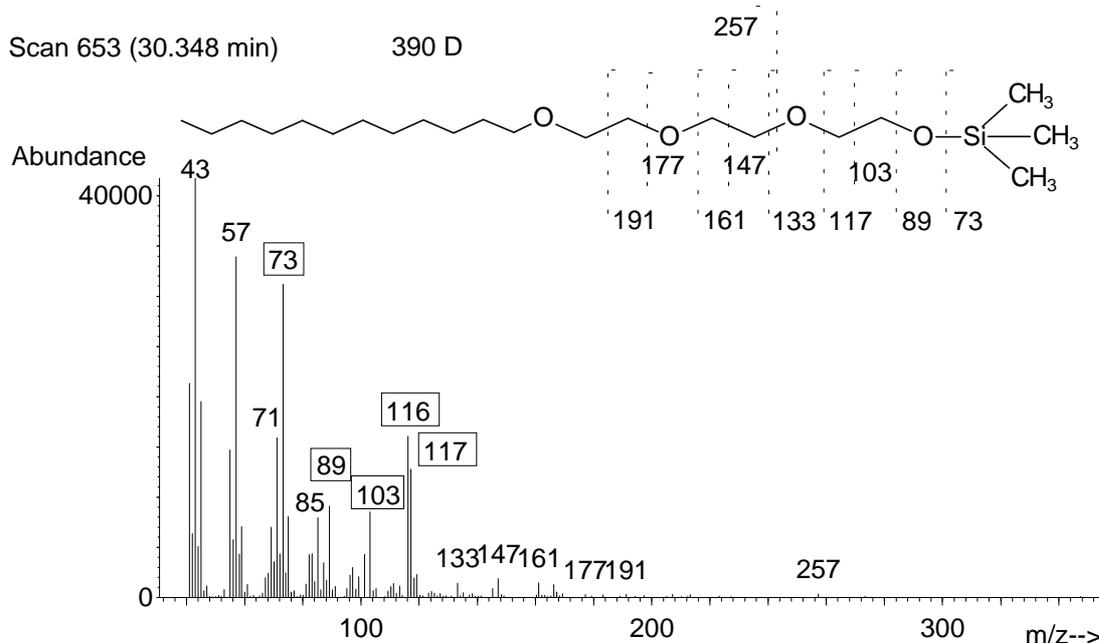


Abbildung 42: EI-Massenspektrum von C12E3, silyliert

4.4.2 Positiv chemische Ionisation

Da die EI zu starken Fragmentierungen unter Verlust des Moleküliions führt, wurde auch unter den mildereren Bedingungen der positiv chemischen Ionisation (PCI) mit Methan als Reaktandgas gemessen. Das TIC-Chromatogramm von Brij 30 in Abbildung 43 verdeutlicht, daß unter diesen Bedingungen die Meßempfindlichkeit durch einen erhöhten Rauschhintergrund wesentlich verschlechtert ist. Durch Optimierung der Parameter kann die Empfindlichkeit unter Umständen verbessert werden. Da die Untersuchungen jedoch nur qualitativer Art waren, wurde darauf verzichtet.

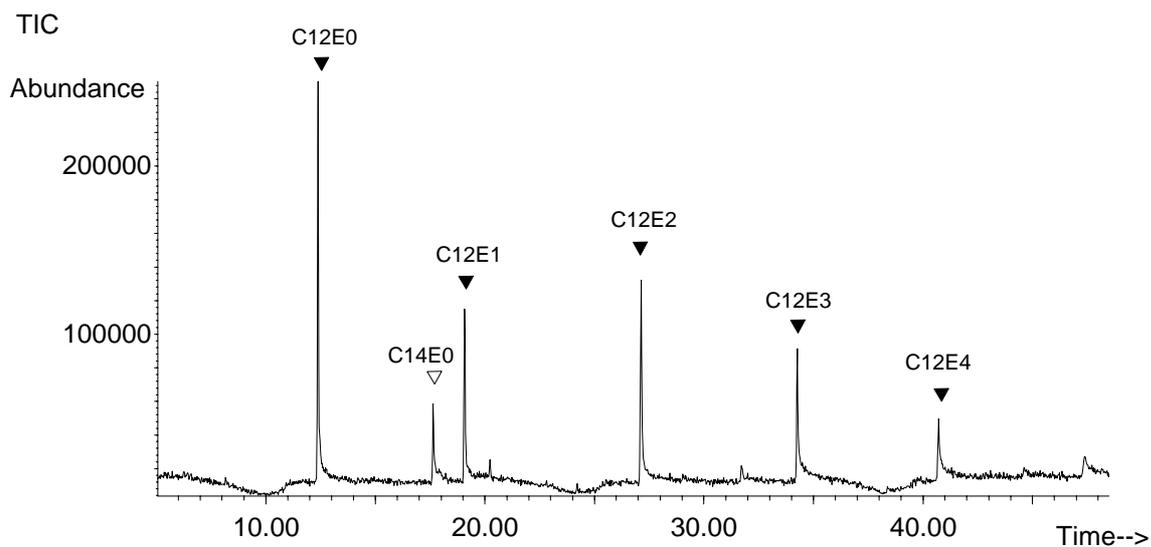


Abbildung 43: TIC-Chromatogramm von 2,5 µg Brij 30, unterivatisiert. Geräteparameter Anhang B

Wie in Abbildung 44 und Abbildung 45 zu sehen, werden die Alkohole durch Hydridabstraktion, die AEO durch Protonierung ionisiert. Letztere besitzen eine höhere Protonenaffinität als die Alkohole, da die Ethergruppen das Proton wesentlich besser stabilisieren können. Diese Pseudomolekülonen $[M-H]^+$ und $[M+H]^+$ werden mit hoher Intensität registriert und fragmentieren deutlich weniger. Wie im TIC-Chromatogramm ist auch im Massenspektrum das Untergrundrauschen bei der PCI deutlich höher.

Scan 302 (12.393 min)

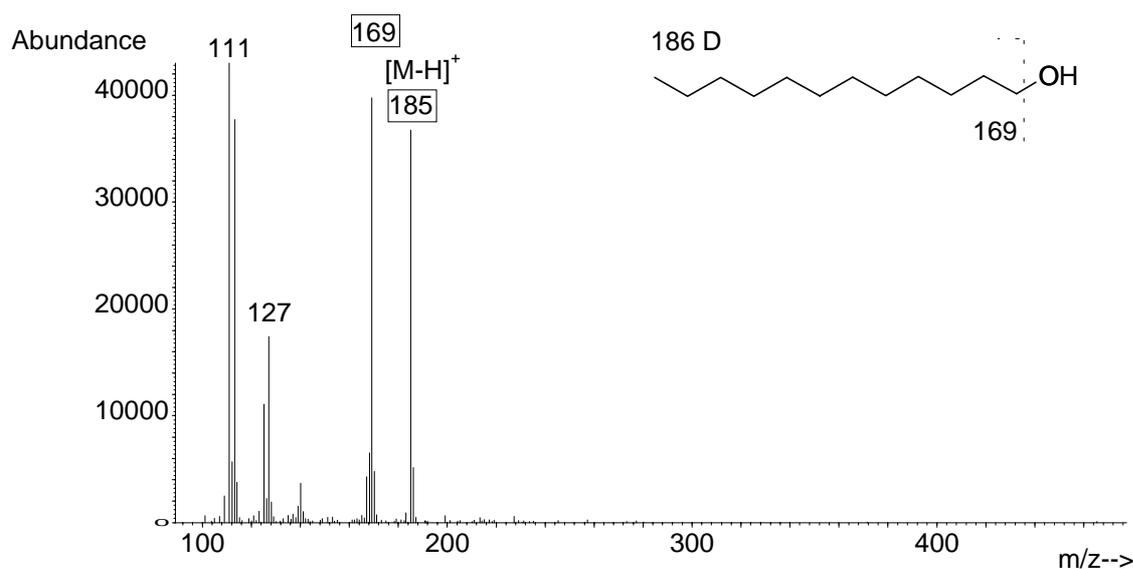


Abbildung 44: PCI-Massenspektrum von C12E0, unterivatisiert

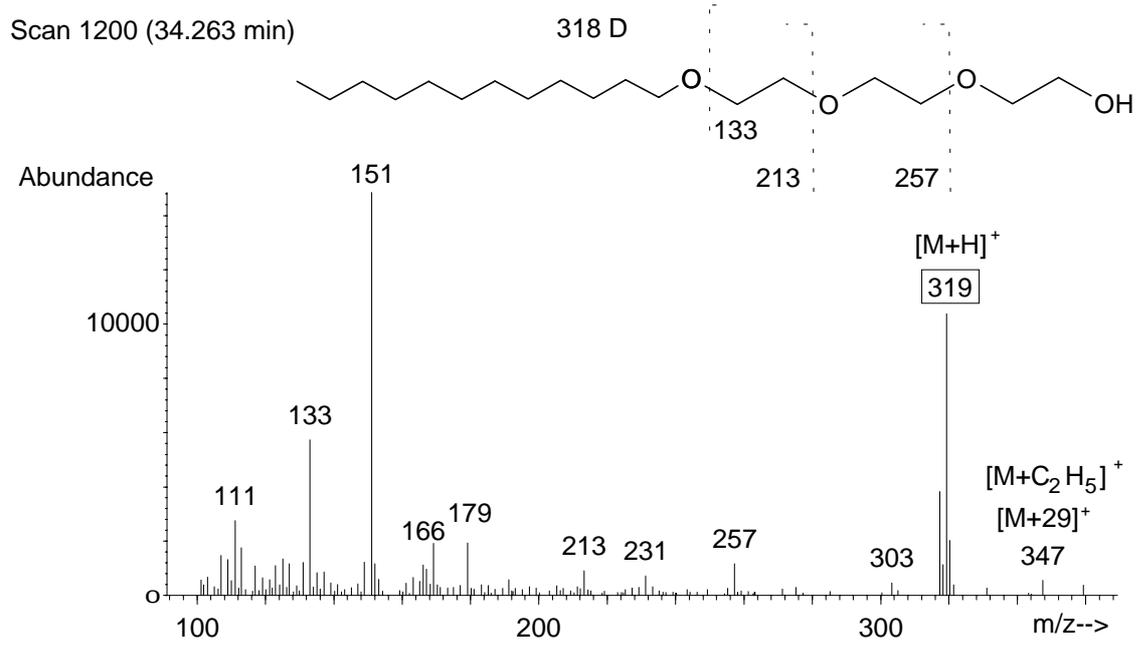


Abbildung 45: PCI-Massenspektrum von C12E3, underivatisiert

4.5 Hochleistungsflüssigchromatographie mit UV-Detektion

Höher ethoxylierte Gemische (ab mittleren molaren EO-Graden von ca. 8) können nicht mehr mittels HT-GC quantifiziert werden, da selbst nach Derivatisierung keine Verdampfbarkeit der hochethoxylierten Komponenten gewährleistet ist. Die Trennung dieser AEO-Gemische erfordert daher eine flüssigchromatographische Methode wie z.B. die HPLC. Naheliegender ist in diesem Fall der Einsatz eines meist vorhandenen UV-Detektors. Wegen des Fehlens einer chromophoren Gruppe im Molekül der AEO ist aber auch hier eine Derivatisierung notwendig, um eine Absorption bei Wellenlängen > 220 nm zu ermöglichen. Wie bereits im Abschnitt 1.2.3.5 erwähnt, ist die UV-Detektion von underivatisierten AEO im niedrigen Wellenlängenbereich ≤ 220 nm zu unspezifisch und anfällig für Störungen. Die gängigen Derivatisierungsreagenzien für UV und Fluoreszenz, die eine wesentlich empfindlichere Detektion erlauben, wurden bereits in Abschnitt 1.2.3.5 vorgestellt. In Vorversuchen wurde festgestellt, daß die Trennung nach dem Ethoxylierungsgrad auf Normalphasen nach der Derivatisierung mit dem fluoreszierenden Reagenz Naphthoylchlorid unmöglich wird. Diese Derivatisierung wirkt offenbar zu stark hydrophobierend auf das Molekül. Da auch kein Fluoreszenzdetektor zur Verfügung stand, war die Wahl eines UV-aktiven Reagenzes mit Einringssystem ausreichend. Von der Derivatisierung mit Phenylisocyanat ist wiederum bekannt, daß die Reaktion mit AEO zu einem Carbamat nach 2 h noch nicht komplett ist (Nitschke und Huber, 1993). Gute Erfahrungen konnten dagegen mit der Umsetzung mit Säurechloriden gemacht werden, weshalb das Reagenz 3,5-Dinitrobenzoylchlorid gewählt wurde, welches mit seinen zwei Nitrogruppen eine etwas polarere Verbindung ergibt (Abbildung 46).

4.5.1 Derivatisierung mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid

Der Einsatz von 3,5-Dinitrobenzoylchlorid (DNBC) zur Derivatisierung von AEO wurde bereits mehrfach beschrieben. Nach Nozawa und Ohnuma (1980) wurde die Derivatisierung in Pyridin durchgeführt. Diese Methode beinhaltet aber keine Aufarbeitung zur Abtrennung des überschüssigen Reagenzes. Es wurde festgestellt, daß bei der Reaktion ein Salz ausfällt das vermutlich von Pyridin und der bei der Reaktion freiwerdenden Salzsäure gebildet wird. Damit wird es unmöglich, das Pyridin durch Trocknen mit Stickstoff abzutrennen. Sun et al. (1997) verzichteten auf ein Lösungsmittel und führten die Reaktion nach inniger Vermischung von AEO und DNBC und 10 minütigem Erhitzen auf 60°C durch. Da diese

Methode bei hochpastösen höherethoxylierten AEO-Gemischen (z.B. Brij 76) unpraktisch in der Handhabung wird und sich das inhomogene Gemisch auch nach 10 Minuten nicht verflüssigt, erwies sich diese Methode als ungeeignet. Auch die Methode von Desbène et al. (1989), die die Reaktion ohne weitere Aufarbeitung in Benzol unter Rückfluß ausführten, wurde aufgrund des gewählten Lösungsmittels als nicht geeignet befunden. Eine geeignete Prozedur wurde bei Brüscheiler (1977) gefunden, der die Reaktion in Tetrahydrofuran (THF) und eine Abtrennung des überschüssigen Reagenzes durchführte. Brüscheiler verwendete jedoch unabhängig von der mittleren molaren Masse des Gemisches gleiche Anteile 0,25 g DNBC und 0,25 g AEO-Gemisch. Besser ist es stattdessen zur Charakterisierung von technischen AEO-Gemischen einen 25%igen molaren Überschuß von DNBC einzusetzen, den Sun et al. (1997) als optimal einschätzten. Bei Proben von Wasch- und Reinigungsmitteln, die einer Aufarbeitung bedurften, wurde im Zweifelsfall (unbekannte Konzentration) ein höherer Überschuß eingesetzt. Die so modifizierte Prozedur von Brüscheiler wurde zudem auf den Mikromaßstab angepaßt.

4.5.1.1 Durchführung

0,13 mmol technisches AEO-Gemisch werden eingewogen oder per SPE aufgearbeitet, mit 1 mL frisch hergestellter 0,04 g/mL DNBC-Lösung in THF versetzt, vermischt und das Gemisch im 4 mL-Probenfläschchen 1 h im Wasserbad auf 60°C erwärmt. Das Reaktionsgemisch wird dann mit 0,75 mL Diethylether verdünnt und zweimal mit je 1 mL ethergesättigter 5%iger wäßriger Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die Etherlösung wird anschließend mit Natriumsulfat getrocknet, mit Stickstoff zur Trockne eingedampft und sofort in 500 µL HPLC-Eluent aufgenommen. Vor der Injektion wird die Probe membranfiltriert. Verwendet werden dazu Einmalfilter mit Polyamidmembran der Porenweite 0,2 µm (Muder & Wochele, Berlin).

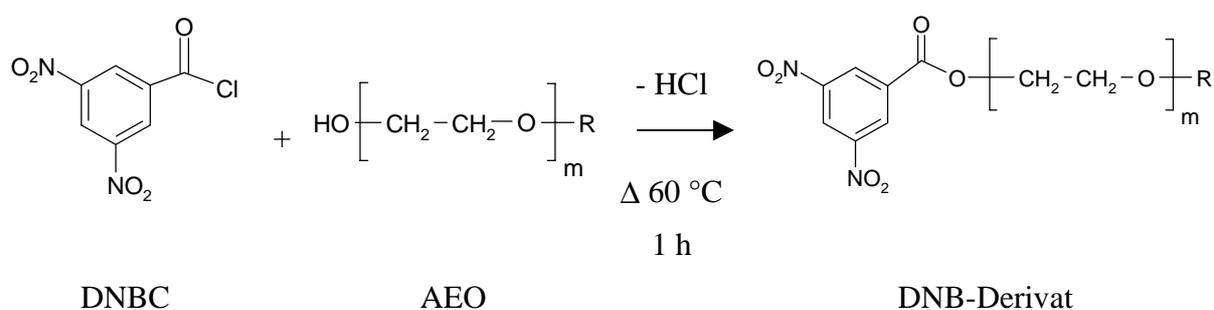


Abbildung 46: Derivatisierung mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid

Die UV-Spektren der DNB-Derivate der AEO weisen im Bereich von 200 bis 300 nm kein Maximum, sondern eine abfallende Flanke auf. Die beste Spezifität wurde nach Brüscheiler (1977) und eigenen Messungen bei Wellenlängen von 254 nm gefunden.

4.5.2 Trennung von AEO an Umkehrphasen

An der RP-C18-Phase gelingt nach DNBC-Derivatisierung der AEO und Einsatz eines Acetonitril-Wasser-Gradienten die Auftrennung sowohl nach der Länge des Alkylrestes als auch nach dem Ethoxylierungsgrad. Die Homologen mit höchstem Ethoxylierungsgrad und kürzester Länge der Alkylkette (größter Polarität) eluieren zuerst und der Alkohol mit der längsten Alkylkette des Gemisches wird am längsten retardiert. Die Elutionsreihenfolge wurde durch Identifizierung von Peaks nach Zudotieren von Reinsubstanzen festgelegt.

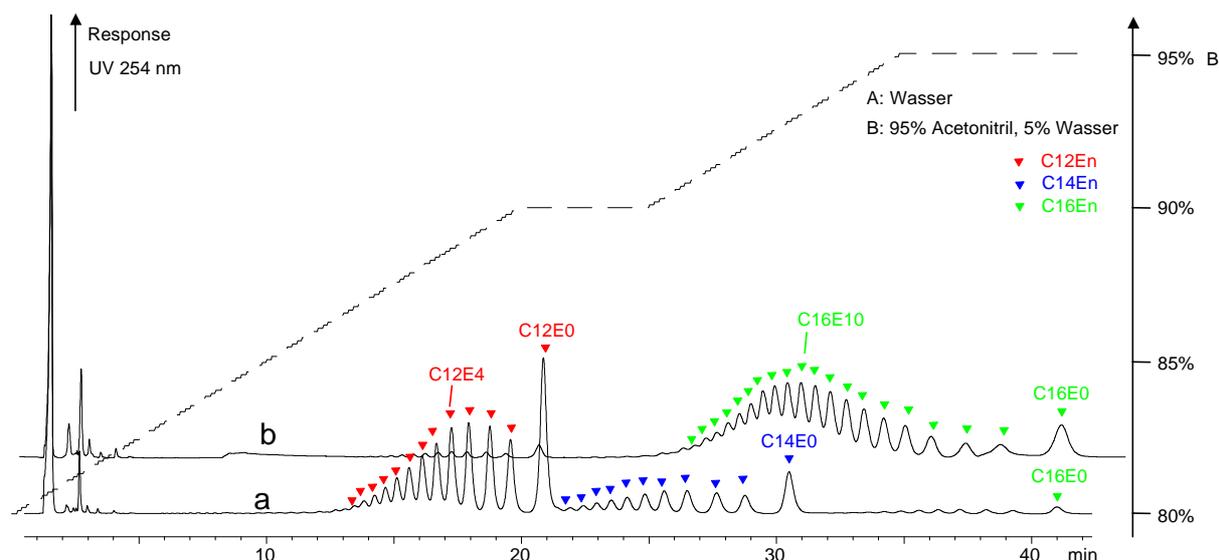


Abbildung 47: RP-C18-HPLC der mit DNBC derivatisierten Gemische Brij 30 (a) und Brij 56 (b). Parameter siehe Anhang C

Diese Methode eignet sich jedoch nur bedingt für AEO-Gemische mit mehreren Alkylresten, da es bei komplexen Gemischen schnell zu Peaküberlappungen kommt. Abbildung 47 zeigt die RP-HPLC-Chromatogramme von Brij 30 (a) einem niedrig ethoxylierten Gemisch (EO = 4) mit drei geradkettigen Alkylresten C12, C14 und C16 und Brij 56 (b), einem hochethoxylierten Gemisch (EO = 10) mit einem Alkylrest C16. Bereits bei Brij 30 treten Peaküberlappungen der hochethoxylierten C14-Komponenten mit dem C12-Alkohol auf, die

durch eine Änderung des Gradienten nicht verbessert werden konnten. Gemische mit höheren EO-Graden und mehreren Alkylresten können nicht mehr aufgelöst werden. Auch die Komponenten des technischen Gemisches Genapol UDD 079 mit geraden und ungeraden Alkylkettenlängen (C9, C10, und C11) und niedrigem EO-Grad = 6 können nicht voneinander getrennt werden, da die Komponenten, die sich nur durch eine Methylengruppe unterscheiden annähernd zeitgleich eluieren, was zu Peaküberlappungen führt.

Ist die Komplexität des AEO-Gemisches zu hoch, kann auf Umkehrphasen die Trennung nach dem EO-Grad unterdrückt werden. Die Umkehrphasen ermöglichen bei anderer Laufmittelwahl (Methanol statt Acetonitril) die alleinige Trennung der AEO nach dem hydrophoben Teil, d.h. der Länge des Alkylrestes (in der Literatur als "homolog-by-homolog separation" bezeichnet). Dann eluieren alle Komponenten mit dem gleichen Alkylrest unter einem Peak, unabhängig vom EO-Grad. Mit DNBC-Derivatisierung ist dies aber nicht möglich, da auch bei Einsatz des Laufmittels Methanol stets eine Antrennung nach dem EO-Grad erfolgte. Bessere Ergebnisse wurden hier mit Phenylisocyanat-Derivatisierung erreicht, welche aber wie oben beschrieben, den Nachteil hat, daß die Reaktion zu keinem Abschluß kommt. Eine Optimierung der RP-HPLC mit „homolog-by-homolog-separation“ wurde nicht durchgeführt, da sich die Auswertung auf die Ermittlung der Alkylkettenverteilung beschränkt. Die Alkylkettenverteilung kann alternativ mit der Methode der Bromwasserstoffspaltung (Abschnitt 4.6) bestimmt werden.

4.5.3 Trennung von AEO an Normalphasen

Mit der Kieselgel-Normalphase oder der robusteren modifizierten Normalphase (Kieselgel mit Substituenten wie 3-Aminopropyl [Amino], 3-Cyanopropyl [CN] oder 2,3-Dihydroxypropyl [Diol]) gelingt die Auftrennung allein nach dem hydrophilen Teil, also nach der Länge der Ethoxylatkette ("ethoxymer-by-ethoxymer separation"). Dabei coeluieren alle Komponenten mit dem gleichen EO-Grad, unabhängig von der Länge des Alkylrestes. Die Erfassung der Summe aller Komponenten mit gleichem Alkylrest kann aber nur unter der Annahme gemacht werden, daß alle Edukte zum gleichen Anteil mit dem Ethylenoxid reagieren und alle Homologen mit unterschiedlichen Alkylresten die gleiche EO-Verteilung aufweisen. Dies wurde in der Praxis bestätigt (Krusche, 1990), kann aber nicht vorausgesetzt werden, wenn das Gemisch nachträglich, wie z.B. durch biologischen Abbau verändert wurde.

Der Normalphasen-HPLC wurde eine Applikationsvorschrift der Fa. Supelco (1994) zur Trennung von Alkylphenoethoxylaten mittels Normalphasen-HPLC zugrunde gelegt.

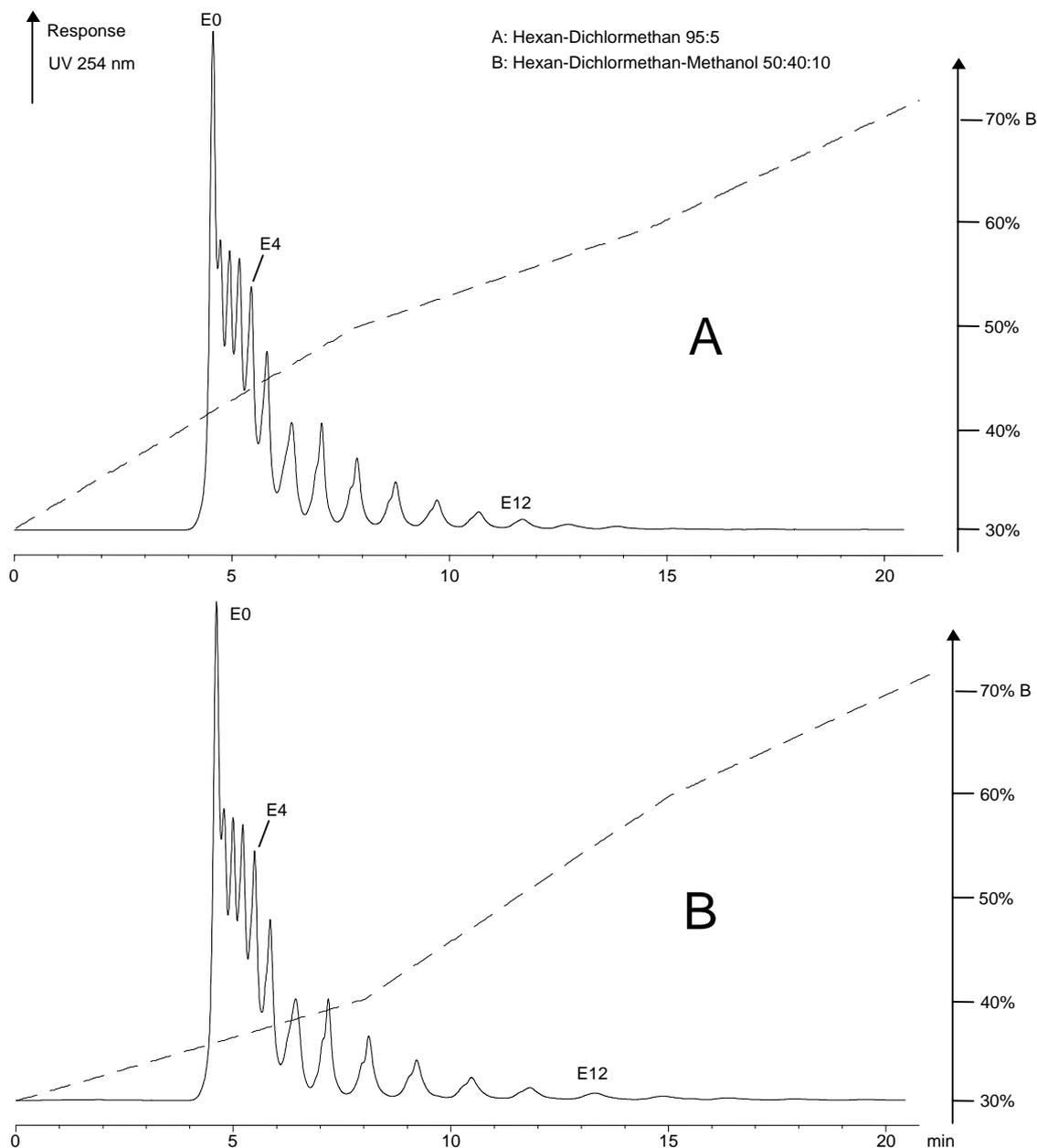


Abbildung 48: NP-NH₂-HPLC von Brij 30, mit DNBC derivatisiert. A: Gradient nach Supelco (1994), B: abgeflachter Gradient. Parameter siehe Anhang C

Abbildung 48 A zeigt die Trennung von mit DNBC derivatisierten Brij 30 an einer Aminosäule. Eine leichte Antrennung der Ethoxymere mit gleichem Alkylrest C12, C14 und C16 ist ab EO-Grad 6 vorhanden, wie an den Schultern der Peaks erkennbar. Diese Antrennung nach der Kettenlänge des Alkylrestes ist bei einer Diol-Säule noch stärker ausgeprägt. Da die

Alkohole und niedrig ethoxylierten Komponenten praktisch zur Totzeit eluieren, und damit wenig Wechselwirkungen mit der Phase erfahren, zeigt die Modifizierung, d.h. Abflachung des Gradienten (Abbildung 48 B) praktisch keine Auswirkung auf die Trennung der früh eluierenden Verbindungen. Die Elution der spät eluierenden Komponenten wird stattdessen noch mehr verzögert, so daß sich der flachere Gradient nachteilig auswirkt.

Trotz der schlechten Auflösung der Trennung der ersten Komponenten ergibt die Integration und Auswertung sehr gut übereinstimmende Ergebnisse mit der RP-HPLC und der HT-GC-AED (Abbildung 54). In Abbildung 49 und Abbildung 50 sind die NP-NH₂-HPLC-Trennungen der mit DNBC derivatisierten höherethoxylierten Gemische Brij 56 und Brij 76 dargestellt. Diese höherethoxylierten Gemische sind nach DNBC-Derivatisierung nicht im Start-Eluenten (30% B = Hexan-Dichlormethan-Methanol 50:40:10) löslich, sondern erfordern 40% B. Die Injektion der Probe in 40% B führt zu einer verschlechterten Trennung von Alkohol und der einfach ethoxylierten Verbindung. Letztere wird nur als Schulter abgetrennt, welche sich aber noch integrieren läßt. Bessere Trennungen (vor allem des Alkohols und der niedrig ethoxylierten Komponenten) lassen sich hier mit der RP-HPLC erreichen, da in diesen Gemischen nur ein Alkylrest vorliegt (Abbildung 48). Ein weiterer Vorteil der RP-HPLC ist, daß Reagenzüberschüsse oder Matrixbestandteile, die mit der Totzeit eluieren, hier nicht zu Überlagerungen mit den Analyten führen können.

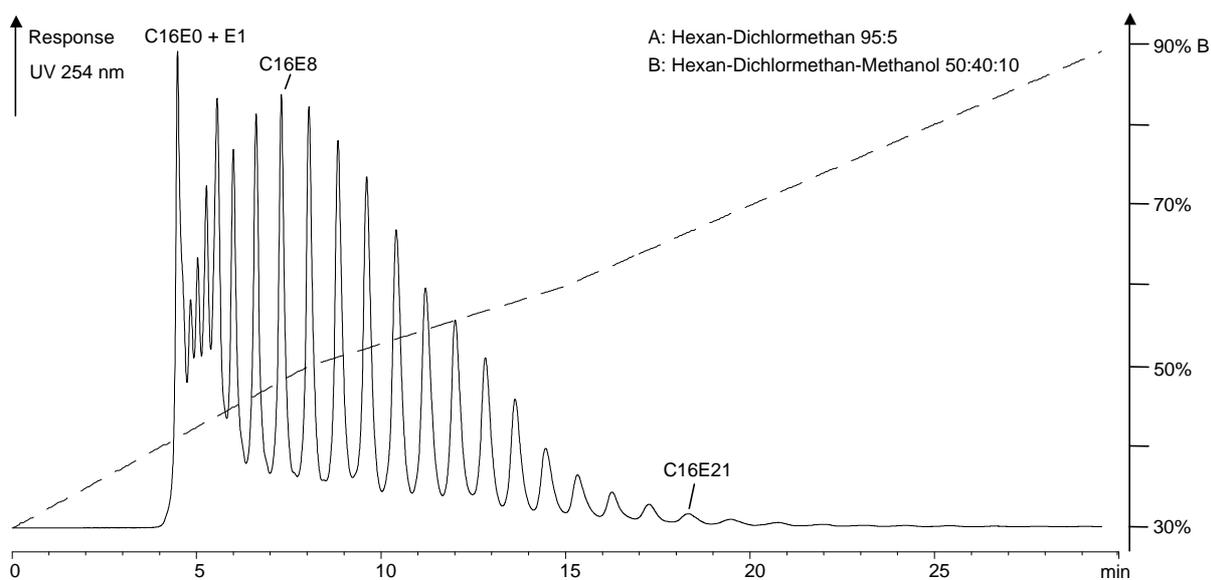


Abbildung 49: NP-NH₂-HPLC von Brij 56, mit DNBC derivatisiert. Parameter siehe Anhang C

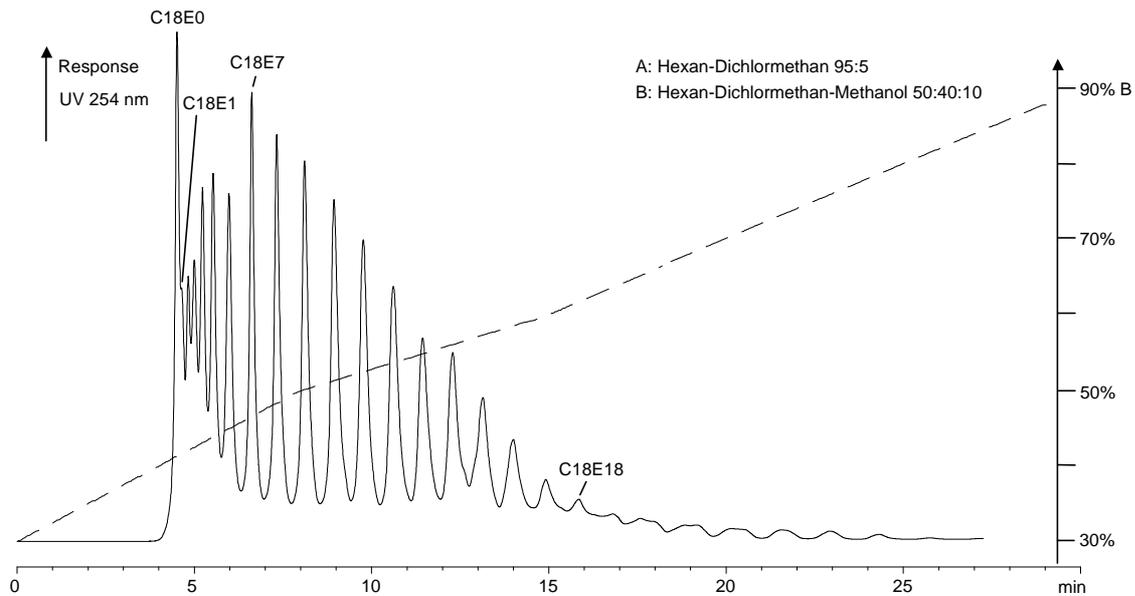


Abbildung 50: NP-NH₂-HPLC von Brij 76, mit DNBC derivatisiert. Parameter siehe Anhang C

4.5.4 Quantifizierung von Einzelkomponenten

Bei der Derivatisierung mit DNBC wird über die Reaktion mit der endständigen Hydroxylgruppe **eine** chromophore Gruppe an jedes AEO-Molekül gebunden (Abbildung 46). Bei einer Wellenlänge von 254 nm kann die Absorption des restlichen Teils des Moleküls vernachlässigt werden. Unter der Voraussetzung, daß die Ausbeute der Reaktion mit DNBC bei allen AEO-Molekülen gleich ist, kann bei der UV-Detektion von einem molaren Response aller derivatisierten AEO ausgegangen werden.

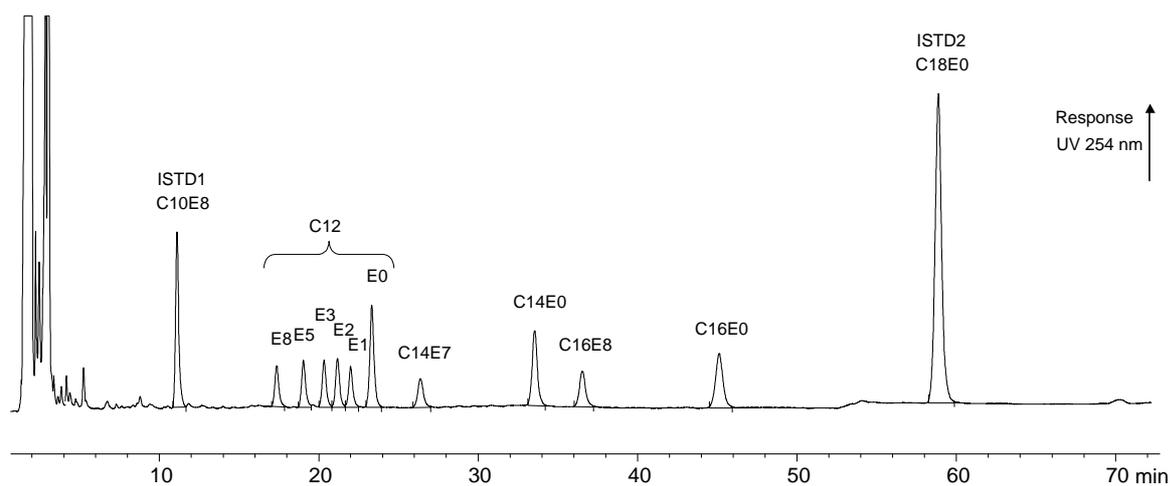


Abbildung 51: RP-HPLC von mit DNBC derivatisierten Standardsubstanzen (alle Komponenten ca. 0,0026 μmol , ISTD1 C10E8 0,0097 μmol , ISTD2 C18E0 0,018 μmol). Parameter siehe Anhang C

Zur Überprüfung wurden mehrere Reinsubstanzen gemäß der Vorschrift mit DNBC derivatisiert und - da sie sowohl nach EO-Grad als auch nach der Alkylkettenlänge getrennt werden sollten - einer RP-Chromatographie unterworfen (Abbildung 51). Die Berechnung der molaren Responsefaktoren (Abbildung 52) zeigte, daß die derivatisierten Alkohole etwa doppelt so hohe Responsefaktoren aufweisen, wie die derivatisierten AEO. Dies wäre mit einer höheren Umsatzrate bei der Derivatisierung erklärbar und war in allen Versuchen reproduzierbar. Bei dem Vergleich der Responsefaktoren der Alkohole und AEO untereinander konnte keine Abhängigkeit des EO-Grades oder der Alkylkettenlänge festgestellt werden. Die Variationskoeffizienten (VK) betragen ca. 15%. In Ermangelung aller AEO-Standards in Form von Reinsubstanzen wurde zur Quantifizierung eine externe universelle Kalibrierung vorgenommen. Dabei wurde den Standardsubstanzen und Proben die gleiche Menge interner Standard ISTD1 C10E8 (Elution am Anfang des Chromatogramms) und/oder ISTD2 C18E0 (Elution am Ende des Chromatogramms) zugesetzt. Bei den matrixreichen Proben der Haut- und Haarreinigungsmittel konnte teilweise nur mit ISTD2 ausgewertet werden, da im Bereich des ISTD1 Matrix interferierte. Bei den Waschmitteln war wiederum C18E0 enthalten, so daß hier kein ISTD2 zugesetzt und nur mit ISTD1 C10E8 ausgewertet werden konnte. Die Flächen der derivatisierten Standards und Analyten wurden durch die Fläche des ISTD geteilt und damit normiert, um Schwankungen der Werte durch die Aufarbeitung auszugleichen. Die Kalibrierung wurde für jede Meßreihe wiederholt.

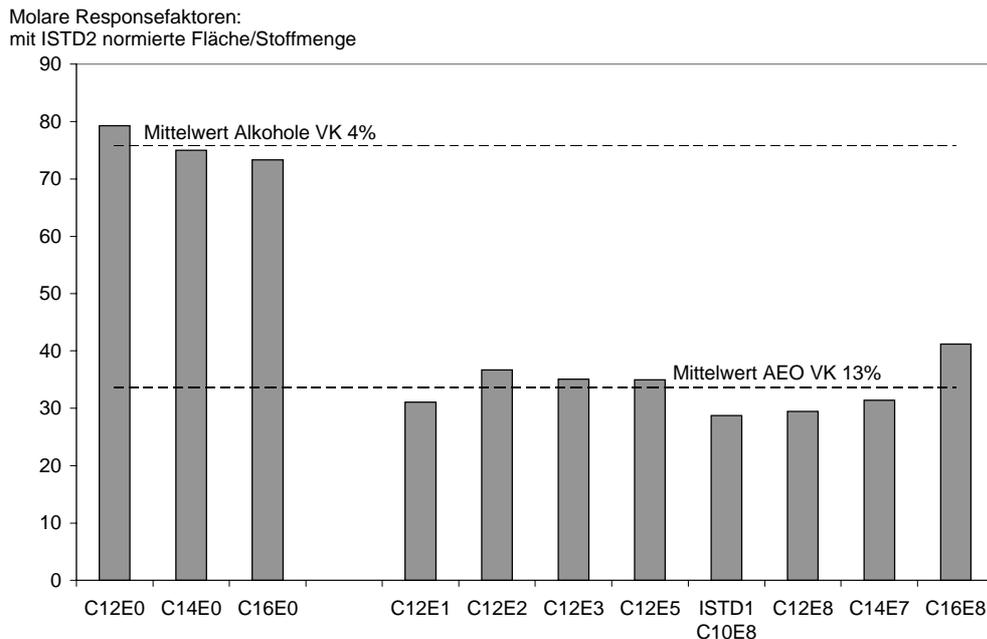


Abbildung 52: Molare Responsefaktoren der derivatisierten Standardsubstanzen aus der RP-HPLC-Trennung von Abbildung 51, Flächen mit dem ISTD 2 normiert

auf ISTD 2 C18E0
normierter Response

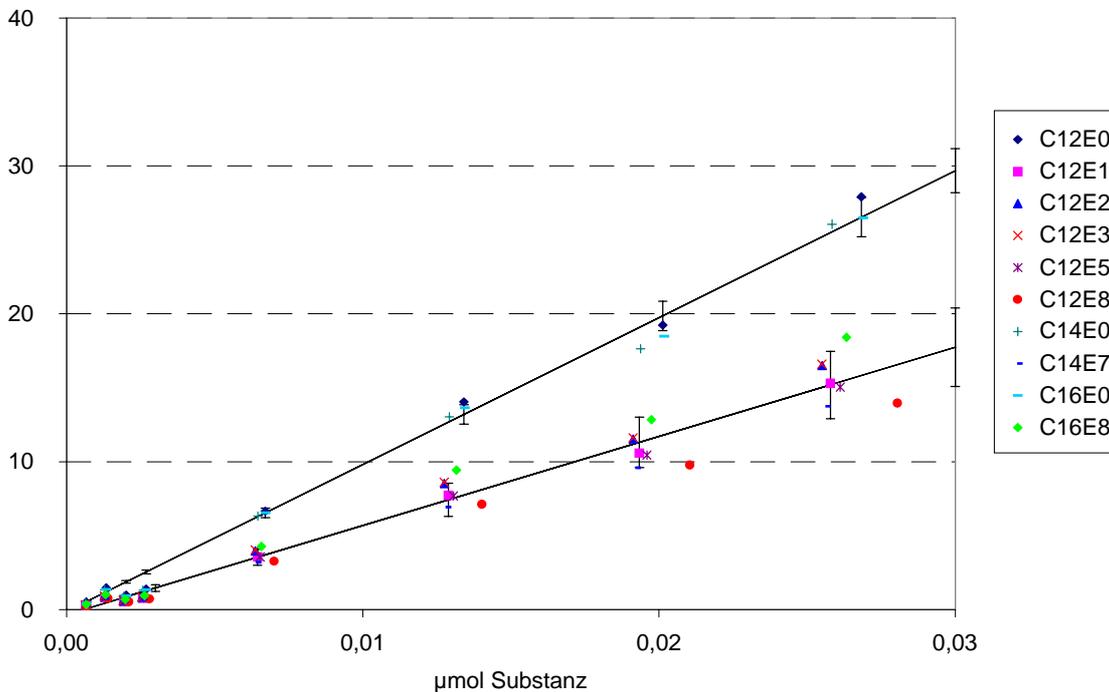


Abbildung 53: Universelle Kalibriergeraden für mit DNBC derivatisierte Alkohole und AEO. Eingezeichnete VK betragen 5% (Alkohole) bzw. 15% (AEO)

Die HPLC-Messungen wurden durchgeführt um einerseits hochethoxylierte AEO-Gemische zu charakterisieren und andererseits mit einer unabhängigen chromatographischen Methode die Ergebnisse der universellen Kalibrierung mittels HT-GC-AED zu überprüfen. Die Ergebnisse der Alkylkettenverteilung konnten bereits mit der Bromwasserstoffsplaltung bestätigt werden. Die Ergebnisse der Ethoxymereverteilung können mittels NP-HPLC und in beschränktem Maß auch mittels RP-HPLC überprüft werden.

Eine vereinfachte Bestimmung der Ethoxymereverteilung der NP-Chromatogramme wurde mit relativen Responsefaktoren durchgeführt. Der Responsefaktor für AEO-Derivate wurde 1 gesetzt, der Responsefaktor von Alkoholderivaten 2 gesetzt und eine relative Auswertung der EO-Verteilung durchgeführt. Absolute Quantifizierungen machen hier keinen Sinn, da unter einem Peak mehrere Alkylreste eluieren.

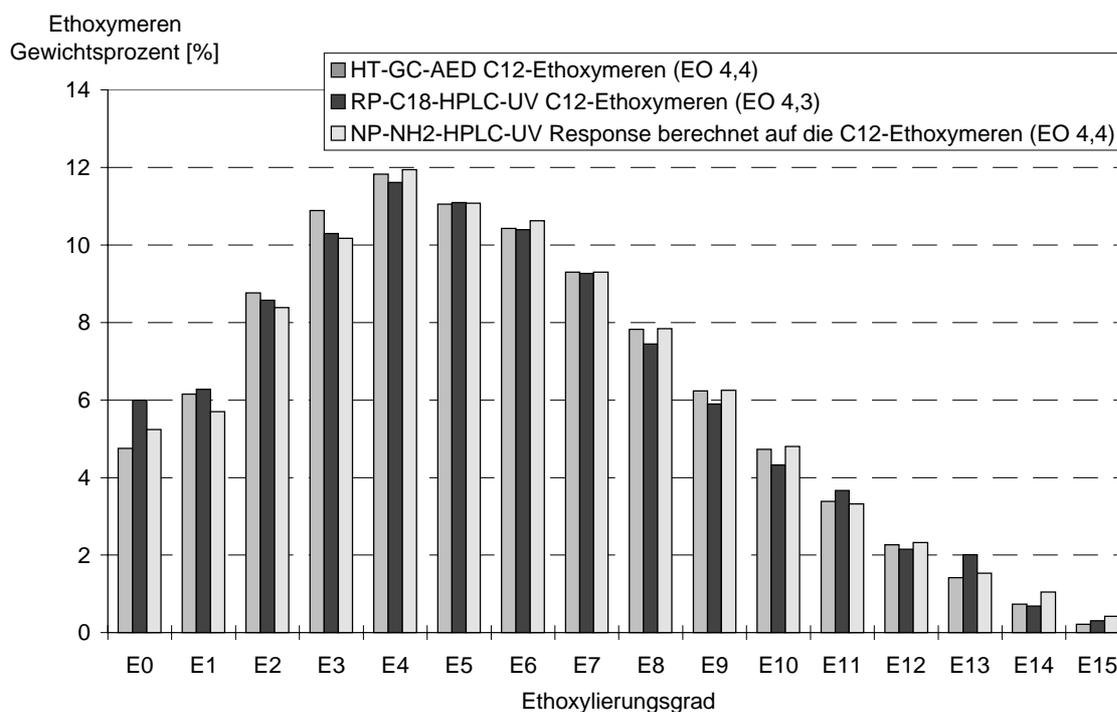


Abbildung 54: Prozentuale Ethoxymereverteilung von Brij 30. Parameter der GC-AED-Messung siehe Anhang A, HPLC-Messungen siehe Anhang C

Abbildung 54 zeigt einen Vergleich der erhaltenen Ethoxymereverteilungen von Brij 30 mittels HT-GC-AED und beiden HPLC-Methoden. Bei der NP-HPLC kann wie oben beschrieben nur die Summe aller Ethoxymere mit gleichem Alkylrest erfaßt werden. Die Berechnung des mittleren molaren EO-Grades erfolgte hier ebenfalls mit den Massen der

C12-Ethoxymere, die mit 70% den Hauptanteil ausmachen. Voraussetzung hierfür ist, daß die Alkylkettenverteilung des Gemisches bekannt ist.

Die Auswertung der Alkylkettenverteilung mittels der RP-HPLC ist durch die Peaküberlappungen mit einem Fehler behaftet. Die Auswertung des RP-Chromatogramms von Brij 30 in Abbildung 47 ergibt 71,45% C12; 23,45% C14 und 5,09% C16. Da die C14-Homologen von C12-Homologen überlagert werden, ergeben sich bei C12 leichte Über- und bei C14 leichte Unterbefunde. C16 wird ebenfalls mit einem Unterbefund registriert, da hier trotz Einsatz von bereits 0,5 mg Gemisch bei den C16-Homologen schnell die Nachweisgrenze erreicht ist, zumal bei hohen Retentionszeiten (≥ 40 min) die Peakverbreiterung stark zunimmt.

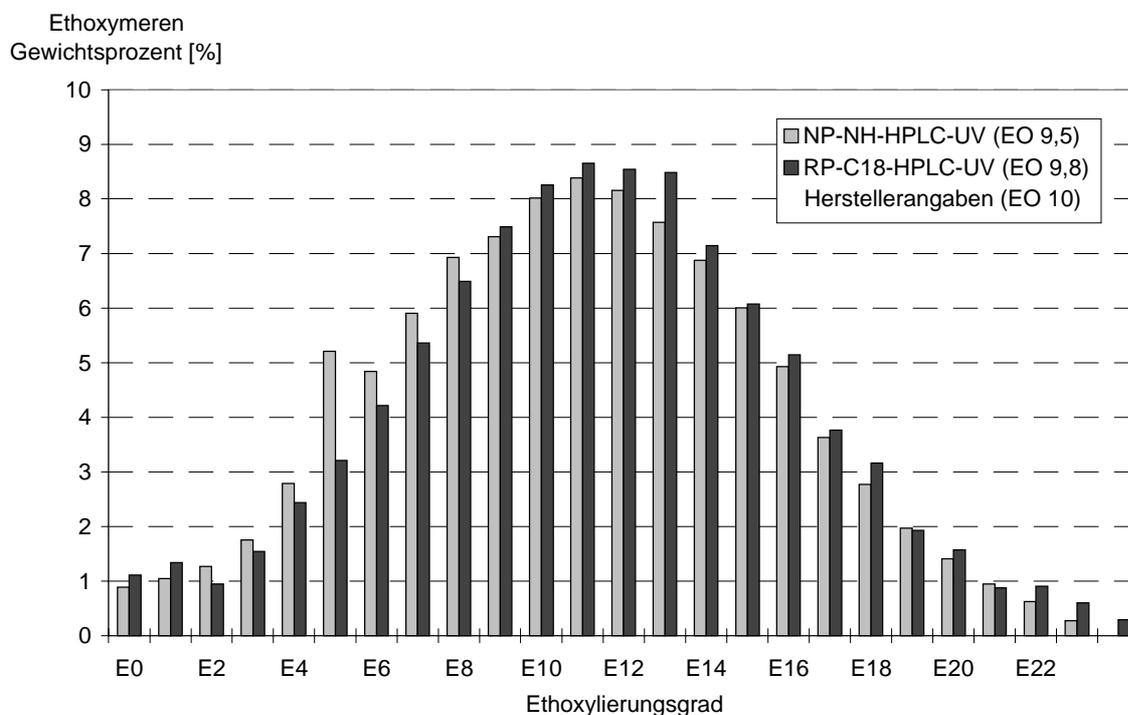


Abbildung 55: Prozentuale Ethoxymereverteilung von Brij 56. Parameter der HPLC-Messungen siehe Anhang C

Abbildung 55 zeigt die Auswertung der EO-Verteilung der gezeigten RP- und NP-HPLC-Chromatogramme von Brij 56 (Abbildung 47 und Abbildung 49). Unter der Voraussetzung, daß im Gemisch nur ein Alkylrest (C16) vorhanden ist, bietet die RP-Phase aufgrund ihrer Trennungseigenschaften die besseren Ergebnisse.

Es wurde festgestellt, daß die Retentionszeiten der AEO (derivatisiert oder underivatisiert) in Probensequenzen bei einem Einsatz von mehrfach gereinigtem HPLC-Wasser als Laufmittel nicht stabil sind. Aus bisher nicht geklärten Ursachen kommt es während einer Sequenz generell zu einem Drift in Richtung kürzere Retentionszeiten. Diese Retentionszeitenverschiebung kann durch den Einsatz weniger stark entsalzten Wassers (einfache Reinigung) oder pH-gepufferter Laufmittel unterdrückt werden. Eine Erklärung für diesen Effekt wären Phasenveränderungen infolge Ionenaustauscheraktivitäten. AEO haben die Eigenschaft stabile Kationenaddukte zu bilden. Sie könnten quasi als Ionenaustauscher wirken und an der Phase gebundene Kationen entfernen, wodurch sich deren Eigenschaften verändern. Durch stark entsalztes Laufmittel werden dann keine Salze nachgeliefert. Dieser Effekt trat trotz des Einsatzes von Umkehrphasen auf, deren freie Silanolgruppen „endcapped“ waren.

Die Phasenveränderung ließe sich durch ein Kollabieren der herausstehenden C18-Alkylketten der Phase erklären. Dadurch geht der "brush-type-Charakter" der Phase verloren und hydrophobe Wechselwirkungen mit den Analyten werden verhindert. Durch die Salze oder Puffersubstanzen bleibt die Phase dagegen für das Wasser benetzbar. Im Falle der Phasenkollabierung kann eine Säule mit "hydrophilem Endcapping" Abhilfe schaffen. Bei diesem Verfahren wird eine polare Gruppe eingebracht, indem die C18-Phase mit einem hydrophilen Silan nachbehandelt wird, wodurch die Phase für das Wasser benetzbar bleibt.

Als flüssigchromatographisches Verfahren mit UV-Detektion bei dem Laufmittelqualitäten, Druck- und Temperatureinflüsse größere Auswirkungen auf die Peakformen haben und schlechtere Trennungen vorliegen, die auch unmittelbar durch Matrixbestandteile beeinflusst werden können, sind die Schwankungen der Ergebnisse aus der Peakintegration deutlich höher als bei der GC. Niedrig ethoxylierte Gemische lassen sich mit geringerem Aufwand der Derivatisierung (ohne Probenaufarbeitung) und geringerer Wartung des Systems sowie höherer Präzision mittels HT-GC-AED bestimmen.

4.6 Bestimmung der Alkylkettenverteilung durch Gaschromatographie der Alkylbromide

Bei Behandlung von AEO-Gemischen mit Bromwasserstoff werden Dibrommethan und Alkylbromide gebildet. Bei der Bromwasserstoff-Spaltung entsteht aus jedem AEO-Homologen unabhängig vom EO-Grad das identische Reaktionsprodukt Alkylbromid. Die resultierenden Gaschromatogramme werden dadurch stark vereinfacht wobei jedoch die Information zur EO-Verteilung des Gemisches verlorengeht.

Bei Doppelbindungen in der Alkylkette erfolgt eine Addition des Bromwasserstoffs. So entstehen aus einfach ungesättigten Verbindungen zweifach bromierte und aus zweifach ungesättigten Verbindungen dreifach bromierte Kohlenwasserstoffketten (Abbildung 56). Die Addition des Bromwasserstoffs an Doppelbindungen konnte mittels GC-MS und über Berechnungen der Element-Verhältnisse C:Br bei der Atomemissionsdetektion bestätigt werden (Tabelle 7).

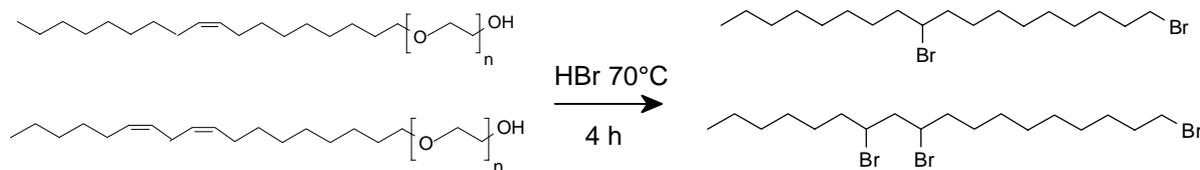


Abbildung 56: Reaktion von ungesättigten AEO mit Bromwasserstoff

Durch die Mehrfachbromierung wird die zuvor problematische gaschromatographische Trennung der ungesättigten Verbindungen auf einer unpolaren Säule (vgl. Abbildung 84) verbessert, da sich die resultierenden Alkyldi- und -tribromide leichter trennen und zuordnen lassen. Eine polarere Säule, die in der Lage ist, ungesättigte und gesättigte Species zu trennen, ist für die HT-GC-Analyse derivatisierter AEO aufgrund ihrer Thermolabilität nicht geeignet (siehe GC-MS-Analysen Abschnitt 4.3). Da beim Vorkommen von einfach und zweifach ungesättigten AEO gleicher Kettenlänge die HBr-Addition jedoch nicht quantitativ und reproduzierbar abläuft, kann sie nur zu qualitativen Zwecken herangezogen werden. Die Summe der Alkyldi- oder tribromide hatte jedoch stets einen konstanten Wert, so daß die Summe der ungesättigten Verbindungen quantifizierbar ist.

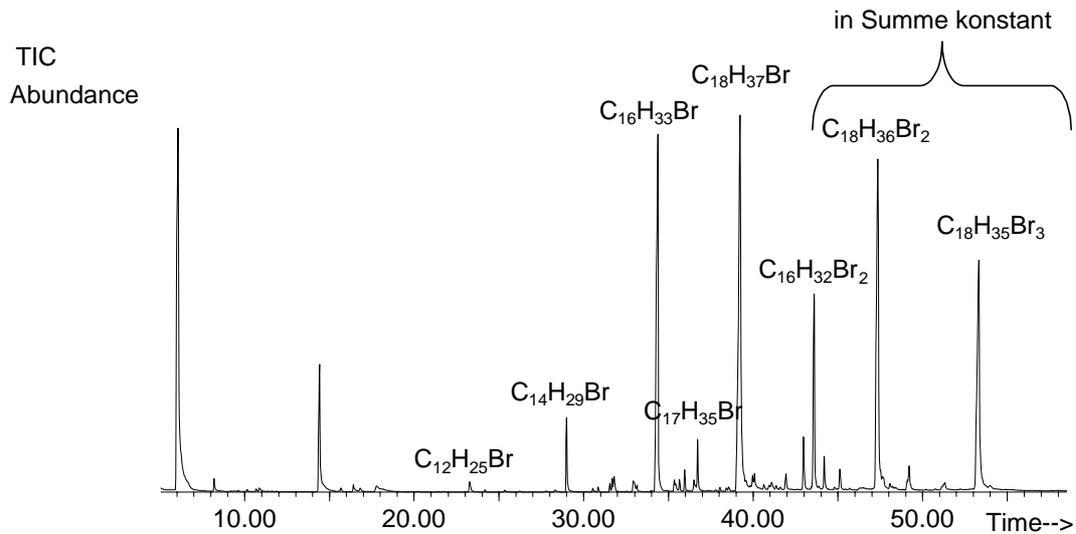


Abbildung 57: EI-GC-MS-Analyse der Alkylkettenverteilung von Eumulgin ET5 nach Etherspaltung mit Bromwasserstoff über die entstandenen Alkylbromide. TIC-Chromatogramm. Parameter siehe Anhang B

Abbildung 57 zeigt das TIC-Chromatogramm von Eumulgin ET5 nach Umsetzung mit Bromwasserstoff. Die Identifizierung der entstandenen Alkylbromide ist über ihre charakteristischen Massenspektren möglich. Typisch für die EI-Spektren von gesättigten Alkylmonobromiden mit mehr als 5 linear angeordneten Methylengruppen sind nach Hesse et al. (1991) die Bromcluster mit den Massen 135/137 und 149/151, die von cyclischen Bromoniumionen herrühren (Abbildung 58).

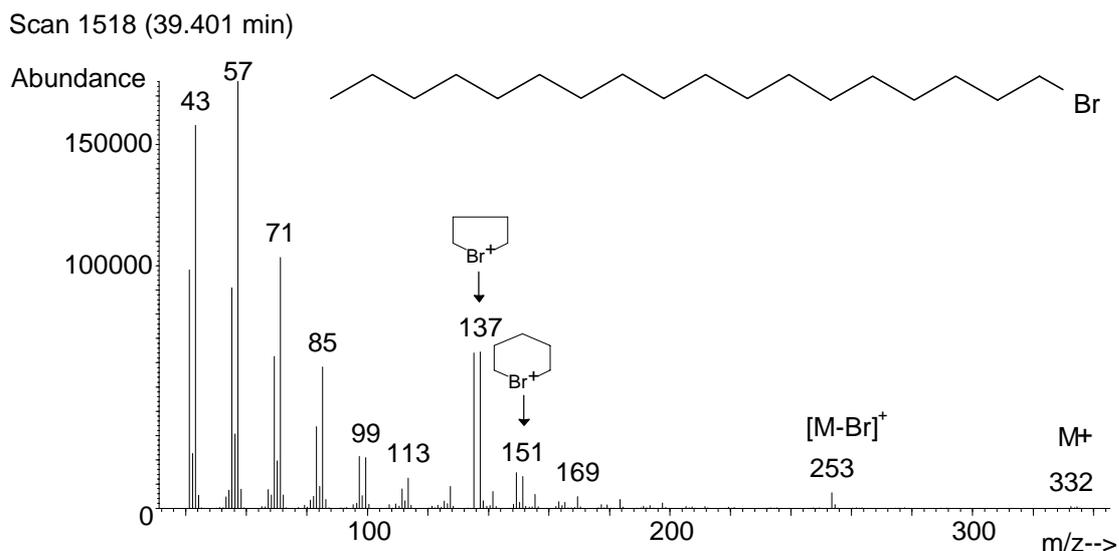


Abbildung 58: EI-Massenspektrum von $C_{18}H_{37}Br$. Parameter siehe Anhang B

Diese Cyclen sind in den Spektren von mehrfach bromierten Kohlenwasserstoffen wie in Abbildung 59 dargestellt, nicht zu finden.

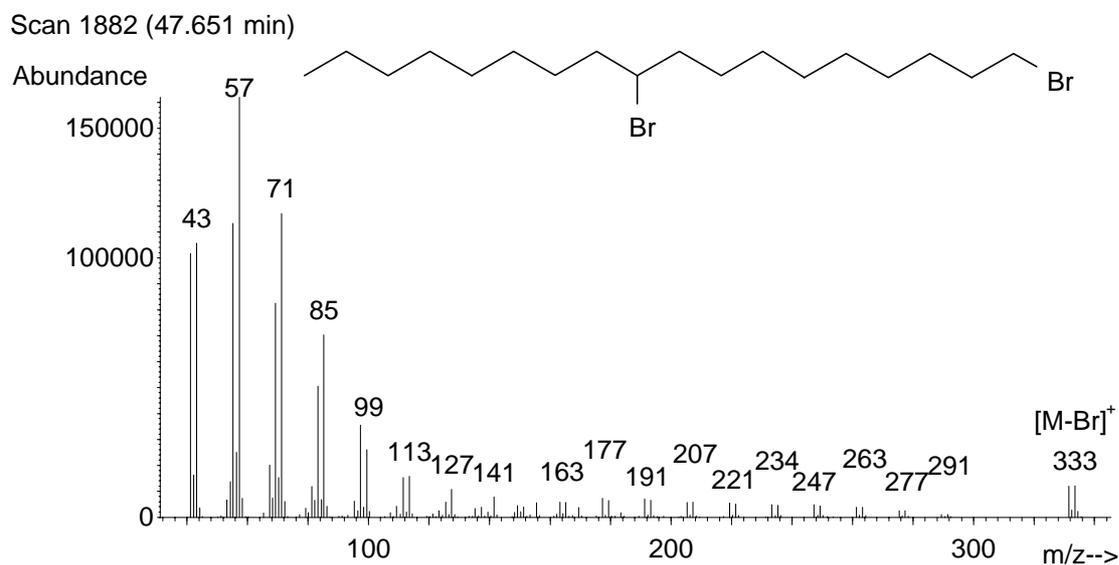


Abbildung 59: EI-Massenspektrum von $C_{18}H_{36}Br_2$. Parameter siehe Anhang B

Da die EI-Spektren von mehrfach bromierten Kohlenwasserstoffen durch das fehlende Molekülion und der uncharakteristischen Fragmente keine eindeutige Identifizierung erlauben, wurde zusätzlich die PCI durchgeführt. In Abbildung 60, dem korrespondierenden PCI-Spektrum von Stearyldibromid ist die Masse des Molekülions sichtbar, welches die typische Isotopenverteilung von zwei Bromatomen im Molekül aufweist.

Das in Abbildung 61 dargestellte PCI-Massenspektrum von Stearylbromid enthält ebenfalls ein deutlich sichtbares Pseudomolekülion $[M+H]^+$. Basispeak in beiden Spektren ist jedoch das Ion nach Abspaltung von einem Bromid aus dem Molekülion. Man beachte auch hier die Isotopenverteilung. Während nach der Abspaltung von Bromid aus Stearyldibromid noch ein Brom im Molekül vorhanden ist und der entsprechende typische Bromcluster zu sehen ist (Abbildung 60), weist das Stearylbromid nach Abspaltung von Bromid kein Brom im Molekül mehr auf, wie deutlich an der Isotopenverteilung zu erkennen ist (Abbildung 61).

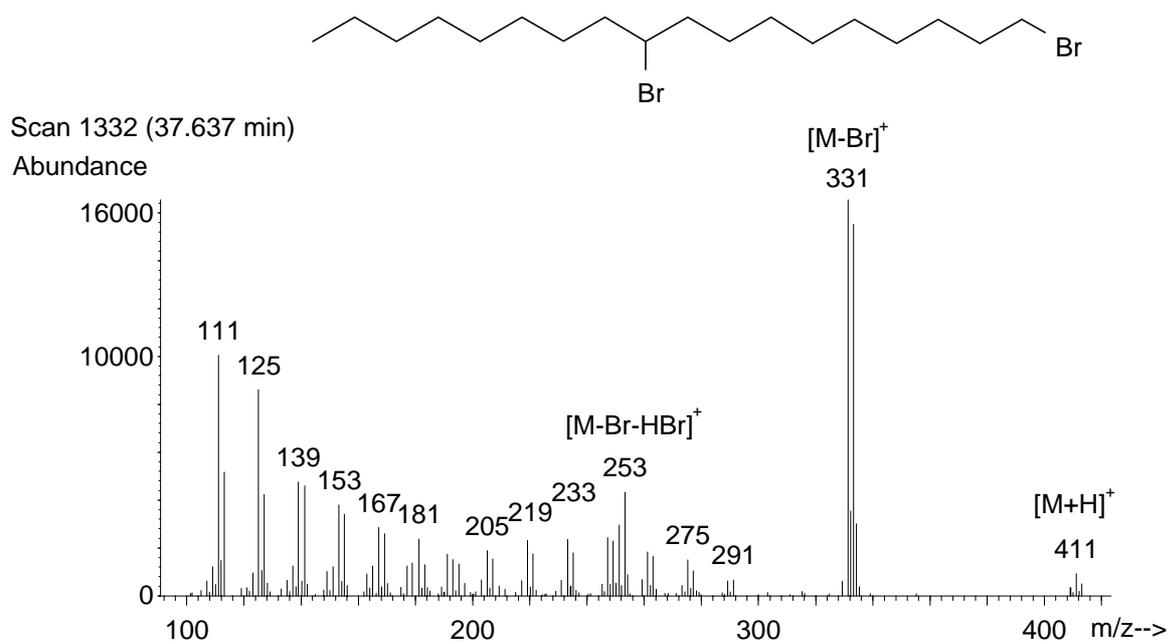


Abbildung 60: PCI-Massenspektrum von C₁₈H₃₆Br₂. Parameter siehe Anhang B

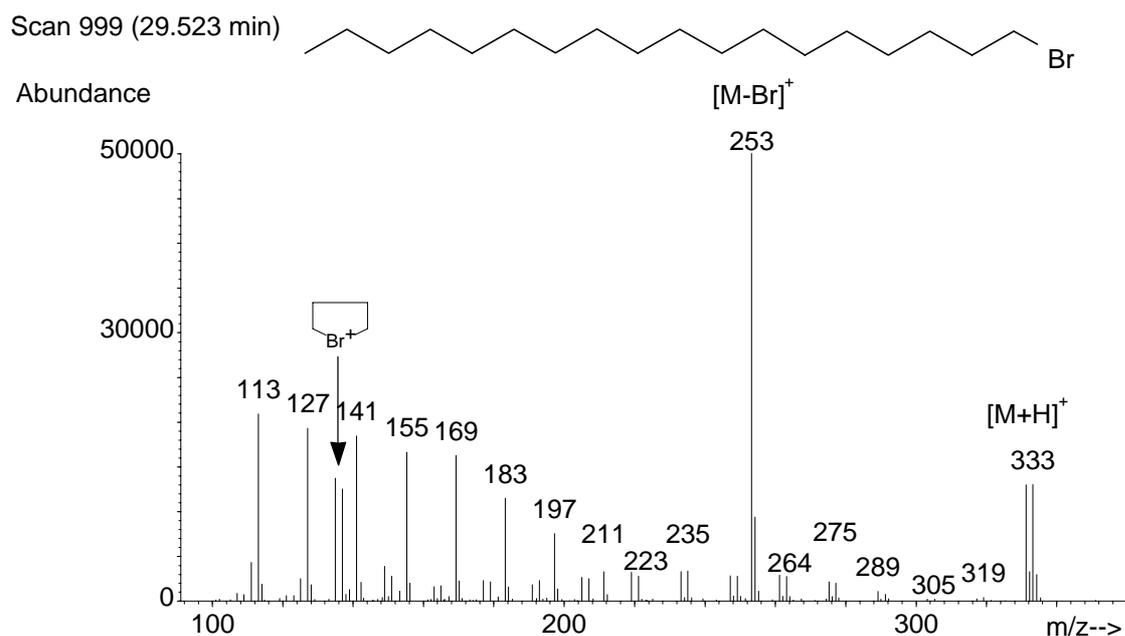


Abbildung 61: PCI-Massenspektrum von C₁₈H₃₇Br. Parameter siehe Anhang B

4.6.1 Durchführung der Bromwasserstoffspaltung

Die Bromwasserstoffspaltung wird mit kleinen Modifikationen nach Fendinger et al. (1995) durchgeführt. Dazu werden 100-500 µg technisches AEO-Gemisch in ein 4 mL-Schraubdeckel-Probenfläschchen eingewogen oder mittels SPE aus Wasserproben

aufgearbeitet, mit 20 μL ISTD Eicosanol (1 mg/mL in Methanol) versetzt und wieder vorsichtig im Stickstoff-Strom getrocknet. Der trockene Rückstand wird mit 1 mL 30%igen Bromwasserstoff in Essigsäure (Sigma-Aldrich, Deisenhofen) versetzt und sofort sorgfältig verschlossen. Die Dichtheit wird durch eine doppelte Dichtscheibe im Schraubdeckel gewährleistet. Keinesfalls dürfen unbeschichtete Gummi- oder Silicondichtscheiben benutzt werden, da sie nicht widerstandsfähig gegen HBr sind. Die erste Dichtscheibe aus mit PTFE beschichtetem Butylkautschuk (1 mm) wird mit einer zweiten Dichtscheibe aus PTFE (0,2 mm) verstärkt. Der Butylkautschuk dichtet die Gewindeflasche gut ab und wird durch die doppelte Lage PTFE gegen die HBr-Dämpfe geschützt. Die Probenfläschchen werden anschließend 4 h im Trockenschrank bei 70°C temperiert. Nach dem Abkühlen wird 2 mL destilliertes Wasser zugesetzt und die entstandenen Alkylbromide werden mit 600 μL Dichlormethan extrahiert. Dazu wird der Inhalt des Probenfläschchens 30 s mit einem Reagenzglasschüttler innig vermischt und ein Aliquot von 100 μL der organischen Phase zur GC-Analyse eingesetzt. Zur Kalibrierung werden 2-100 μg C9-, C10-, C11-, C12-, C14-, C16- und C18-Alkohol (oder je nach erwarteter Alkylkettenverteilung) mit je 20 μg C20-Alkohol (Eicosanol) als ISTD versetzt, vorsichtig mit Stickstoff getrocknet und nach Zugabe von 1 mL Bromwasserstoff-Reagenz wie oben beschrieben behandelt.

4.6.2 Quantifizierung der Alkylbromide

Zur Kalibrierung wurden die entsprechenden C9- bis C18-Alkohole (gesättigt und ungesättigt) mit HBr umgesetzt. Die resultierenden Alkylbromide wurden mittels GC-AED-Messung quantifiziert, da der Atomemissionsdetektor einen weitaus größeren linear dynamischen Bereich aufweist als der massenselektive Detektor. Zudem kann mit dem Atomemissionsdetektor eine universelle Kalibrierung durchgeführt werden. Auf diese wurde jedoch verzichtet und mit allen verfügbaren Alkoholen kalibriert, um Abdampfverluste durch die unterschiedliche Flüchtigkeit bei den Alkylbromiden zu berücksichtigen. Die Kalibrierung wurde bei jeder Meßreihe erneuert. Die Atomemissionsdetektion wurde in der Kohlenstoff-Spur bei 496 nm und in der Brom-Spur bei 478 nm durchgeführt. Dies ist innerhalb einer Messung möglich. Neben den Retentionszeiten können die Alkylbromide durch ihr Kohlenstoff:Brom-Verhältnis des Responses identifiziert werden. Diese Werte, dargestellt in Tabelle 7, werden gleichzeitig mit der Kalibrierung überprüft. Nebenprodukte der HBr-Spaltung, die im Einzelfall auftreten können und Bruchstücke der teilweise bromierten

Polyethylenglykolkette oder bromierte Matrixbestandteile sind, weisen deutlich andere Werte im C:Br-Verhältnis auf.

Tabelle 7: C:Br-Verhältnis von Alkylbromiden, Quotient $\pm 0,07$ abhängig vom Alter der Säule (Säulenbluten erhöht Rauschen in der Kohlenstoff-Spur)

Kettenlänge des Alkylbromids	$C_9H_{19}Br$	$C_{10}H_{21}Br$	$C_{11}H_{23}Br$	$C_{12}H_{25}Br$	$C_{14}H_{29}Br$	$C_{16}H_{33}Br$
Fläche C-Spur/Br-Spur	0,6	0,65	0,7	0,8	1,0	1,2
Kettenlänge des Alkylbromids	$C_{18}H_{37}Br$	$C_{16}H_{32}Br_2$	$C_{20}H_{41}Br$	$C_{18}H_{36}Br_2$	$C_{18}H_{35}Br_3$	
Fläche C-Spur/Br-Spur	1,4	0,6	1,6	0,7	0,4	

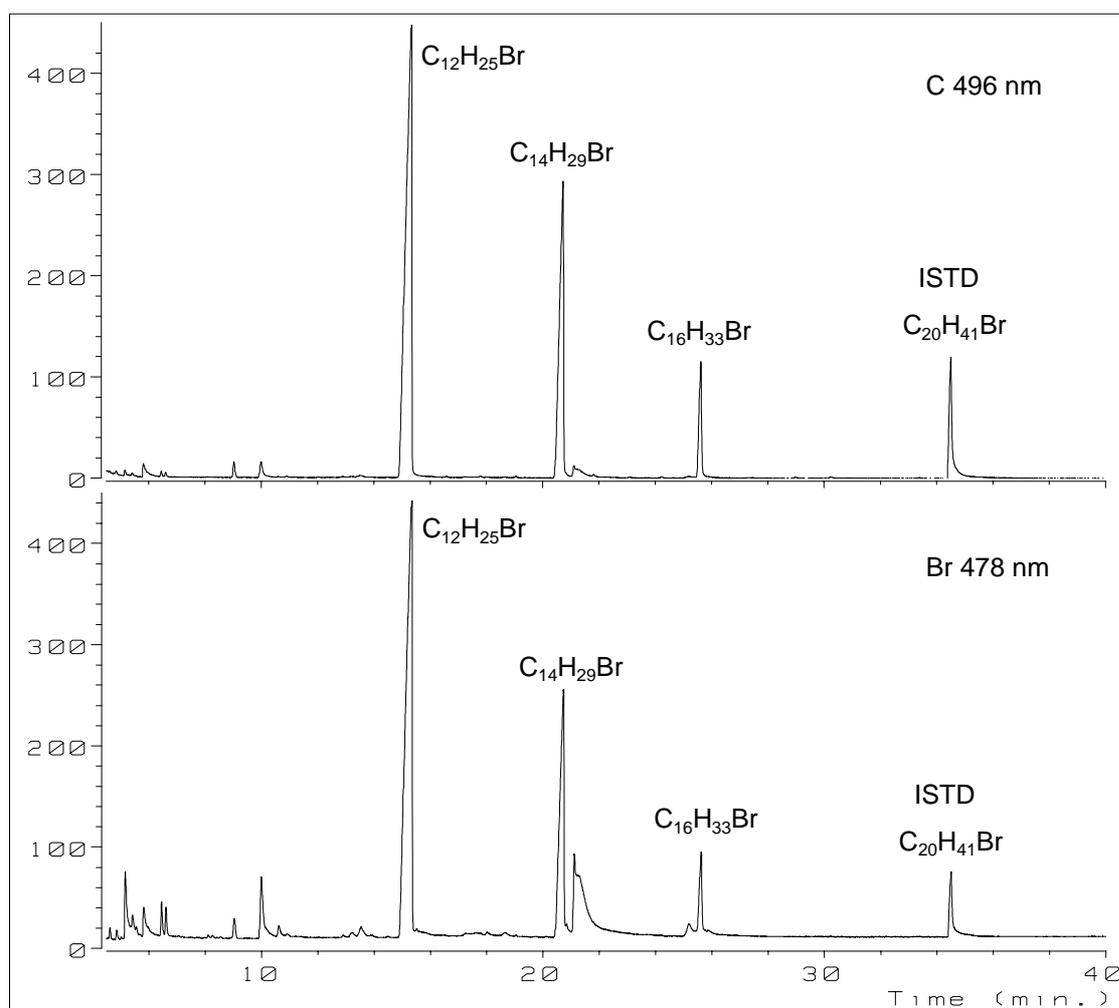


Abbildung 62: GC-AED-Chromatogramme der Kohlenstoff- und Brom-Spur von Brij 30 nach Behandlung mit Bromwasserstoff. Parameter siehe Anhang A, Injektion: KAS

Die Ausgangsprodukte konnten bei der Reaktion mit HBr-Überschuß nie nachgewiesen werden, so daß von einer vollständigen Reaktion ausgegangen werden kann. Fendinger et al. (1995) wiesen bereits nach, daß die Reaktion vollständig und unabhängig vom EO-Grad ist.

Die Quantifizierung wurde mit den Flächen der Kohlenstoff-Spur durchgeführt, da die Kalibriergeraden bessere Korrelationskoeffizienten aufwiesen (Abbildung 63). Die Brom-Spur weist mehr Störungen auf, da selbst kleinste bromierte Bruchstücke, die in der Kohlenstoff-Spur kaum nachgewiesen werden, hier empfindlich detektiert werden. Aus Abbildung 62 wird die Empfindlichkeit der Brom-Spur anhand der Achsenskala verdeutlicht: Die Signale der Brom-Spur basieren hier jeweils nur auf einem Bromatom im Molekül. Die leichten Abweichungen der Steigung und des Achsenabschnittes bei den dargestellten Kalibriergeraden in Abbildung 63 lassen sich durch Abdampfverluste beim Handling erklären. Daher ist die Kalibrierung mit allen verfügbaren Standards genauer als eine universelle Kalibrierung. Wichtig bleibt dabei jedoch die exakt gleiche Behandlung aller Proben.

Response Kohlenstoff-Spur

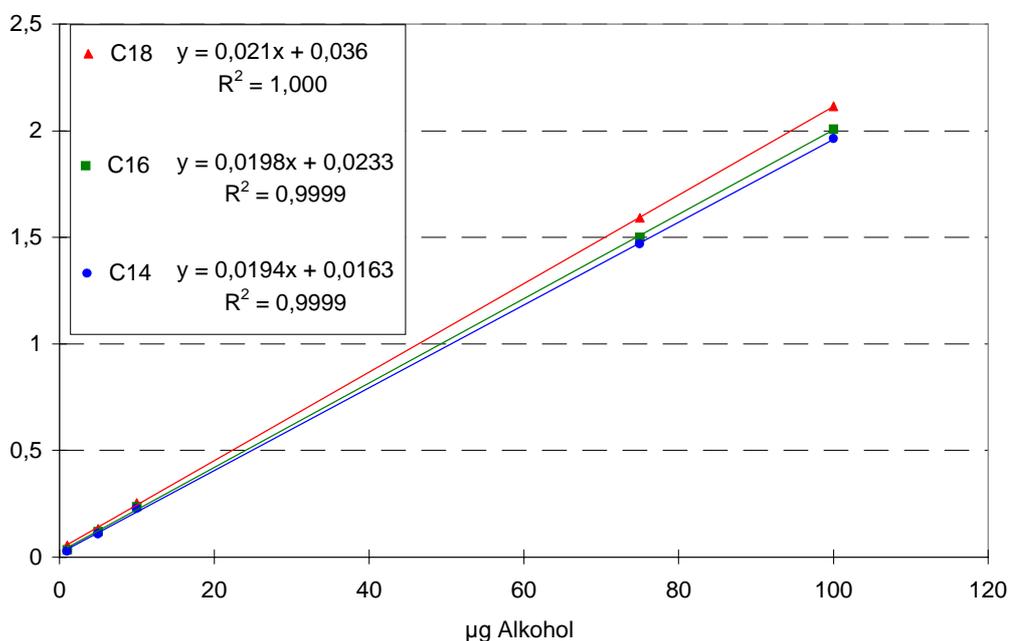


Abbildung 63: Kalibrierung mit Alkylbromiden aus der HBr-Spaltung von C14-, C16- und C18-Alkohol, Flächen normiert mit internem Standard (40 µg), n = 3, VK = 2,5 - 5% (höchster Wert bei 1 µg)

Als interner Standard wurde der C20-Alkohol gewählt, eine Kettenlänge, die weniger oft in technischen AEO-Gemischen gefunden wird (nur Eumulgin P) und Schwankungen der Extraktionsausbeute der LLE sowie Lösungsmittelabdampfverluste kontrolliert.

Die Quantifizierung wurde mittels externer Kalibrierung durchgeführt. Proben wie Kalibrierstandards wurde jeweils die gleiche Menge ISTD zugesetzt und die Flächen der Alkylbromide normiert, d.h. es wurde durch die Fläche des ISTD geteilt.

Der durch die Eichgerade ermittelte zugrundeliegende Alkoholgehalt kann auf den AEO-Gehalt dieser Kettenlänge umgerechnet werden, wenn der mittlere molare EO-Grad des Gemisches bekannt ist. Aus diesem ergibt sich die mittlere Molmasse für diese Alkylkettenlänge mit welcher der Gesamtgehalt an AEO-Homologen dieser Alkylkettenlänge berechnet werden kann. Der Gesamtgehalt aller Homologen des Gemisches berechnet sich wiederum aus der Summe dieser Gehalte woraus die prozentualen Gewichtsprozent bestimmt werden können.

4.7 Massenspektrometrische Detektion mit Ionisierung unter Atmosphärendruck

Die massenspektrometrische Detektion in Kopplung mit einem Flüssigeinlaß via Elektrospray oder APCI erlaubt die Detektion von AEO ohne Derivatisierung. Im positiven Modus werden durch die "sanfte" Art der Ionisierung mit beiden Ionierungsquellen Quasi-Molekülonen gebildet und sehr empfindlich detektiert. Diese Quasi-Molekülonen liegen als Protonenaddukte $[M+H]^+$ oder Kationenaddukte $[M+Na]^+$ ($=M+23$), $[M+K]^+$ ($=M+39$) bzw. $[M+NH_4]^+$ ($=M+18$) vor. Das Natriumaddukt ist dabei das stabilste und wird bereits in Anwesenheit von Spuren der Natriumionen gebildet. Im negativen Modus kann infolge der nur schwachen Acidität der endständigen Hydroxylgruppe der AEO $[M-H]^-$ nur sehr unempfindlich detektiert werden. In unreproduzierbarer Weise konnten im negativen Modus Methanoladdukte detektiert werden, die sich ähnlich wie die Kationenaddukte im positiven Modus verhalten.

Die spezifische Massendetektion bedarf keiner vollständigen bzw. gar keiner Trennung der Komponenten. Dadurch entfallen mögliche Probleme unzureichender Auflösung bei der Kopplung mit der HPLC. Es kann vielmehr sogar der Direkteinlaß über eine Spritzenpumpe in das Massenspektrometer (Fließinjektion) genutzt werden, was ein Spektrum der AEO über den gesamten Massenbereich liefert. Die Vorschaltung der HPLC ist dann angebracht, wenn es zu störenden Matrixeinflüssen kommt, mehrfach Ionen mit demselben Masse/Ladungsverhältnis auftreten oder eine Diskriminierung bei der Ionisierung auftritt, was durch Konkurrenzeinflüsse bei der gleichzeitigen Ionisierung vieler Komponenten verursacht werden kann.

Die FIA bietet die Möglichkeit der Identifizierung von AEO-Gemischen in wäßrigen oder organischen Lösungen innerhalb kürzester Zeit. Die Ethoxymereihen zeigen dabei charakteristische Massenspektren mit einer Massendifferenz von m/z 44, die eine Ethoxyeinheit widerspiegelt. Die Homologenreihen unterscheiden sich um eine Methyleneinheit ($[CH_2]=m/z$ 14) bei AEO petrolchemischer Herkunft oder eine Ethyleneinheit ($[C_2H_4]=m/z$ 28) bei AEO oleochemischer Herkunft (Abbildung 67).

4.7.1 Adduktbildung mit Kationen im positiven Modus

Die Bildung der Kationenaddukte im positiven Modus ist sehr stark von äußeren Bedingungen abhängig. Bei der Fließinjektion mit einer Spritzenpumpe kann die

Adduktbildung durch Überschuß von beispielsweise Ammoniumacetat sehr gut in Richtung der Ammoniumaddukte gelenkt werden. Beim Einsatz des HPLC-Systems - auch bei Abkopplung der Säule - gelingt dies jedoch nicht, da Natriumionen in Spuren aus dem weitläufigeren Kapillarsystem herausgelöst werden und selbst durch das Überangebot von Ammoniumionen die Bildung von Natriumaddukten nicht unterdrückt werden kann. Häufig liegen alle drei möglichen Addukte (Na^+ , K^+ und NH_4^+) nebeneinander vor. Aufgrund der Vielzahl an Komponenten in einem technischen AEO-Gemisch und der Bildung von jeweils drei Möglichkeiten von Adduktformen kommt es zu einem sehr unübersichtlichen Spektrum und mehrfachem Auftreten gleicher Beträge von m/z . Bsp.: $[\text{C}_{12}\text{E}_6+\text{Na}]^+$ hat genau die gleiche Masse wie $[\text{C}_{14}\text{E}_5+\text{K}]^+$ da die Massendifferenz von Natrium und Kalium genau der Massendifferenz zwischen einer Ethoxyeinheit ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$) und einer Ethyleneinheit (C_2H_4) entspricht ($39-23 = 44-28 = 16$). Solche gleichartigen Massen treten ebenfalls mit Massen anderer Addukte (NH_4^+) und zugleich noch Massen von Isotopenpeaks (+1) auf. Die besten Ergebnisse konnten daher mit der FIA und dem Einsatz der Spritzenpumpe und Lösungsmitteln mit Überschuß des gewünschten Kations (z.B. Ammoniumacetat) erzielt werden. Die Zurückdrängung des stabileren Natriumadduktes empfiehlt sich auch, wenn die Tandemmassenspektrometrie (MS-MS) herangezogen werden soll. Dabei wird durch Beschuß mit Argonatomten eine Fragmentierung des ausgewählten Mutterions ausgelöst. Während das Ammoniumaddukt schon bei Kollisionsenergien von 20 bis 40 eV charakteristische Tochterionenspektren liefert, kann bei dem stabilen Natriumaddukt selbst bei stark erhöhter Kollisionsenergie keine Fragmentierung ausgelöst werden. Bei weiterer Erhöhung der Kollisionsenergie (80 eV) kommt es letztendlich zu einer Abspaltung des Natriumions und so starker Fragmentierung des Moleküls, daß keine Bruchstücke $> m/z$ 23 mehr detektiert werden können. Die Aufnahme von Tochterionenspektren oder selektive Targetionenanalysen, die eine weitere Fragmentierung mit einbeziehen, sind folglich nur mit Protonen- oder Ammoniumaddukten möglich.

4.7.2 Tandemmassenspektrometrie

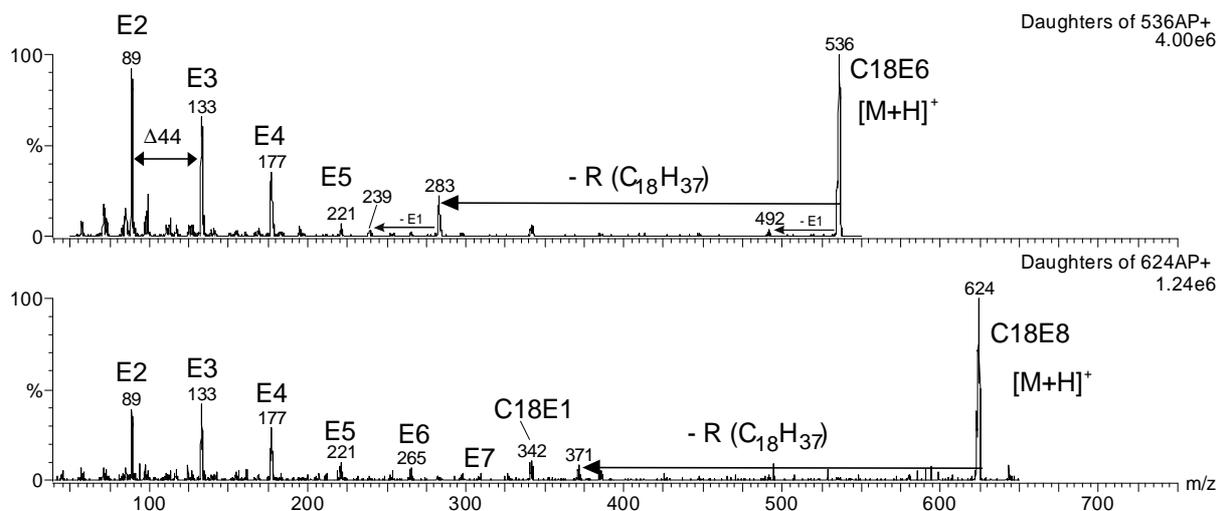


Abbildung 64: Tochterionenspektren von C18E6 und C18E8 als Protonenaddukte, APCI, positiv. Parameter siehe Anhang D

Die Tandem-MS bietet die Möglichkeit die Identität beobachteter Massen abzusichern. Die Tochterionenspektren von AEO zeigen charakteristische Fragmente (m/z 89, m/z 133, m/z 177 usw.), die aus der Ethoxylatkette hervorgehen (Abbildung 64). Das AEO-Oligomer wird mit Hilfe der Masse des Mutterions und der Masse der abgespaltenen Alkylkette identifiziert. Letztere Abspaltung bietet ein Unterscheidungsmerkmal zu Polyethylenglykol. Mit zunehmendem Ethoxylierungsgrad muß die Kollisionsenergie erhöht werden, um gleichartige Tochterionenspektren zu erhalten. Eine Rampe der Kollisionsenergie während eines HPLC-Laufes, die mit der Elution von AEO steigenden EO-Grades korreliert, erlaubt eine selektive Targetionenanalyse der AEO über dieselben Tochterionen 89, 133 oder 177 („parent ion scan“). Dabei werden aber einfach, zweifach und gegebenenfalls dreifach ethoxylierte Verbindungen nicht erfaßt. Eine andere Möglichkeit ist es, über einen Massenoffset zwischen erstem und zweitem Massenspektrometer, eine Homologenreihe über den Verlust der gleichen Masse des Alkylrestes zu erfassen („constant neutral loss“).

4.7.3 Optimierung der Detektion im positiven Modus

Die FIA-MS bzw. LC-MS erlaubt die Einstellung und Variation zahlreicher Parameter. Wie in Abbildung 7 und Abbildung 8 anhand des Aufbaus des Micromass Z-Spray erläutert,

können sowohl die Spannung an der Kapillare beim Elektrospray bzw. an der Coronanadel beim APCI als auch alle anderen anliegenden Spannungen der Linsen („orifices“) variiert werden. Den größten Einfluß auf den Response der AEO zeigt dabei die angelegte Spannung der „sample cone“ (kurz Cone-Spannung). Je nachdem welche Cone-Spannung bei der FIA-MS von z.B. Brij 30 angelegt wird, wird ein Massenspektrum mit einem völlig anderen Intensitätsverhältnis aller Massen erhalten (Abbildung 65).

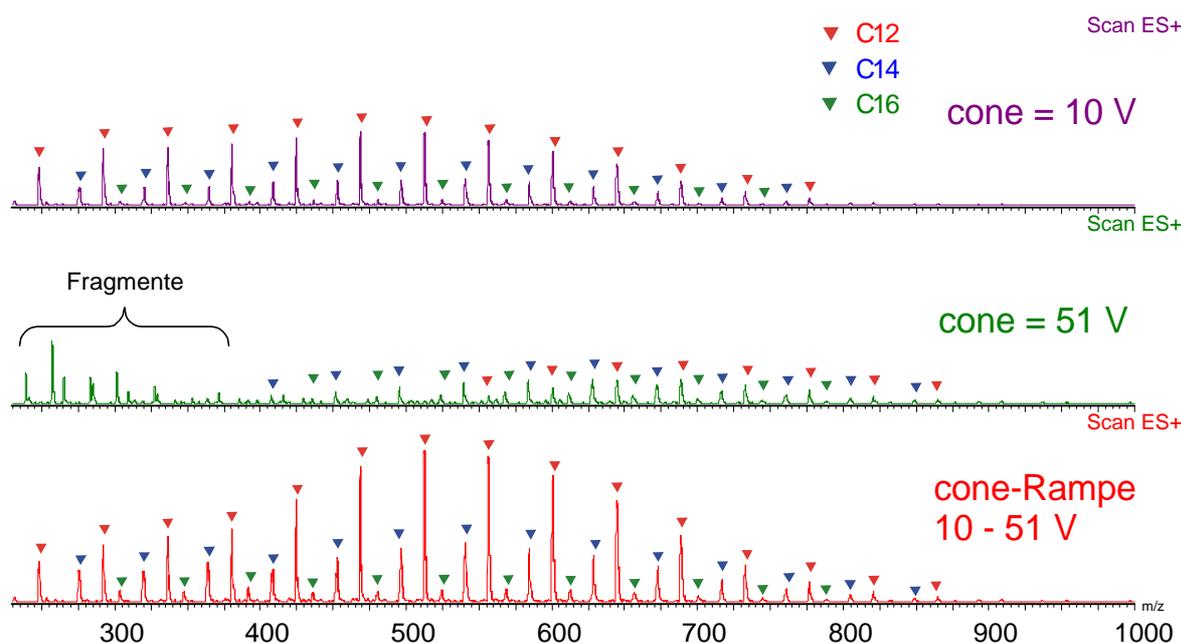


Abbildung 65: Einfluß der Cone-Spannung bei der FIA-MS von Brij 30 gelöst in Acetonitril ohne Derivatisierung; Elektrospray, positiv; absolute Intensitäten der Ammoniumaddukte im Vergleich. Parameter siehe Anhang D

Dies läßt sich damit erklären, daß jede der einfach geladenen Komponenten ein anderes Masse/Ladungsverhältnis (m/z) aufweist. Das Ion muß beim Z-Spray senkrecht zur Flugrichtung abgelenkt werden. Die Cone-Spannung, die eine um zwei Zehnerpotenzen niedrigere Spannung aufweist als die Kapillare bzw. die Corona hilft dabei, den Potentialgradienten in Richtung Detektor aufrechtzuerhalten und fokussiert den Ionenstrom (siehe Abbildung 7 und Abbildung 8). Ist die Cone-Spannung zu klein, kommt es zu einem zu starken Abfall des Potentialgradienten und das Ion wird aufgrund seiner Massenträgheit nicht mehr abgelenkt. Ist die Cone-Spannung zu groß, wird das Ion zu stark beschleunigt und erleidet durch eine Kollision mit beispielsweise einem Stickstoff-Molekül eine Fragmentierung (in der Quelle unter Atmosphärendruck). So gibt es für jede Masse eine

optimale Cone-Spannung, welche die optimale Detektion (Intensität der Masse) liefert. Anhand der Fließinjektion von Brij 30 wurden die einzelnen Signale der Ammoniumaddukte durch Variation der Cone-Spannung jeweils optimiert und die erhaltenen Cone-Spannungen gegen das jeweilige Masse/Ladungsverhältnis aufgetragen. Diese experimentelle Ermittlung der optimalen Cone-Spannungen ergab bei den Ethoxymereen gleicher Alkylkettenlänge eine lineare Abhängigkeit (Abbildung 66). Für Majorkomponenten von Brij 30 (C12 in Summe 70%) wurden andere optimale Cone-Spannungen gefunden als für Minorkomponenten (C14 in Summe 24% und C16 in Summe 6%). Dies kann durch Sättigungseffekte erklärt werden. Der dynamische Bereich bei der MS ist nicht sehr groß. Bei der FIA-MS von technischen AEO-Gemischen werden durch das weite Spektrum der unterschiedlichen Konzentrationen Majorkomponenten im Sättigungsbereich und Minorkomponenten am Rande der Nachweisgrenze erfaßt.

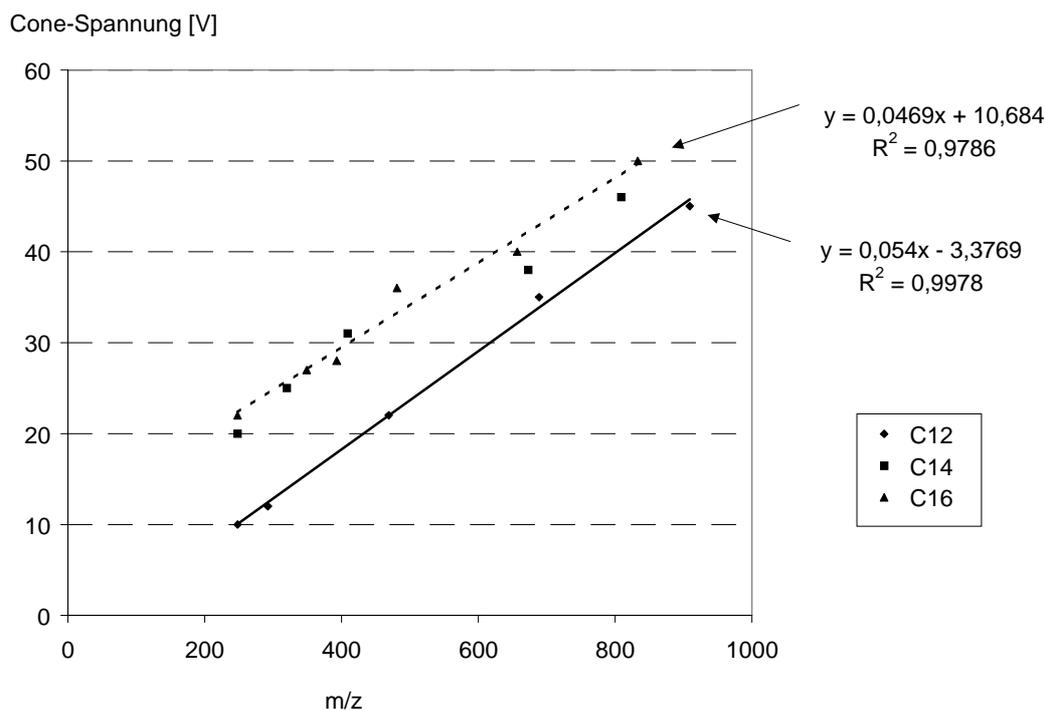


Abbildung 66: Signaloptimierung mit Cone-Spannung. Auftragung der optimierten Cone-Spannung gegen das Masse/Ladungsverhältnis des Ions. FIA-MS von Ammoniumaddukten von Brij 30-Oligomeren, Elektrospray, positiv

Der Scan-Modus des Gerätes erlaubt die automatische Einstellung einer linearen Cone-Spannungsrampe während eines Massenscans. Damit kann eine Signaloptimierung für die Ammoniumaddukte der C12-Ethoxymereen durchgeführt werden, wenn für den Massenscan

von m/z 240 bis 1000 eine Cone-Spannungsrampe von 10 V bis 51 V abgefahren wird. Das Ergebnis ist in Abbildung 67 zu sehen. Damit wird eine deutliche Signaloptimierung der C12-Ethoxymere und auch eine deutliche Verbesserung der Detektion der C14 und C16-Ethoxymere erreicht.

Für Natriumaddukte wurden andere Werte ermittelt, hier ist für den gleichen Massenbereich die Cone-Spannungsrampe von 23 bis 129 V optimal. Die hohen Werte spiegeln auch hier die deutlich höhere Stabilität der Natriumaddukte wider. Da bei diesen hohen Cone-Spannungen die Ammoniumaddukte nicht mehr stabil sind, können diese Signale trotz Anwesenheit eines Überschusses an Ammoniumacetat vollständig unterdrückt werden. Die Natriumaddukte zeigen jedoch den deutlichen Nachteil, daß trotz Signaloptimierung kein zufriedenstellender Response der einfach ethoxylierten und der höher ethoxylierten Verbindungen erreicht werden kann (Abbildung 67).

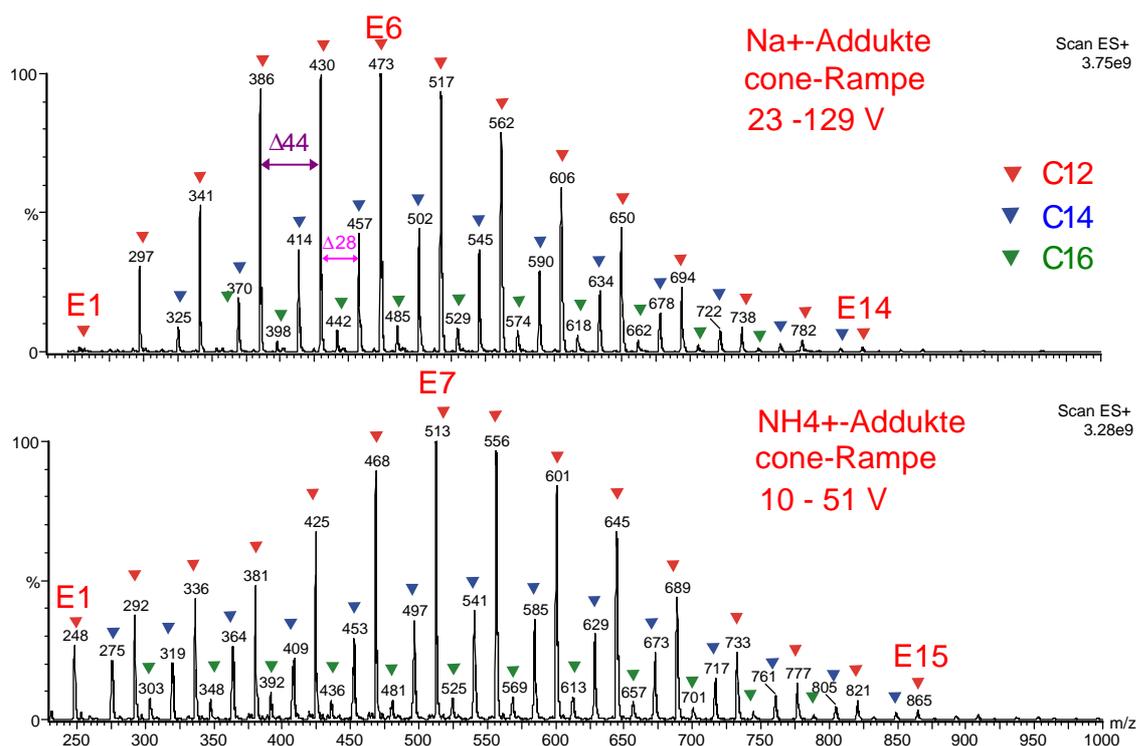


Abbildung 67: FIA-MS, Elektrospray, positiv mit Detektion der Natrium- bzw. Ammoniumaddukte der Oligomere von Brij 30. Massenscan von m/z 240 - 1000 mit einer Cone-Spannungsrampe von 23 - 129 V bei Natriumaddukten bzw. 10 - 51 V bei Ammoniumaddukten. Na⁺ und NH₄⁺ wurden jeweils im Überschuß zugesetzt. Parameter siehe Anhang D

Trotz Signaloptimierung zeigen die Massenspektren von Brij 30 in Abbildung 67 ein Maximum bei EO-Grad 6 oder 7 statt bei dem erwarteten EO-Grad von 4. Die Neigung zur Adduktbildung hängt nicht nur von den äußeren Bedingungen ab wie dem Vorhandensein und der Art der Kationen, sondern auch von der Struktur des AEO-Moleküls insbesondere dem Ethoxylierungsgrad ab. Abbildung 68 zeigt die Struktur eines Ammoniumclusters bei der CI nach Scheidegger (1995).

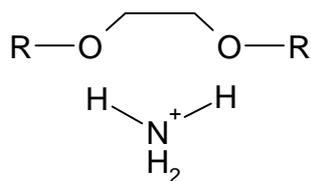


Abbildung 68: Struktur eines Ammoniumclusters von NH_4^+ mit Polyethylenglycol und ethoxylierten Verbindungen bei der CI nach Scheidegger (1995)

Da das Addukt an der Ethergruppierung lokalisiert ist, bildet der Alkohol kein Addukt und wird nicht detektiert. Aus dem Responseverhalten insbesondere der Natriumaddukte kann geschlossen werden, daß AEO mit zunehmendem EO-Grad durch besser stabilisierte Addukte empfindlicher detektiert werden. Hinzu kommen jedoch auch unterschiedliche Empfindlichkeiten des Gerätes für unterschiedliche m/z-Verhältnisse, die ebenfalls einen Einfluß auf den Responsefaktor haben. Da AEO-Reinsubstanzen nur bis zu einem maximalen EO-Grad von EO 9 vorliegen, wurde zur Untersuchung des molaren Responsefaktors innerhalb einer Ethoxymere-reihe das technische AEO-Gemisch Brij 30 herangezogen, welches durch HT-GC-AED vollständig charakterisiert wurde. Die molaren Responsefaktoren wurden zur besseren Vergleichbarkeit der Zahlenwerte auf die Verbindung C12E4 normiert gemäß der Berechnung in Gleichung 6.

$$\text{auf C12E4 normierter molarer Responsefaktor} = \frac{\text{Signalfläche (CnEm)}}{\text{Stoffmenge (CnEm)} \times \text{molarer Responsefaktor (C12E4)}}$$

Gleichung 6: Berechnung der auf C12E4 normierten molaren Responsefaktoren

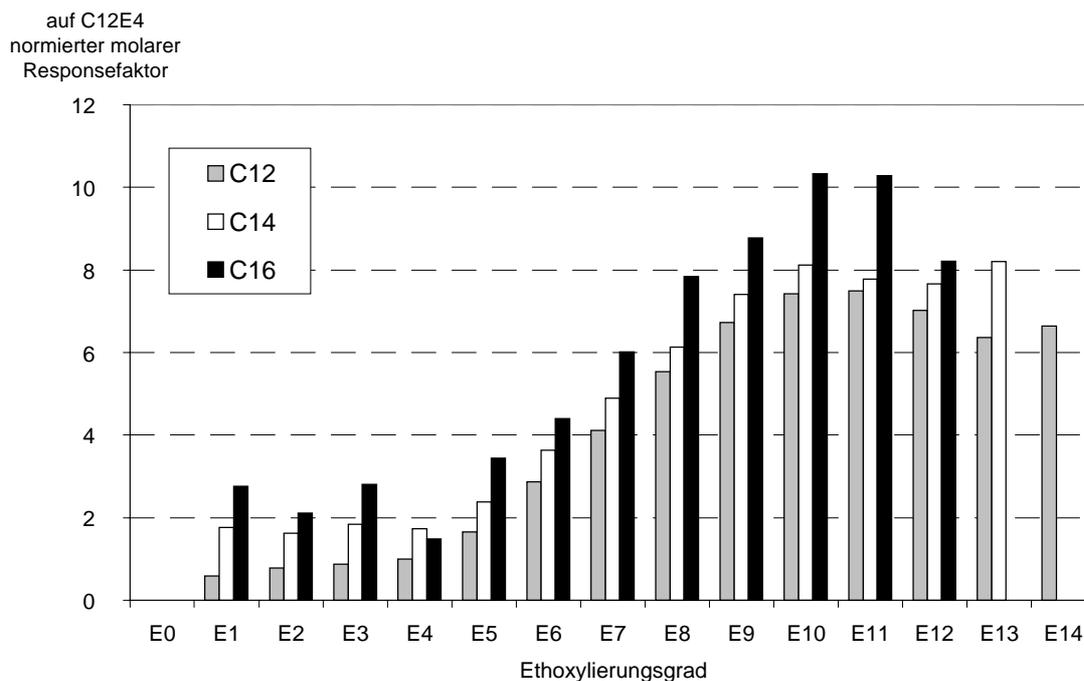


Abbildung 69: Normierte molare Responsefaktoren von Brij 30-Oligomeren; FIA-MS, Elektrospray, positiv; Detektion als NH_4^+ -Addukte, optimale Cone-Spannungsrampe für NH_4^+ -Addukte der C12-Ethoxymere: 10 -51 V. Stoffmengen auf der Basis der HT-GC-AED-Quantifizierung, n = 2

Abbildung 69 zeigt den Kurvenverlauf der molaren Responsefaktoren für die Ammoniumaddukte der Brij 30-Oligomere bis maximal EO-Grad 14. Ammoniumaddukte von AEO höheren EO-Grades dieses Gemisches konnten selbst dann nicht detektiert werden, wenn bereits annähernd die Grenze der Sättigungskonzentration erreicht war. Mit zunehmender Länge der Ethoxylkette steigt der Responsefaktor ab EO-Grad 5 auf den achtfachen Wert (bis ca. EO 10) und nimmt dann wieder ab. Ein ähnliches Bild ergibt sich bei der Ionisierung mit APCI im positiven Modus und auch bei den Natriumaddukten, die noch kleinere Responsefaktoren für niedrige und hoch ethoxylierte Verbindungen zeigen. Um den weiteren Verlauf der Kurve zu untersuchen, wurde das höherethoxylierte technische AEO-Gemisch Brij 76 untersucht, welches zuvor durch NP-NH₂-HPLC-UV nach DNBC-Derivatisierung charakterisiert worden war (Abbildung 70). Die Responsefaktoren für die Natriumaddukte der C18 Ethoxymere bestätigen den Verlauf der Responsefaktoren der Ammoniumaddukte der C12, C14 und C16-Ethoxymere. Es existiert ein erstes Maximum der Empfindlichkeit der Detektion bei EO 10 bis 11 mit ca. dreifacher Empfindlichkeit zu EO 1, dann folgt ein Abfall auf die doppelte Empfindlichkeit im Vergleich zu EO 1 und ein zweites Maximum bei EO 18 bis 19.

auf C18E4 normierter
molarer
Responsefaktor

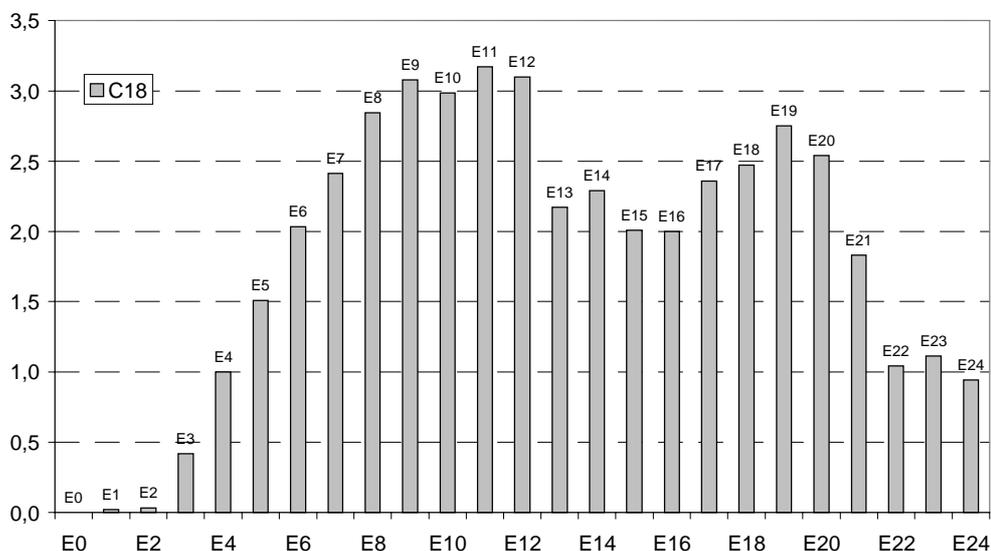


Abbildung 70: Normierte molare Responsefaktoren von Brij 76-Ethoxymeren; FIA-MS, APCI positiv, Detektion als Na^+ -Addukte, optimale Cone-Spannungsrampe für Na^+ -Addukte: 23 -198 V (m/z 240 - 1500). Stoffmengen auf der Basis der NP- NH_2 -HPLC-UV-Quantifizierung, $n = 3$

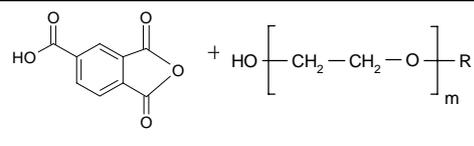
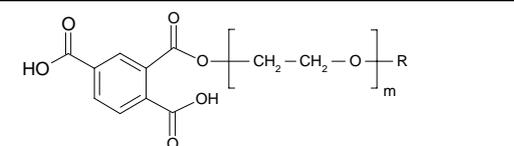
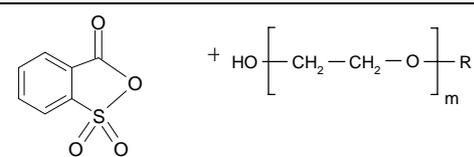
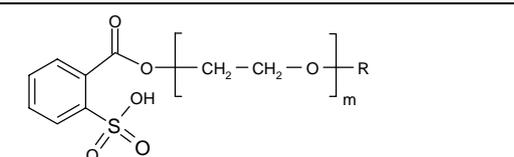
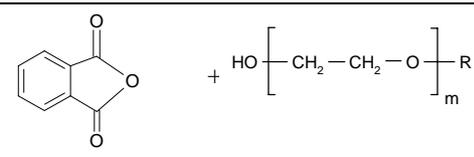
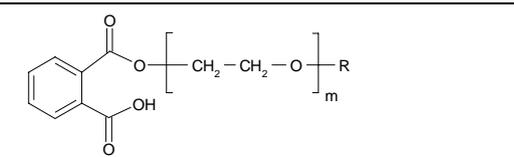
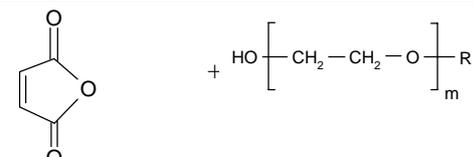
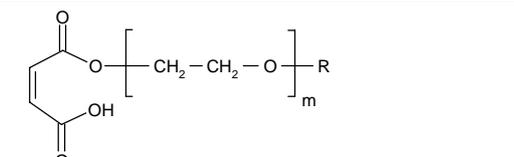
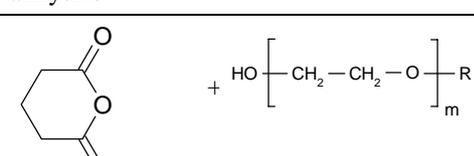
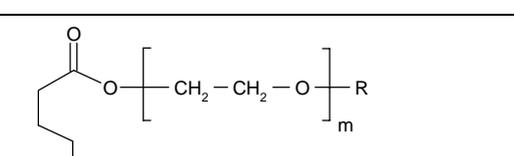
Jede Komponente zeigt einen anderen Responsefaktor, der keiner berechenbaren Funktion folgt. Dadurch können nur die AEO quantifiziert werden, die in Form einer Standardsubstanz als Referenz vorliegen. Der Alkohol bildet kein Addukt und kann mit dieser Methode gar nicht quantifiziert werden. Die FIA-MS mit APCI oder Elektrospray im positiven Modus bietet daher nur die Möglichkeit mit technischen AEO-Gemischen zu kalibrieren, die bereits mit anderen Methoden vollständig charakterisiert wurden und damit ein komplexes Standardgemisch liefern. Die Charakterisierung hochethoxylierter AEO-Gemische mit mehreren Alkylresten mittels HPLC-UV wurde jedoch im Abschnitt 4.5.2 als problematisch aufgezeigt. Deswegen wäre auch hier eine Methode wünschenswert, die eine universelle Kalibrierung erlaubt. Eine Methode mit universellem Responsefaktor, der anhand von wenigen Reinsubstanzen bestimmt werden kann oder eine Methode mit Responsefaktoren, die anhand einer Funktion berechnet werden können. Der positive Modus erscheint dafür zu problematisch, da stets eine Adduktbildung vorliegt, die wiederum von vielen Faktoren abhängig ist. Das Ammoniumaddukt, welches eine bessere Detektion von einfach und zweifach ethoxylierten Verbindungen und die Tandem-MS erlaubt, kann nur mittels FIA-MS mit Spritzenpumpe erzeugt werden. Wird jedoch das LC-System genutzt, liegen stets auch

Natrium- und häufig auch Kaliumaddukte vor, was unter Umständen zu einer Vielzahl von Ionen führt. Bei Nutzung des negativen Modus entfällt zwar die lästige Kationen-Adduktbildung, doch ist das Proton der endständigen Hydroxylgruppe nicht azide genug, um eine empfindliche Detektion der AEO zu erlauben. Liegt dagegen eine Adduktbildung mit Methanol vor, so können diese Addukte etwas empfindlicher im negativen Modus detektiert werden. Der Alkohol bildet hier jedoch ebenfalls kein Addukt und die Responsefaktoren zeigen eine ähnliche Kurve wie die der Kationenaddukte. Ideal im Hinblick auf einen universellen konstanten Responsefaktor ist es daher, wenn im negativen Modus keine Ionisierung mehr stattfinden muß und alle Substanzen im gleichen Maß ionisiert mit einer negativen Einfachladung vorliegen würden. Naheliegend ist daher mittels Derivatisierung eine Säurefunktion in das AEO-Molekül einzuführen.

4.7.4 Derivatisierung zur Detektion im negativen Modus

Zur empfindlichen Detektion im negativen Modus wurden mehrere mögliche Derivatisierungen getestet. Die Veresterung von AEO mit Trimellitsäureanhydrid (Tabelle 8) wurde von Barry et al. (1998) beschrieben, die AEO jedoch in einem anderen Zusammenhang mittels Kapillar-Elektrophorese untersuchten. Mit Hilfe dieses Reagenz werden die AEO quasi in anionische Tenside überführt. Durch zwei vorhandene Carboxylgruppen im Derivat sind bei pH 8 zwei Ladungen vorhanden und die Migrationssgeschwindigkeit bei der CE erhöht. Gleichzeitig wird mit der Derivatisierung noch eine chromophore Gruppe eingeführt, die eine Detektion im UV ermöglicht. Diese Derivate lassen sich auch sehr gut ohne Basenzusatz im negativen Modus (Elektrospray oder APCI) detektieren, da sie eine starke Säure bilden (einfach geladen). Auch der derivatisierte Alkohol ist nun gut detektierbar. Einen großen Nachteil stellt jedoch die Neigung der Verbindung, die zwei Carboxylgruppen besitzt, zur Decarboxylierung im Elektrospray dar. Es kommt trotz der sanften Überführung der Moleküle in die Gasphase zu einer Abspaltung von CO₂, welches gerade die Masse 44 besitzt. Die Ethoxymeren unterscheiden sich im Massenspektrum gerade um die Masseneinheit 44. Dies bedeutet, daß das Zersetzungsprodukt des Derivats von beispielsweise C12E5 genau die gleiche Masse wie das Derivat von C12E4 hat.

Tabelle 8: Derivatisierungen für die LC/FIA-MS im negativen Modus

 <p>Trimellit- säureanhydrid</p>	<p>AEO</p>	$\xrightarrow[5\text{ h}]{100\text{ }^\circ\text{C}}$	 <p>TA-Derivat</p>
<p>Vorteile: UV-Aktivität starke Säure = gute Detektion im Elektrospray</p>		<p>Nachteile: schlechte Chromatographierbarkeit Abspaltung von CO₂ (= m/z 44)</p>	
 <p>Sulfobenzoe- säureanhydrid</p>		$\xrightarrow[20\text{ min}]{70\text{ }^\circ\text{C}}$	 <p>SBA-Derivat</p>
<p>Vorteile: UV-Aktivität starke Säure = gute Detektion im Elektrospray</p>		<p>Nachteile: schlechte Chromatographierbarkeit (Umkehr der Elutionsreihenfolge) Ionenpaar-Reagenz nötig (jedoch oft nicht MS-kompatibel, hohes Rauschen)</p>	
 <p>Phthalsäure- anhydrid</p>		$\xrightarrow[5\text{ h}]{100\text{ }^\circ\text{C}}$	 <p>PA-Derivat</p>
<p>Vorteile: UV-Aktivität schwache Säure = gute Chromatographie mit „Ionenunterdrückung“</p>		<p>Nachteile: Detektion im Elektrospray nur bei basischem pH (Zugabe von NH₃ postcolumn)</p>	
 <p>Maleinsäure- anhydrid</p>		$\xrightarrow{\Delta}$	 <p>MA-Derivat</p>
 <p>Glutarsäure- anhydrid</p>		$\xrightarrow{\Delta}$	 <p>GA-Derivat</p>

Um eine mögliche Abspaltung der Masse 44 gänzlich zu vermeiden, wurde ein Derivatisierungsreagenz getestet, welches keine Carboxyl- sondern Sulfonsäuregruppen

aufweist. Diese Eigenschaften wurden beim Sulfobenzoesäureanhydrid (Tabelle 8) gefunden. Die resultierenden AEO-Derivate stellen ebenfalls starke Säuren dar, und werden damit im negativen Modus empfindlich detektiert. Sie sind auch stabil und spalten kein SO_3 -Teilchen ab. Der Vorteil der starken Säure bei der Detektion ist andererseits ein Nachteil bei der HPLC. Durch den stark ionischen Charakter wird an einer RP-Phase die Elutionsreihenfolge umgekehrt und die Chromatographie hinsichtlich Peakform und Trennvermögen stark verschlechtert. Eine zufriedenstellende Trennung ist bei den Trimellitsäure- und Sulfobenzoesäurederivaten nur mit Ionenpaarreagenzien möglich. Diese sind aber oft nicht MS-kompatibel, da viele nicht ausreichend flüchtig sind und generell eine stark verrauschte Basislinie erzeugen.

Um eine mögliche Ionenpaarchromatographie zu vermeiden, wurde Phthalsäureanhydrid als ein weiteres Derivatisierungsreagenz getestet. Ester der Phthalsäure (kurz: PA-Derivate) neigen nicht zur Decarboxylierung wie die Ester der Trimellitsäure und stellen im Gegensatz zu Estern letzterer oder der Sulfobenzoesäure schwache Säuren dar. Diese lassen sich gut chromatographieren, wenn man mit Ionenunterdrückung in der HPLC arbeitet. Das bedeutet, daß man den pH-Wert des Eluenten soweit erniedrigt, daß die schwache Säure undissoziiert vorliegt. Zur Detektion mittels Elektrospray muß dann allerdings der pH-Wert wieder erhöht werden, z.B. durch die postcolumn-Zugabe von NH_3 . Dann liegt das Derivat wieder dissoziiert vor und kann gut im negativen Modus detektiert werden. Eine andere Möglichkeit ist die chemische Ionisierung mittels APCI. In diesem Fall kann auf die Basenzugabe postcolumn verzichtet werden. Die PA-Derivate sind zudem UV-aktiv und erlauben bei der HPLC eine gleichzeitige UV-Detektion durch Leitung des Eluates durch den zerstörungsfreien UV-Detektor vor der MS-Detektion.

4.7.4.1 Durchführung der Derivatisierung

Die Derivatisierung wird im Mikromaßstab in 1,5 mL-Samplerfläschchen nach der Derivatisierungsvorschrift für Trimellitsäureanhydrid modifiziert nach Barry et al. (1998) durchgeführt. Ca. 0,1 mmol technisches AEO-Gemisch werden abgewogen, mit 0,5 mL frisch hergestellter 1 mol/L Trimellitsäureanhydrid-, Phthalsäureanhydrid- oder Sulfobenzoesäureanhydrid-Lösung in THF versetzt, vermischt, verkappt und das Gemisch bei der TA- und PA-Derivatisierung 5 h im Trockenschrank auf 100°C erhitzt. Bei der SBA-Derivatisierung wird nur 20 min auf 70°C erhitzt, da sonst eine Zersetzung eintritt.

zeigt der visuelle Vergleich, daß alle Oligomere einen ähnlichen Responsefaktor aufweisen, da das Maximum der Verteilung bei dem erwarteten EO-Grad von ca. 4 liegt.

4.7.5 Optimierung der Detektion der Derivate

Auch für die PA-Derivate wurden zur optimalen Detektion die massenabhängigen Cone-Spannungs-Einstellungen experimentell bestimmt. Abbildung 72 zeigt daß auch hier eine lineare Abhängigkeit besteht, die für eine Cone-Spannungsrampe genutzt werden kann. Die C12-Ethoxymere zeigen hier ebenfalls leicht kleinere optimale Cone-Spannungen. Die Signale sind stabiler, wodurch die manuelle Bestimmung des optimalen Wertes zu einer besseren Korrelation der linearen Abhängigkeit führte (vgl. Abbildung 66).

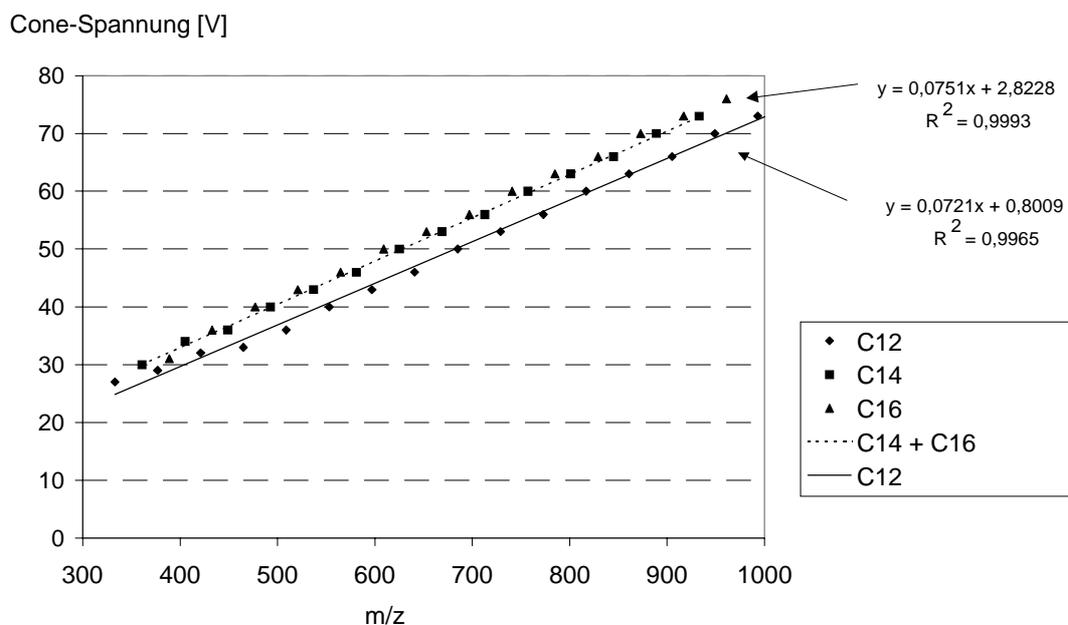


Abbildung 72: Signaloptimierung mit Cone-Spannung. Auftragung der optimierten Cone-Spannung gegen das Masse/Ladungsverhältnis des Ions. FIA-MS von PA-Derivaten von Brij 30-Oligomeren, Elektrospray, negativ

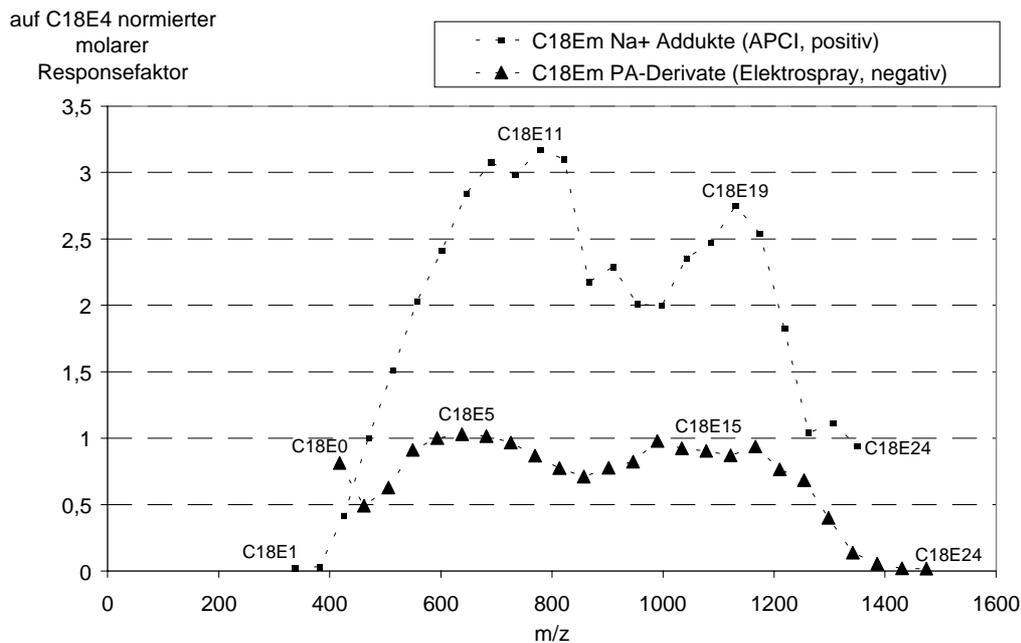


Abbildung 73: Normierte molare Responsefaktoren von mit PA derivatisierten Brij 76-Ethoxymyeren; FIA-MS, Elektrospray negativ, Cone: Rampe 21 - 115 V (bei m/z 240 - 1500) n = 2; im Vergleich zur Detektion der underivatisierten Na⁺-Addukte FIA-MS, APCI positiv, Cone: 23 -198 V (m/z 240 - 1500). Stoffmengen auf der Basis der NP-NH₂-HPLC-UV-Quantifizierung, n = 3

Eine Untersuchung des molaren Responsefaktors unter den optimierten Detektionsbedingungen der Cone-Spannungsrampe für Brij 76 erbrachte eine deutliche Verbesserung der Abweichung der Werte untereinander (Abbildung 73). Jedoch wurden auch hier zwei Maxima der Werte bei PA-C18E5 und PA-C18E15 sowie ein starker Abfall der Empfindlichkeit zu höheren EO-Graden deutlich. Die Ergebnisse konnten mit anderen zuvor durch HT-GC-AED charakterisierten technischen AEO-Gemischen bestätigt werden. Die Tendenz des Kurvenverlaufs ist somit unabhängig davon, ob APCI oder Elektrospray angewendet wurde oder Adduktbildung bzw. keine Adduktbildung vorlag. Der Kurvenverlauf mit den zwei Maxima ist jedoch nach Abbildung 73 eindeutig abhängig von der Masse. Dieser Sachverhalt läßt sich nur mit unterschiedlichen Empfindlichkeiten des Massenspektrometers für bestimmte Massen z.B. einem elektronischen Problem erklären. Offensichtlich ist auch die Cone-Spannungsrampe nicht in der Lage, gleiche Bedingungen für jedes Ion - unabhängig von seiner Masse - zu schaffen, so daß jede Masse mit der gleichen Empfindlichkeit detektiert wird. Inwieweit nur die Detektion oder auch die Derivatisierung bzw. Aufarbeitung der Derivate oder beide die Ursache für die schwankenden Responsefaktoren sind, wurde im folgenden näher untersucht. Mit der FIA-MS von derivatisierten Gemischen **ohne** Aufarbeitung wurden die gleichen Ergebnisse gefunden. Der Überschuß des

nicht abgetrennten Derivatisierungsreagenzes führt lediglich zu einer erniedrigten Gesamtempfindlichkeit mit hohem Rauschen. Daher konnte eine Diskriminierung von Analyten durch die Aufarbeitung ausgeschlossen werden. Da die PA-Derivate auch UV-aktiv sind, kann mit einer HPLC-UV-Bestimmung überprüft werden, ob die Derivatisierung aller Komponenten mit der gleichen Ausbeute verläuft. Mit PA derivatisierte Gemische lassen sich jedoch weder an NP- noch an RP-Phasen nach ihrem Ethoxylierungsgrad auftrennen. Es gelingt nur die Auftrennung nach der Kettenlänge des Alkylrestes mit einem Methanol-Wasser-Gradient an Umkehrphasen. Die zusätzliche Carboxylgruppe macht die Verbindungen (auch im undissoziierten Zustand) polarer. Daher wurden Standardsubstanzen C12E0 bis C12E9 einzeln eingewogen, mit PA derivatisiert und einzeln mit RP-HPLC-UV bei 210 nm untersucht. Dabei wird wie im Abschnitt 4.5.4 davon ausgegangen, daß bei der UV-Detektion eine einzelne identische chromophore Gruppe im Molekül einen molaren Response liefert. Abbildung 74 zeigt die jeweils auf C12E4 normierten Responsefaktoren im Vergleich. Dabei wird deutlich, daß offensichtlich die niedrig ethoxylierten Verbindungen bis EO 5 schlechter umgesetzt werden. Eine Ausnahme bildet dabei der Alkohol, der sehr empfindlich detektiert wird. Ab EO 5 scheint die Derivatisierungsausbeute gleich groß zu bleiben. Da jedoch keine Reinsubstanzen mit $EO > 9$ vorliegen, kann über den weiteren Verlauf der Kurve nur spekuliert werden. Auffällig ist, daß die unterschiedlichen Empfindlichkeiten der MS-Detektion hier überlagernd verstärkend auftreten: die niedrig ethoxylierten Verbindungen bis EO 5 werden im Vergleich unempfindlicher detektiert, Verbindungen mit EO 5 bis 7 zeigen ein Maximum und Verbindungen mit $EO > 8$ werden wieder deutlich unempfindlicher detektiert, was mit der Responsefaktorkurve in Abbildung 73 übereinstimmt. Es kommt also zu überlagernden Effekten, genauso wie bei der positiven Detektion von Kationaddukten, bei denen ebenfalls eine Strukturabhängigkeit bei der Bildung des Adduktes die Empfindlichkeit der Detektion überlagernd beeinflusst.

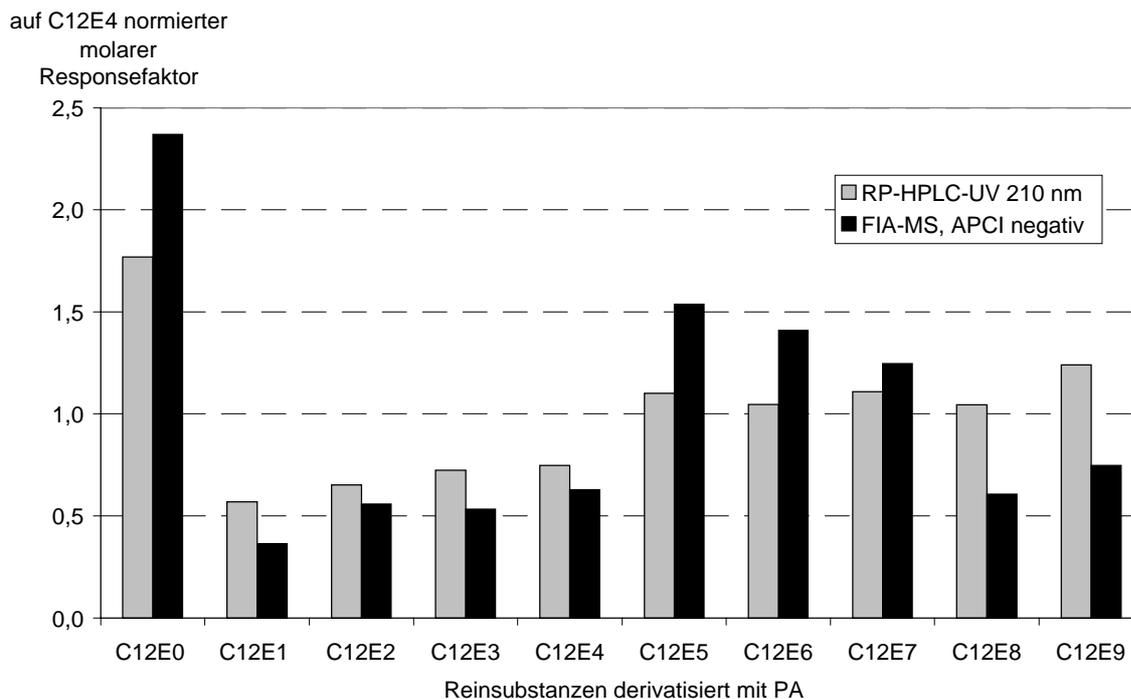


Abbildung 74: Normierte molare Responsefaktoren von mit PA derivatisierten AEO-Reinsubstanzen; Detektion im UV (210 nm) nach RP-HPLC im Vergleich zur Detektion mit FIA-MS, APCI, negativ, Cone: Rampe 25 - 67 V (bei m/z 300 - 1000); n = 2

Die Problematik der schlechteren Umsetzung der niedrig ethoxylierten Verbindungen mit dem Derivatisierungsreagenz wurde versucht zu ergründen, indem die Reaktionsbedingungen verändert wurden. Längere Reaktionszeiten, höhere Temperaturen und Katalysatoren wie Pyridin nach Longman (1975) bzw. Pyridin und Imidazol nach Wallingford (1996) brachten nicht den gewünschten Erfolg, sondern lieferten unreproduzierbare Ergebnisse sowie Nebenprodukte. Auch die Derivatisierung mit ähnlichen Reagenzien wie Maleinsäureanhydrid und Glutarsäureanhydrid (Tabelle 8), die eine Ringöffnung erlauben, zeigte keine besseren Ergebnisse. Maleinsäureanhydrid wird ebenfalls zur Herstellung der amphoteren Tenside Sulfosuccinate verwendet. Der erste Schritt zur Herstellung dieser Tenside ist die Reaktion von AEO mit Maleinsäureanhydrid. Dazu wurde bei Hoffmann (1963) bereits der Hinweis gefunden, daß Veränderungen der Reaktionstemperatur von wenigen Graden bzw. der Reaktionsdauer oder der Verhältnisse der eingesetzten Komponenten mitunter zu stark abweichenden Endprodukten führen! Es kann dabei zur Bildung von Diestern und weiteren Nebenprodukten kommen.

Unter dem Gesichtspunkt, daß selbst bei dem erreichten Ziel einer vollständigen Umsetzung aller Oligomeren bei der Derivatisierung, das Geräteproblem der unterschiedlichen

Empfindlichkeiten bei der Massendetektion bestehen bleibt, muß der Schluß gezogen werden, daß eine universelle Kalibrierung bei der FIA/LC-MS-Detektion mit dem vorhandenen Gerät nicht möglich ist.

Um den Fehler darzustellen wurde - unter Annahme eines universellen konstanten molaren Responsefaktors bei der FIA-MS - eine relative Bestimmung der Ethoxymereverteilung für mehrere technische AEO-Gemische (Brij 30, Emulsogen EP und Brij 76) nach Derivatisierung mit PA durchgeführt. Der Vergleich mit der jeweils gefundenen Verteilung mittels HT-GC-AED bzw. NP-NH₂-HPLC-UV zeigt bei Brij 30 noch eine ausreichende Korrelation (Abbildung 75), bei Emulsogen P (Abbildung 76) und Brij 76 (Abbildung 77) jedoch deutliche Abweichungen bei geringer Reproduzierbarkeit der Ergebnisse.

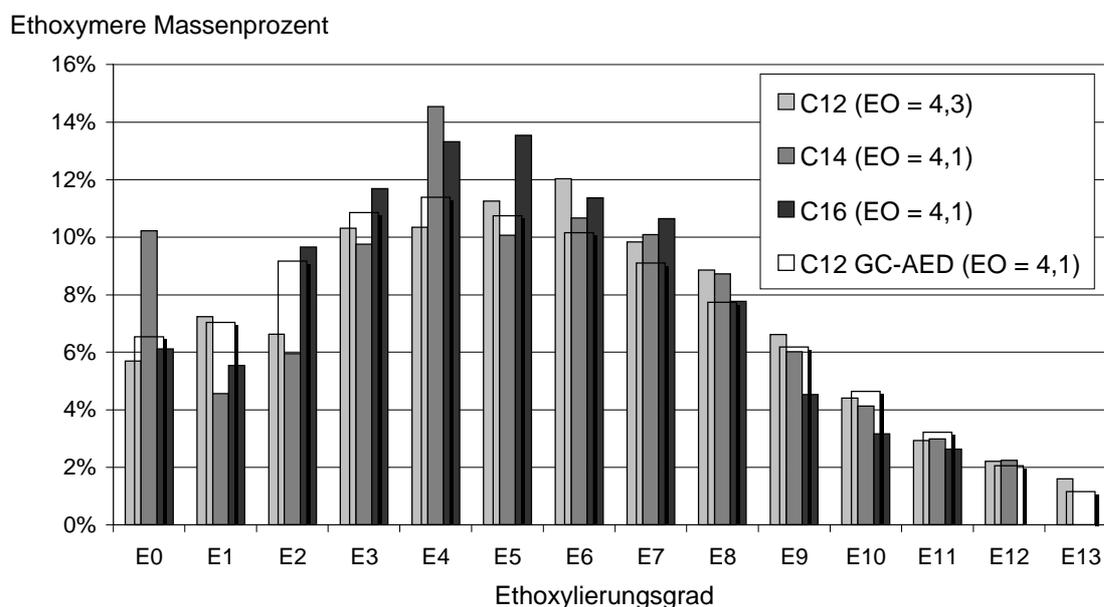


Abbildung 75: Prozentuale Ethoxymereverteilung von Brij 30 bestimmt durch universelle Kalibrierung mittels FIA-MS, Elektrospray negativ nach Derivatisierung mit PA. Parameter der FIA-MS-ESI negativ Messung siehe Anhang D. Parameter der GC-AED-Messung siehe Anhang A, Injektion: KAS

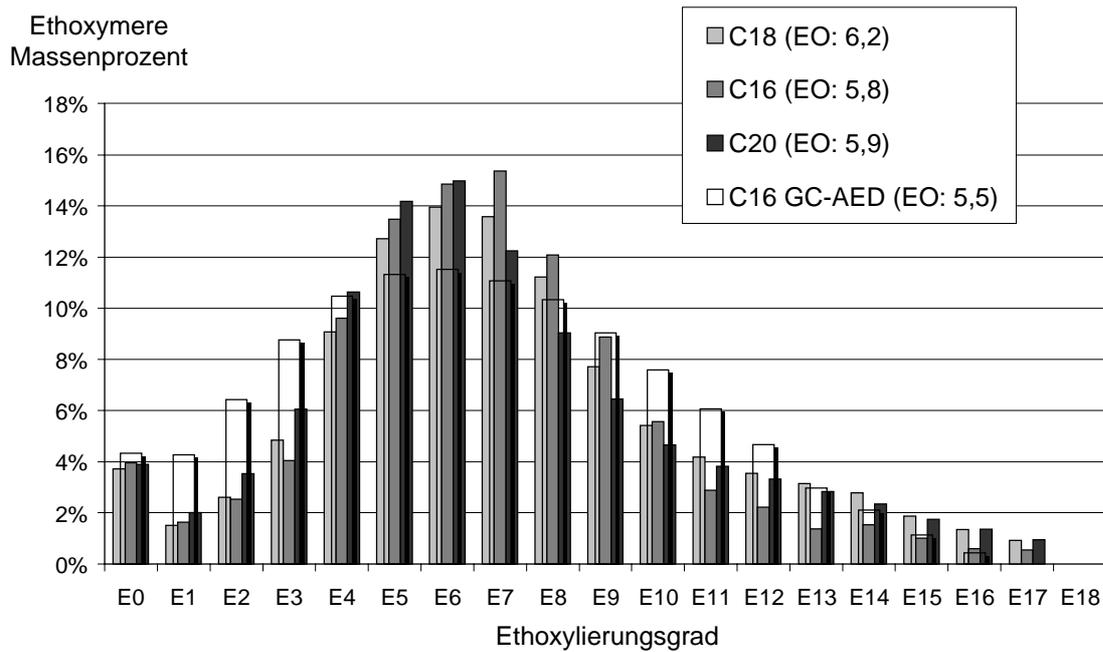


Abbildung 76: Prozentuale Ethoxymereverteilung von Emulsogen P bestimmt durch universelle Kalibrierung mittels FIA-MS, Elektrospray, negativ, nach Derivatisierung mit PA. Parameter der FIA-MS-ESI negativ Messung siehe Anhang D. Parameter der GC-AED-Messung siehe Anhang A. Injektion: KAS

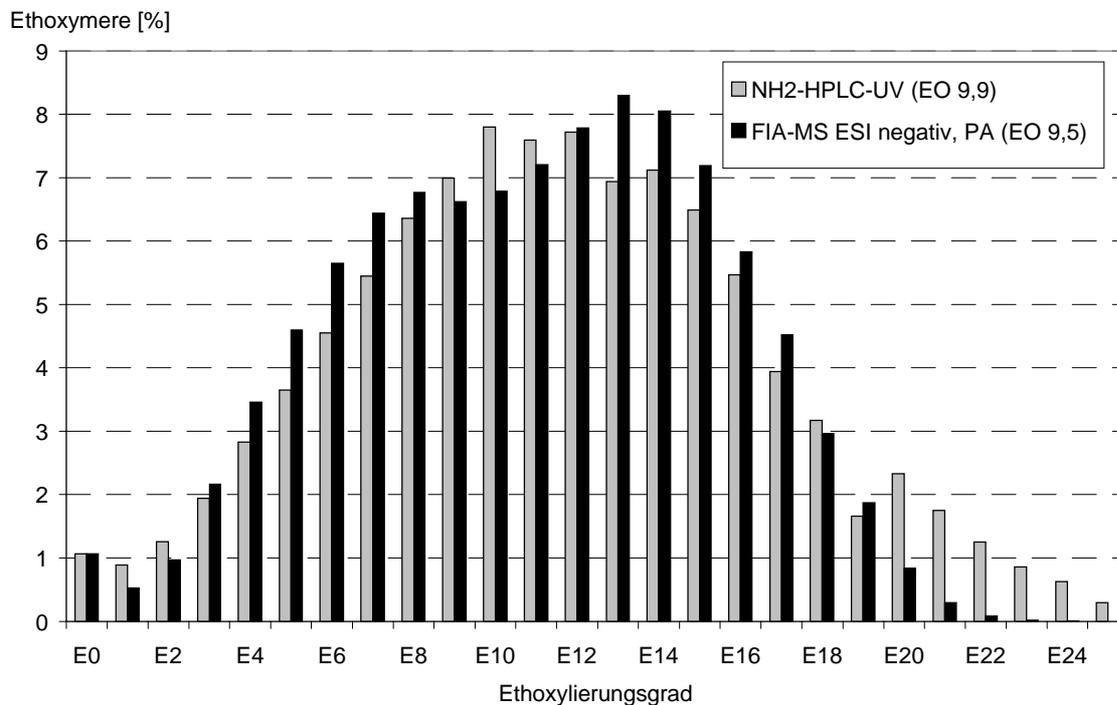


Abbildung 77: Prozentuale Ethoxymereverteilung von Brij 76 bestimmt durch universelle Kalibrierung mittels FIA-MS, Elektrospray, negativ, nach Derivatisierung mit PA. Parameter der FIA-MS-ESI-negativ-Messung siehe Anhang D. Parameter der HPLC-UV-Messung siehe Anhang C

5 EXPERIMENTELLER TEIL: ERGEBNISSE UND DISKUSSION

5.1 Charakterisierung technischer AEO-Gemische

5.1.1 Brij 30 (Sigma-Aldrich, Deisenhofen)

Mit diesem technischen AEO-Gemisch wurde kein Datenblatt mitgeliefert. Die Katalogangaben des Vertriebes sowie die Bezeichnung auf der Verpackung lauten Polyoxyethylene 4 Lauryl Ether (Brij 30), C12E4 mit der Lot-Nummer 16H0046. Aus diesen Angaben geht hervor, daß der mittlere molare Ethoxylierungsgrad 4 beträgt. Die Recherche im Internet lieferte unter der Bezeichnung "Brij 30" die Synonyme POE(4.2)Laurylether sowie Laureth-4 (Quelle: <http://www.chemfinder.com>).

Die Chargen (Lot-Nummern) sind bei technischen AEO-Gemischen von äußerster Wichtigkeit, da die Alkylkettenverteilung von der Zusammensetzung der eingesetzten Rohstoffe (hier: Kokosfettchargen) abhängt (siehe 5.1.2).

Die von Sigma-Aldrich (Deisenhofen) bezogene Charge Brij 30 ist bei Raumtemperatur klar und flüssig. Nach Empfehlungen des Herstellers ist das technische Gemisch bei Raumtemperatur zu lagern. Lagerung bei tieferen Temperaturen führt zu einem Erstarren in weißlich pastöser Konsistenz. Da hier Inhomogenitäten vorliegen können, ist das Abwiegen des flüssigen bei Raumtemperatur gelagerten Gemisches vorzuziehen. Lagerung bei Raumtemperatur über drei Jahre, führt jedoch zu Abdampfverlusten der flüchtigeren Substanzen (vor allem C12E0 bis C12E3), so daß es im Laufe dieses Zeitraums zu einer Veränderung der Zusammensetzung des Gemisches gekommen ist (Abbildung 78). Dies hatte Auswirkung auf den mittleren molaren EO-Grad der C12-Homologen, der sich von 4,1 auf 4,4 steigerte. Da bei allen Experimenten die Referenz Brij 30 mittels HT-GC-AED neu vermessen und sich stets auf die aktuellen Werte bezogen wurde, stellt die Veränderung aber kein Problem dar. Die Reinheit des Gemisches wurde als ca. 100% und die mittlere Molmasse zu 376 g/mol (1997) bis 384 g/mol (1999) bestimmt.

Im Gegensatz zur Ethoxymereverteilung der C12-Ethoxymere hatte die Lagerung des Gemisches über diesen langen Zeitraum nur unmerkliche Auswirkungen auf die Alkylkettenverteilung des Gemisches (Abbildung 79).

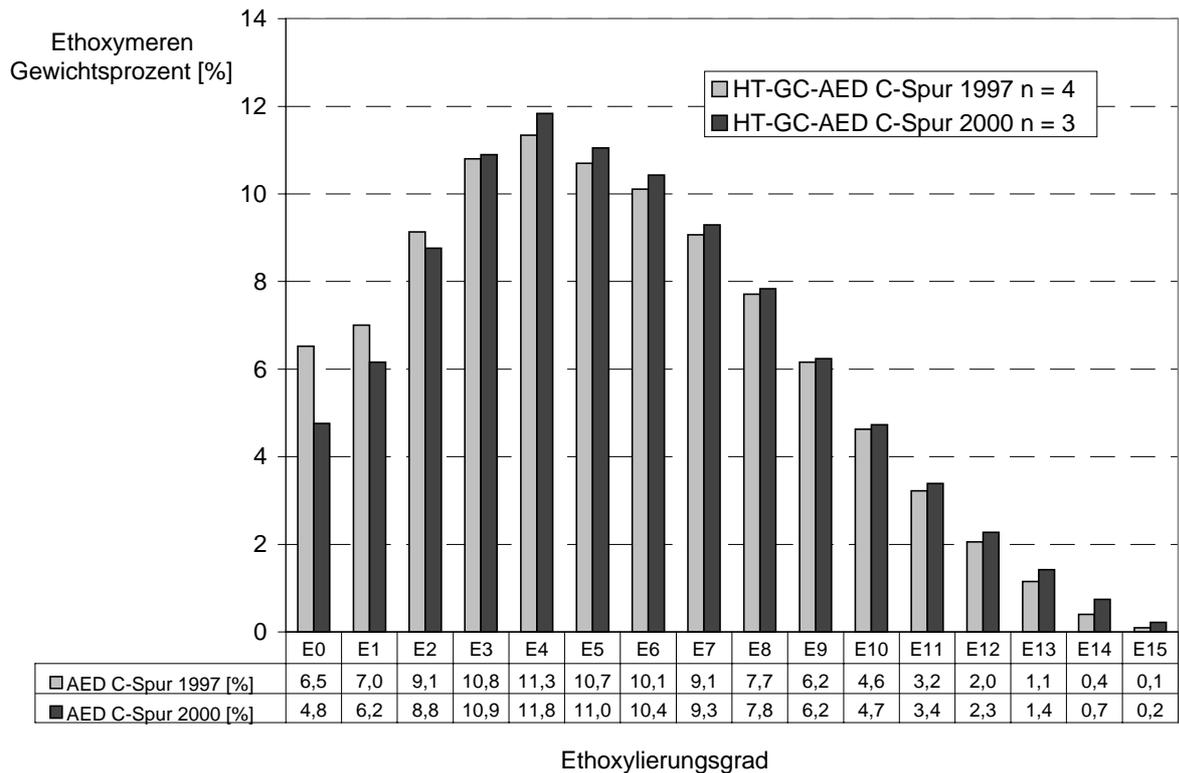


Abbildung 78: Veränderung der prozentualen Ethoxymereverteilung der C12-Ethoxymere von Brij 30 über einen Zeitraum von 3 Jahren. Parameter der Messung siehe Anhang A, Injektion: KAS

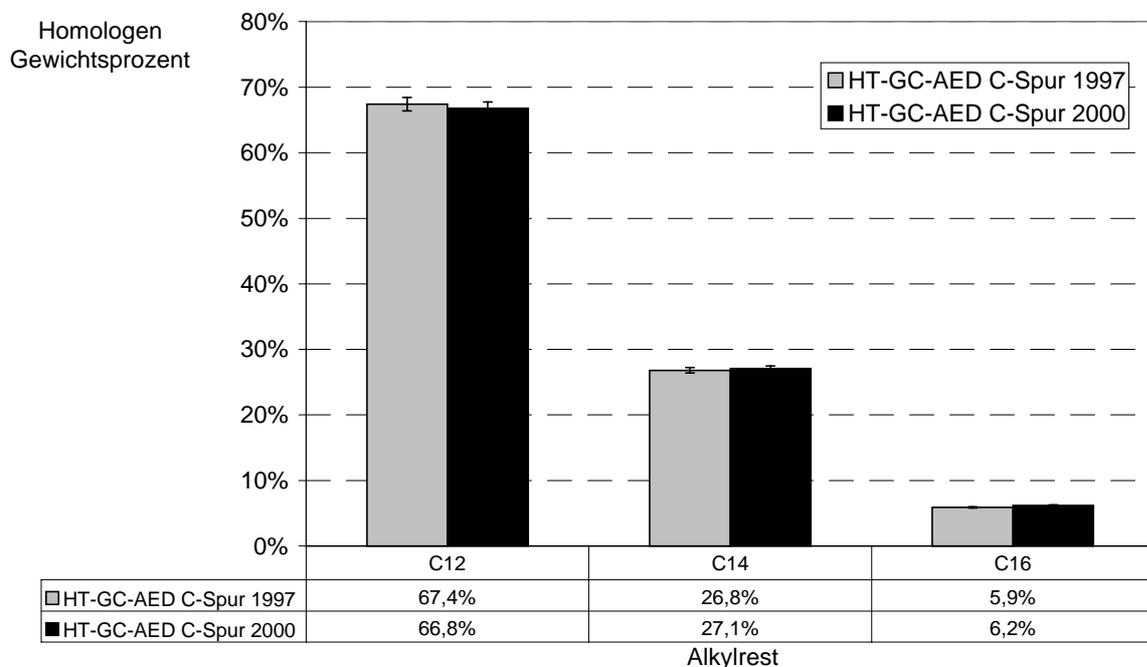


Abbildung 79: Vergleich der prozentualen Alkylkettenverteilung von Brij 30 mittels Messung in der HT-GC-AED Kohlenstoff-Spur über einen Zeitraum von 3 Jahren. Parameter siehe Anhang A, Injektion: KAS

In geringen Mengen (< 1%) wurden in Brij 30 auch Komponenten mit dem Alkylrest C10 gefunden. Die C10-Komponenten wurden jedoch in den Auswertungen generell nicht berücksichtigt, da die Integration dieser kleinen Peaks zu Werten führt, die stark vom Rauschen abhängig sind und bei Realproben nicht mehr dem tatsächlichen Wert entsprechen.

Vergleichende Darstellungen der Charakterisierung von Brij 30 mittels HT-GC-AED und Bromwasserstoffspaltung bzw. HPLC nach DNBC-Derivatisierung werden im Abschnitt 4.3 bzw. Abschnitt 4.5.4 beschrieben.

5.1.2 Brij 30 (Deutsche ICI GmbH, Essen)

Wenn nicht anders angegeben wurde die in 5.1.1 angegebene Charge von Brij 30 (Sigma-Aldrich, Deisenhofen) verwendet. Im Teilprojekt E3 und E4 des Sfb 193 wurde eine Brij 30-Charge (Chargen-Nr. 614453) direkt vom Hersteller, der Deutschen ICI GmbH (Essen) bezogen. Diese Charge wies hauptsächlich C12- (72,0%) und C14-Komponenten (27,2%) und nur zu geringen Anteilen C16 mit 0,5% und C10 mit 0,3% auf. Der mittlere molare Ethoxyierungsgrad wurde 4,0 (mittels HT-GC-AED der C12-Ethoxmeren) und die mittlere Molmasse 368 g/mol bestimmt.

5.1.3 Genapol UDD-079 (Hoechst, Frankfurt)

Zu diesem AEO-Gemisch, welches aus alten Beständen des Kooperationsprojekts E3 des Sfb 193 stammt, existiert kein offizielles Datenblatt. Es wurde vom Kooperationsprojekt als Undecylalkohol mit ca. 7 EO ausgewiesen. Die Bestimmung der Alkylkettenverteilung mittels HT-GC-AED ergab jedoch das Vorkommen der Alkylreste C9, C10 und C11 mit C10-Homologen als Hauptanteil (Abbildung 81) Dieses Ergebnis wurde durch FIA-MS und GC-MS-Untersuchungen bestätigt. Das Vorkommen von ungeraden Alkylresten weist auf eine petrochemische Herkunft hin. In solchen Gemischen können auch Komponenten mit verzweigt-kettigen Alkylresten vorkommen. Nach den GC-MS-Spektren der Alkohole, handelt es sich bei den Hauptkomponenten mit C9-, C10- und C11-Alkylketten um lineare Alkylreste. Die Retentionszeiten der kleinen Peaks im GC-Chromatogramm (Abbildung 80) konnten keinem linearen Alkylrest zugeordnet werden. Es kann sich dabei um Komponenten mit

verzweigt-kettigen Alkylresten handeln, was aber mangels entsprechender Standards nicht überprüft werden konnte.

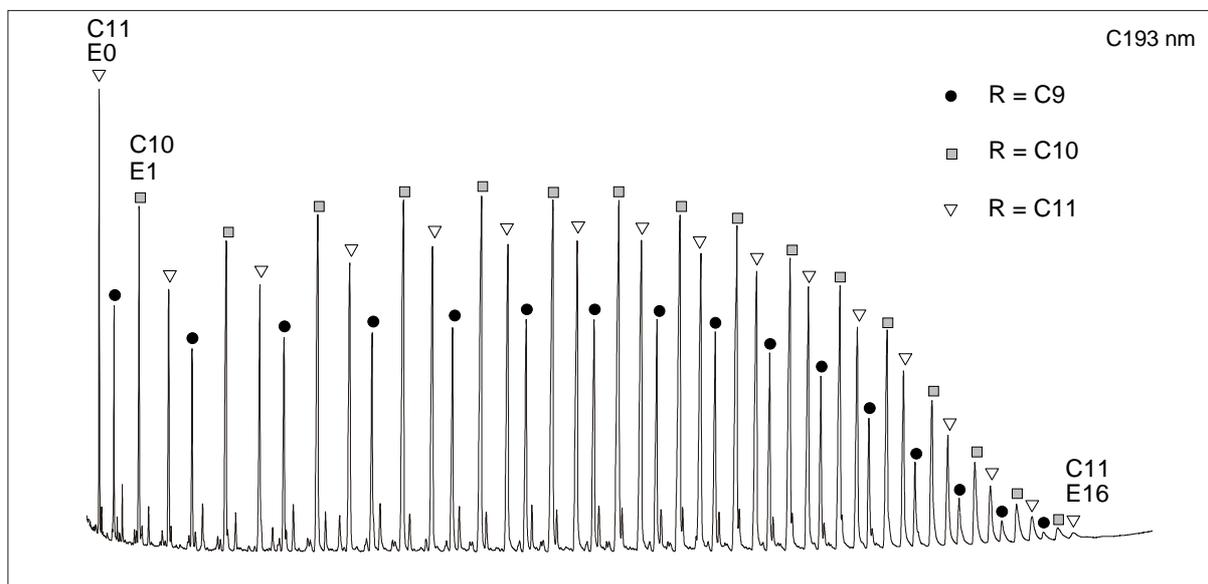


Abbildung 80: HT-GC-AED-Trennung von Genapol UDD-079 nach Silylierung (Kohlenstoff Spur bei 193 nm). Parameter siehe Anhang A, Injektion: KAS

Die Reinheit von Genapol UDD-079 ist ca. 90%ig, die Konsistenz ist flüssig und klar. Der mittlere molare EO-Grad von Genapol UDD-079 wurde zu 6,2 und die mittlere Molmasse zu 436 g/mol bestimmt. Unter Berücksichtigung der Reinheit beträgt die mittlere Molmasse 484 g/mol. Durch die relativ hohe Flüchtigkeit der Komponenten tritt beim Trocknen mit Stickstoff oder der Gefriertrocknung sehr schnell ein Verlust der leichter flüchtigen Komponenten und eine Veränderung der EO-Verteilung sowie Erhöhung des EO-Grades ein. Da es bei Lagerung bei Raumtemperatur auch zu einer Veränderung der Zusammensetzung kommt, ist es auch hier wichtig stets eine aktuelle Kontrolle mitzuführen. Ferner ist es wichtig wegen der hohen Flüchtigkeit einiger Komponenten die Kontrolle stets gleichartig zu behandeln (Standzeiten, Trocknungsdauer).

Die vergleichende Gegenüberstellung der gefundenen Ethoxymereverteilungen mittels HT-GC-AED und NP-HPLC-UV in Abbildung 82 wird für C11 und nicht für die Hauptkomponente C10 durchgeführt, da der C9- und C10-Alkohol aufgrund ihrer kurzen Retentionszeiten nicht mittels HT-GC-AED erfaßt werden können. Sie eluieren im Zeitfenster von 0 bis 4,3 min, bei dem über ein Ventil („solvent vent“) der Atomemissionsdetektor überbrückt wird, um das Plasma-Entladungsröhrchen vor einer Schädigung durch den

Lösungsmittelpeak zu schützen. Ein Mikroliter Lösungsmittel führt bereits zu Carbonisierungen der Wände des Entladungsröhrchens.

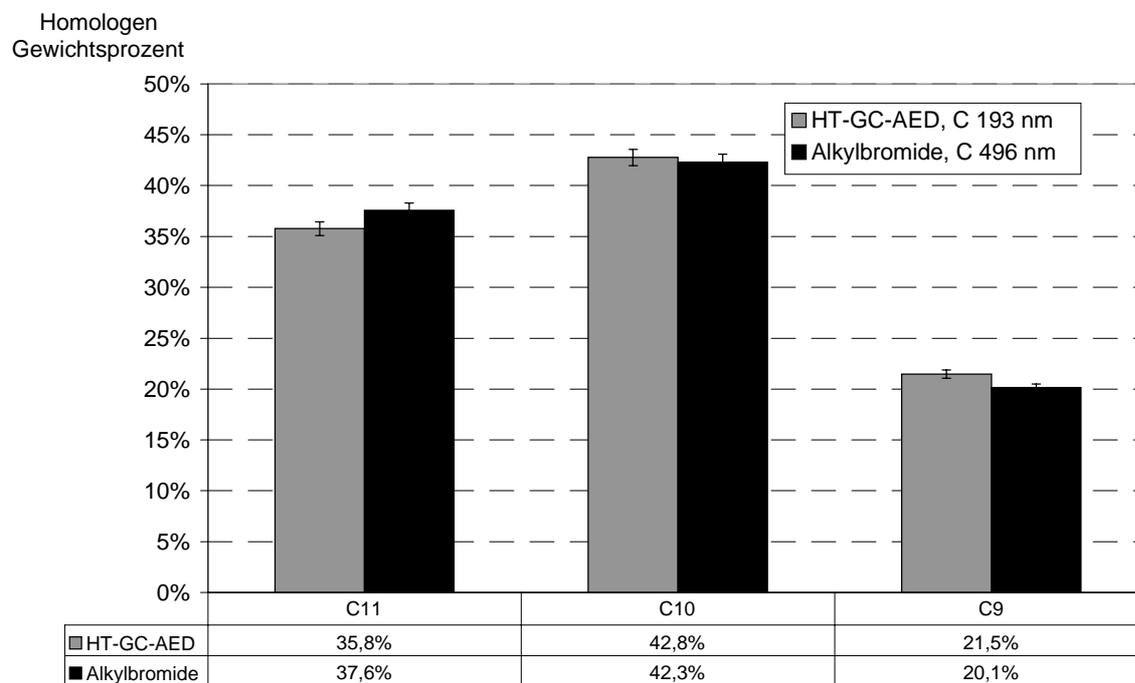


Abbildung 81: Vergleich der prozentualen Alkylkettenverteilung von Genapol UDD-079 durch Bestimmung der Silylderivate in der HT-GC-AED Kohlenstoff-Spur sowie durch Bestimmung der Alkylbromide nach Behandlung mit HBr. Parameter siehe Anhang A, Injektion: KAS

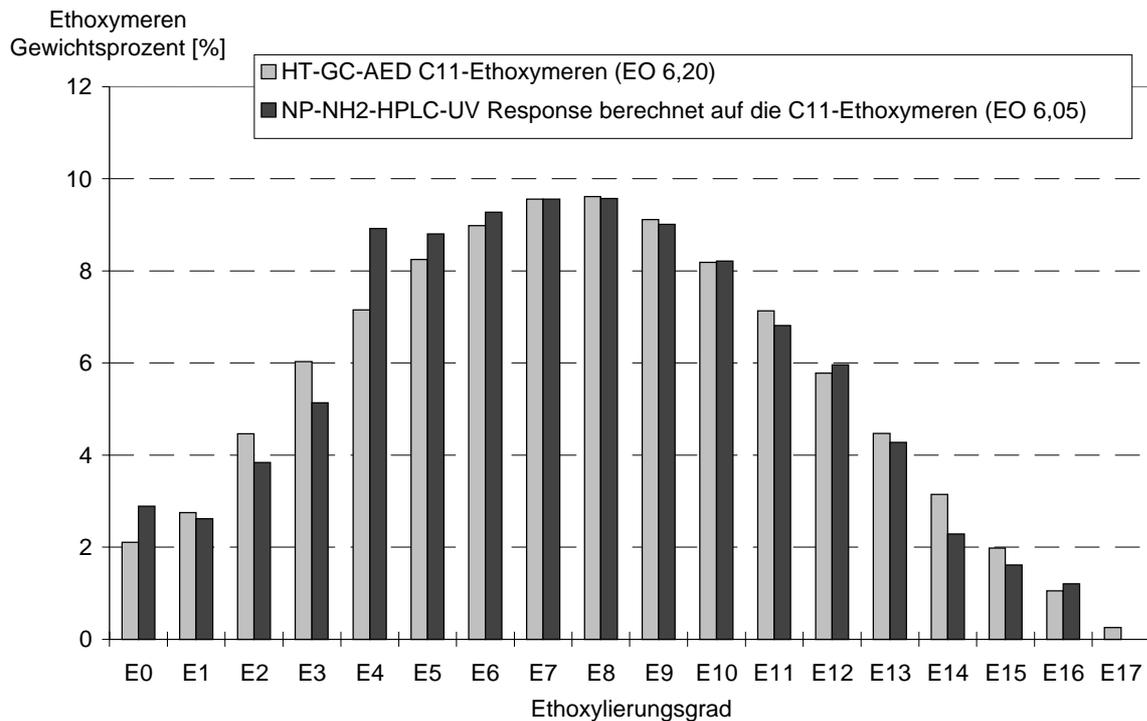


Abbildung 82: Vergleich der prozentualen Ethoxymereverteilung von Genapol UDD-079 mittels HT-GC-AED und NP-NH₂-HPLC-UV. Parameter der Messung siehe Anhang A und C

5.1.4 Emulsogen P (Henkel, Düsseldorf)

Zu diesem AEO-Gemisch, welches aus alten Beständen des Kooperationsprojekts E3 stammt, existiert ebenfalls kein offizielles Datenblatt. Es wurde vom Kooperationsprojekt als Fettalkoholpolyglykoether mit Kettenlängen C16-C20 ausgewiesen. Das Gemisch wurde nur zu Validierungszwecken der Festphasenextraktion eingesetzt. In den Teilprojekten wurde es nicht experimentell verwendet. Die Alkylkettenverteilung wurde zu 59,6% C16, 27,4% C18 und 13,0% C20 bestimmt. Die Reinheit beträgt ca. 100%.

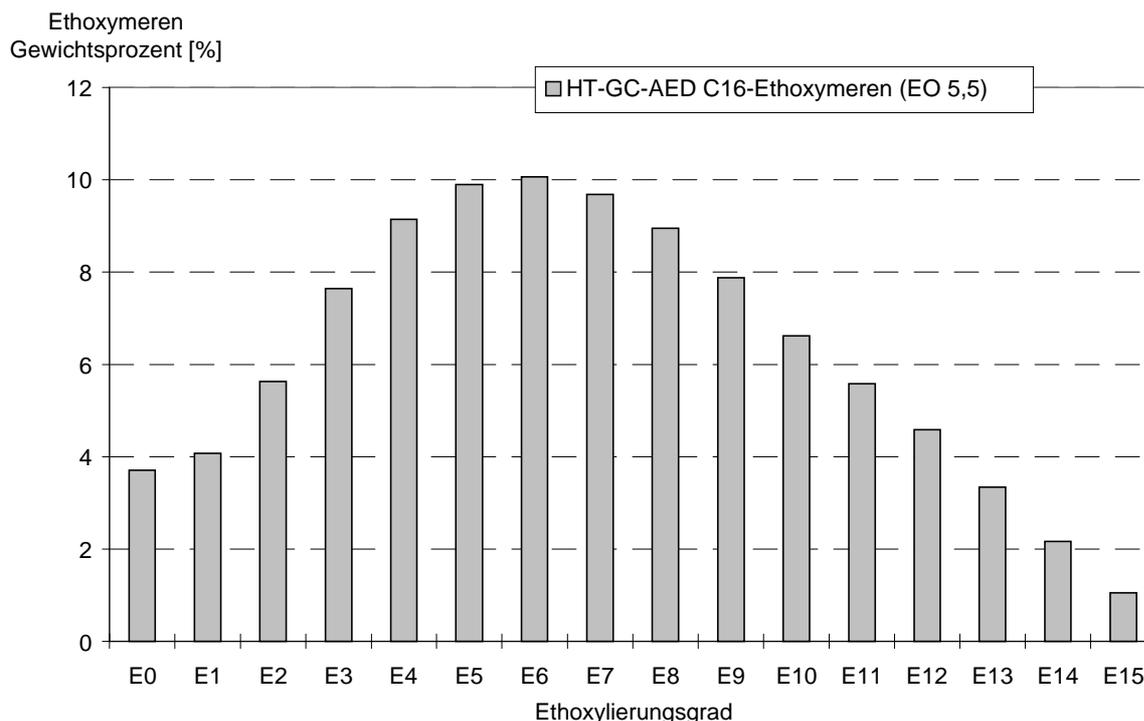


Abbildung 83: Prozentuale Ethoxymereverteilung von Emulsogen P mittels HT-GC-AED (C16-Ethoxymere). Parameter der Messung siehe Anhang A., Injektion: KAS

5.1.5 Eumulgin ET5 (Henkel, Düsseldorf)

Das mitgelieferte Datenblatt weist das technische AEO-Gemisch Eumulgin ET5 als Oleyl-Cetylalkohol mit ca. 5 EO aus. Die vom Hersteller angegebene Alkylkettenverteilung ist in der Tabelle in Abbildung 86 aufgeführt.

Eumulgin ET5 ist bei Raumtemperatur von fester, pastöser Konsistenz mit weiß-gelblicher Farbe. Da die Komponenten lange Alkylketten bei relativ niedrigem EO-Grad aufweisen, löst sich das Gemisch nicht vollständig in Wasser. Bei Suspendierung in Wasser erscheint die Trübung nicht homogen. Visuell ist die Inhomogenität als "wolkenartige Verdichtung" sichtbar. Es könnte sich dabei um teilkristalline Phasen handeln. Auch nach langem Rühren oder Ultraschallbehandlung erscheint die Suspension visuell nicht homogen. Die Analytik von Wasserproben aus den Kooperationsprojekten ist wegen der Unlöslichkeit von ET5 in Wasser problematisch. Durch inhomogene Entnahmen oder unterschiedliche Behandlung beim Suspendieren wurden in den einzelnen Zuläufen verschiedener Experimente leicht unterschiedliche Alkylkettenverteilungen gefunden. Diese Unterschiede können aber vernachlässigt werden, wenn die Zusammensetzung der Abläufe stets mit der Zusammensetzung des Zulaufs verglichen wird.

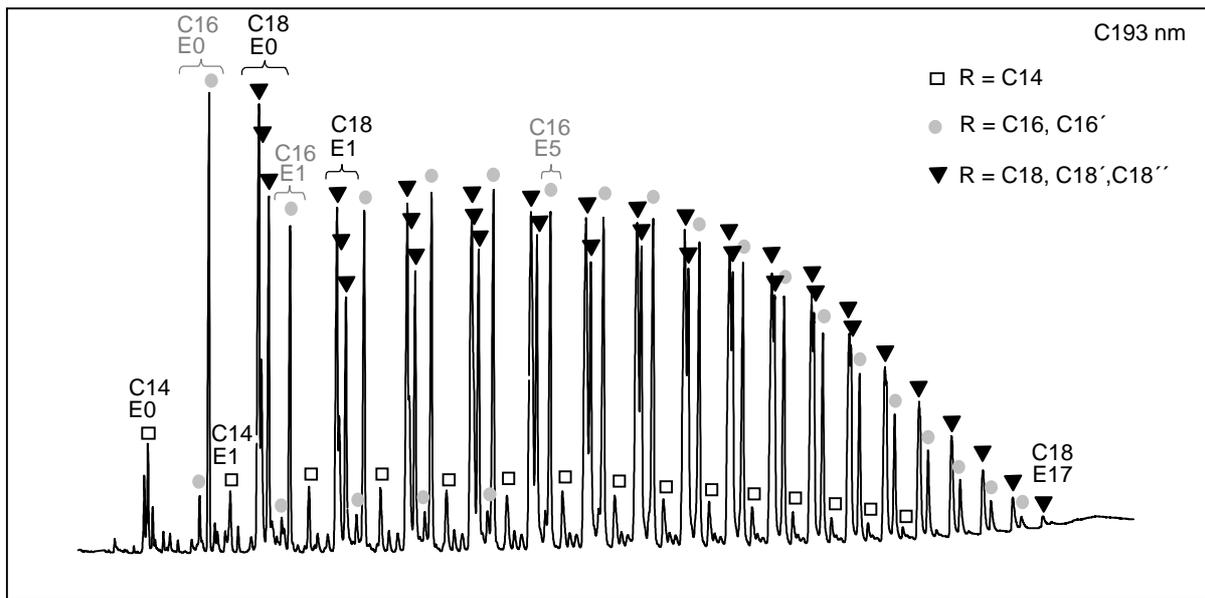


Abbildung 84: HT-GC-AED von Eumulgin ET5 nach Silylierung (Kohlenstoff-Spur bei 193 nm). Parameter siehe Anhang A, Injektion: KAS, C18' = einfach ungesättigt, C18'' = zweifach ungesättigt

Abbildung 84 zeigt das HT-Gaschromatogramm von Eumulgin ET5 nach Silylierung. AEO mit unterschiedlicher Anzahl an Doppelbindungen im gleichen Alkylrest können an der relativ unpolaren DB5-HT-Säule nur unzureichend getrennt werden. Die beste Trennung liegt bei den Alkoholen vor (Abbildung 85). Der Doppelpeak des Oleylalkohols (C18') begründet sich wahrscheinlich in der Antrennung zweier Isomeren. Möglich wäre die Auftrennung in delta-9- und delta-7-Isomeren in der Stellung der Doppelbindung (vom α -C-Atom aus gezählt), beide kommen bei der Ölsäure in natürlichen Fetten vor. Eine andere Möglichkeit wäre die Antrennung in cis- und trans-Isomer. Auf einer unpolaren Säule würden das delta-7- bzw. cis-Isomer zuerst eluieren (Perkins, 1991). Der Linoylalkohol (C18'') kann nicht vom Oleylalkohol (C18') abgetrennt werden.

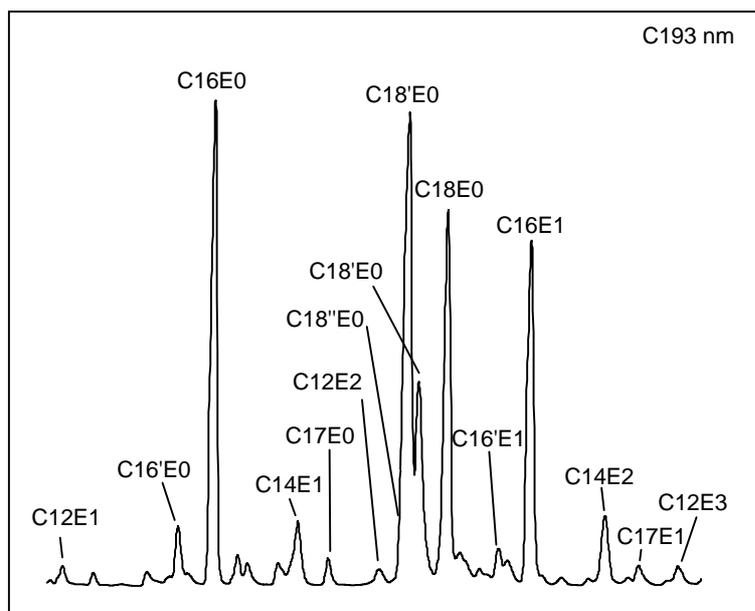


Abbildung 85: Alkohole von Eumulgin ET5. Vergrößerter Ausschnitt aus dem Gaschromatogramm von Abbildung 84

Aufgrund der Überlagerung der Peaks bei der HT-GC-AED ist die Bestimmung der Alkylkettenverteilung durch Aufsummierung aller Komponenten mit gleichem Alkylrest mit einem Fehler behaftet, da die schlechte Trennung einiger Komponenten zu unkorrekter Integration führt. In diesem Fall ist es günstiger die Alkylkettenverteilung aus dem Verhältnis der Alkohole (Abbildung 85), die am besten getrennt werden, zu bestimmen. Die ungesättigten Alkohole C18' und C18'' können nur als Summe erfaßt werden. Bei der Bromwasserstoffspaltung können reproduzierbare Ergebnisse ebenso nur in der Summe beider entsprechender Alkylbromide erzielt werden. Ein GC-MS-Chromatogramm der Alkylbromide findet sich in Abbildung 57.

Mit FIA-MS und RP-HPLC-MS wurde der C18''-Anteil zu ca. 3% bestimmt, dies entspricht dem mittleren Fettsäurespektrum von Rindertalg, welches im Mittel 4% C18'' enthält. Damit scheint die Herkunft von Eumulgin ET5 eindeutig.

Abbildung 86 zeigt die ermittelten Alkylkettenverteilungen verschiedener Bestimmungsmethoden im Vergleich mit dem Fettsäurespektrum von Rindertalg (Falbe, 1987a) und den Herstellerangaben zur Alkylkettenverteilung. Die im Vergleich zu anderen technischen AEO-Gemischen größeren Abweichungen ergeben sich durch die problematische Bestimmung der ungesättigten AEO mit beiden Bestimmungsmethoden und dem hohen Rauschen der Grundlinie bei der HT-GC-AED-Bestimmung. Dieses Rauschen entsteht durch weitere

Bestandteile wie PEG und führt zu fehlerhafter Peakintegration insbesondere der Minorkomponenten C12, C16' und C17 (Abbildung 85).

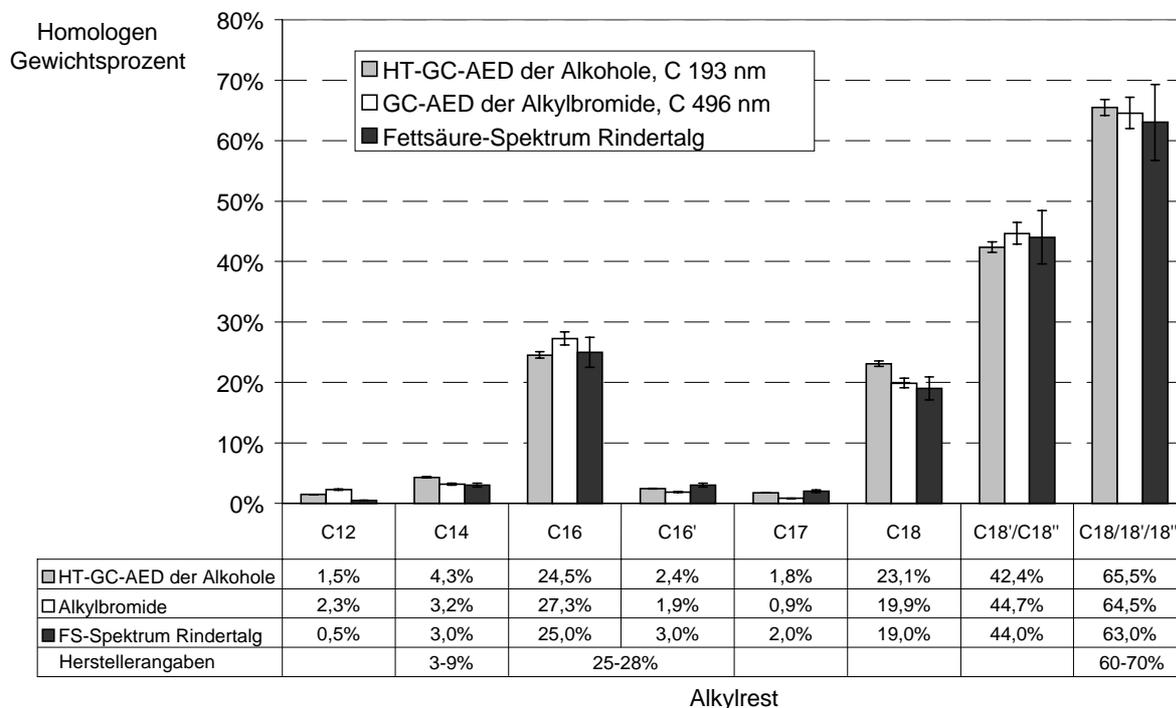


Abbildung 86: Vergleich der prozentualen Alkylkettenverteilung von Eumulgin ET5 durch Bestimmung der Alkylbromide nach Behandlung mit HBr, Bestimmung der Silylderivate in der HT-GC-AED Kohlenstoff-Spur und dem Fettsäurespektrum von Rindertalg (Falbe, 1987a). Parameter siehe Anhang A. Injektion: KAS

Die ungewöhnliche Alkylkettenlänge C17 rührt von „Margarinsäure“ her, welche trotz ungerader Anzahl der Kohlenstoffatome in Rindertalg natürlich vorkommend ist.

Eumulgin ET5 wurde als ca. 98%ig bestimmt. Die mittlere Molmasse beträgt 472 g/mol.

Die ermittelten Ethoxymereverteilungen anhand der C16-Homologen mit gas- und flüssig-chromatographischen Bestimmungsmethoden zeigen eine relativ gute Übereinstimmung wie in Abbildung 87 dargestellt.

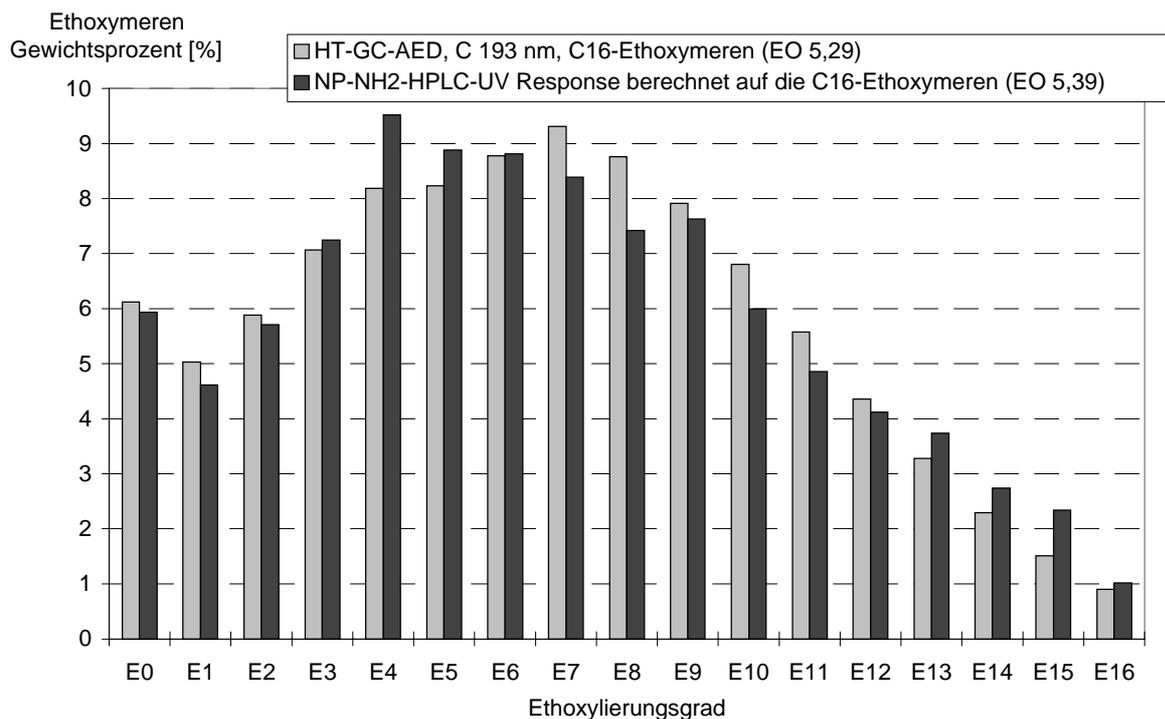


Abbildung 87: Prozentuale Ethoxymereverteilung von Eumulgin ET5. Parameter der GC-AED-Messung siehe Anhang A, HPLC-Messung siehe Anhang C

5.1.6 Höher ethoxylierte technische AEO-Gemische (Sigma-Aldrich, Deisenhofen)

Folgende hochethoxylierte AEO-Gemische wurden ebenfalls von Sigma-Aldrich (Deisenhofen) bezogen. Es wurden keine Datenblätter mitgeliefert.

Tabelle 9: Hochethoxylierte technische AEO-Gemische

Name	Chargenangabe
Brij 76 Polyoxyethylene 10 Stearyl Ether	Lot 76C0179
Brij 56 Polyoxyethylene 10 Cetyl Ether	Lot 113H00511

Diese AEO-Gemische weisen jeweils nur einen Alkylrest auf (C18 bzw. C16). Die Charakterisierung der Ethoxymereverteilung erfolgte über HPLC-UV nach Derivatisierung mit DNBC und wurden bereits in Abbildung 55 bzw. Abbildung 77 beschrieben.

5.2 Wäßrige Proben nach Anreicherung mittels physikalisch-chemischer Trennverfahren

Ein Hauptziel des Projektbereichs E des Sfb 193 der TU Berlin „Abwässer mit Tensiden“ stellt die Rückgewinnung von Tensiden aus Spülwässern ihrer Batch-Produktion dar. Zur Anreicherung der Tenside aus den Spülabwässern wird die Anwendung folgender physikalisch-chemischer Trennverfahren untersucht:

Membrantrennverfahren

(Sfb Teilprojekt E4)

Mehrstufige Schaumfraktionierung

(Sfb Teilprojekt E3a)

Adsorptions-/Desorptionsverfahren

(Sfb Teilprojekt E1)

Diese Verfahren können jedoch bei der Aufkonzentrierung der AEO eine Verschiebung der Oligomerenverteilung mit sich bringen. Dies können Veränderungen in der Alkylkettenverteilung oder in der Ethoxymereverteilung, d.h. eine Änderung des mittleren Ethoxylierungsgrades sein. Zur Überprüfung wurde daher die Zusammensetzung der AEO-Gemische in synthetischen Spülwässern vor und nach Anreicherung durchgeführt.

5.2.1 Membrantrennverfahren

Das Membrantrennverfahren wurde an Ultrafiltrationsmembranen anhand zweier verschiedener AEO-Gemische untersucht. Ausführliche Informationen zum Verfahren und den Parametern sind bei Goers (2000) beschrieben. Als Proben lagen wäßrige Lösungen in Form des Zulaufs sowie des Retentats (zurückgehaltene Lösung) und des Permeats (Durchlauf) vor. Die Wasserproben wurden mittels Flüssig-Flüssig-Extraktion gemäß Abschnitt 4.1.2.1 aufgearbeitet, gemäß Abschnitt 4.3.1.1 mit BSTFA derivatisiert und mittels HT-GC-AED gemäß Anhang A untersucht. Zur Absicherung wurde eine Untersuchung der Alkylbromide nach Gefriertrocknung der Proben und Bromwasserstoffsplaltung nach Abschnitt 4.6.1 durchgeführt.

Wie in Abbildung 88 und Abbildung 89 aufgezeigt, wiesen alle Proben innerhalb der experimentellen Schwankungsbreiten die gleiche Alkylkettenverteilung und mittleren Ethoxylierungsgrad auf, d.h. die Zusammensetzung des AEO-Gemischs wurde nach

Durchgang durch Ultrafiltrationsmembranen aus Polyvinylidendifluorid- und Polyethersulfon nicht verändert. Es wird somit keine ethoxymeren- oder homologenspezifische Permeation beobachtet. Dieses Resultat bestätigte Ergebnisse von Mavrov et al. (1996), die ebenfalls keine Veränderungen der Zusammensetzung von AEO-Gemischen nach Ultrafiltration an vier verschiedenen Membranen feststellten.

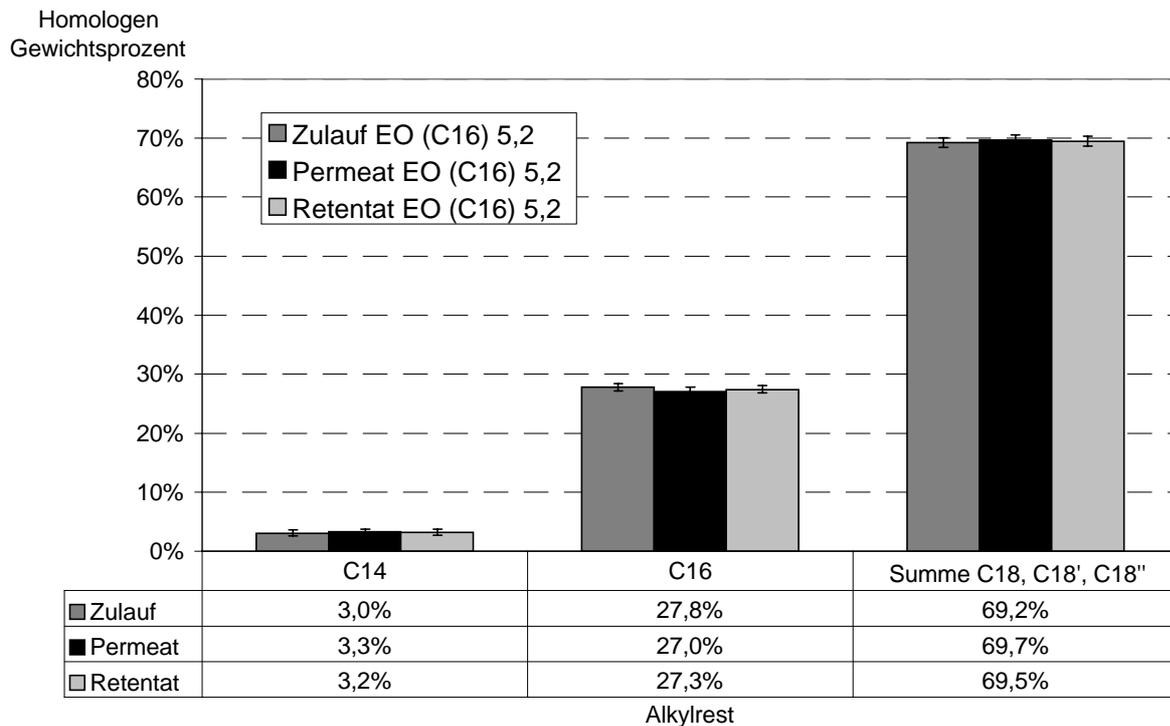


Abbildung 88: Vergleich der prozentualen Alkylkettenverteilung von Eumulgin ET5 vor und nach Durchgang durch eine Ultrafiltrationsmembran aus Polyvinylidendifluorid (Fa. Koch) mit einem CutOff von 10000 D; Zulaufkonz. 9 g/L, Retentatkonz. 18 g/L, Permeatkonz. 1 g/L. Berücksichtigt wurden nur C14, C16 und die Summe der gesättigten und ungesättigten C18-Komponenten, Minorkomponenten C12, C16' und C17 wurden nicht berücksichtigt

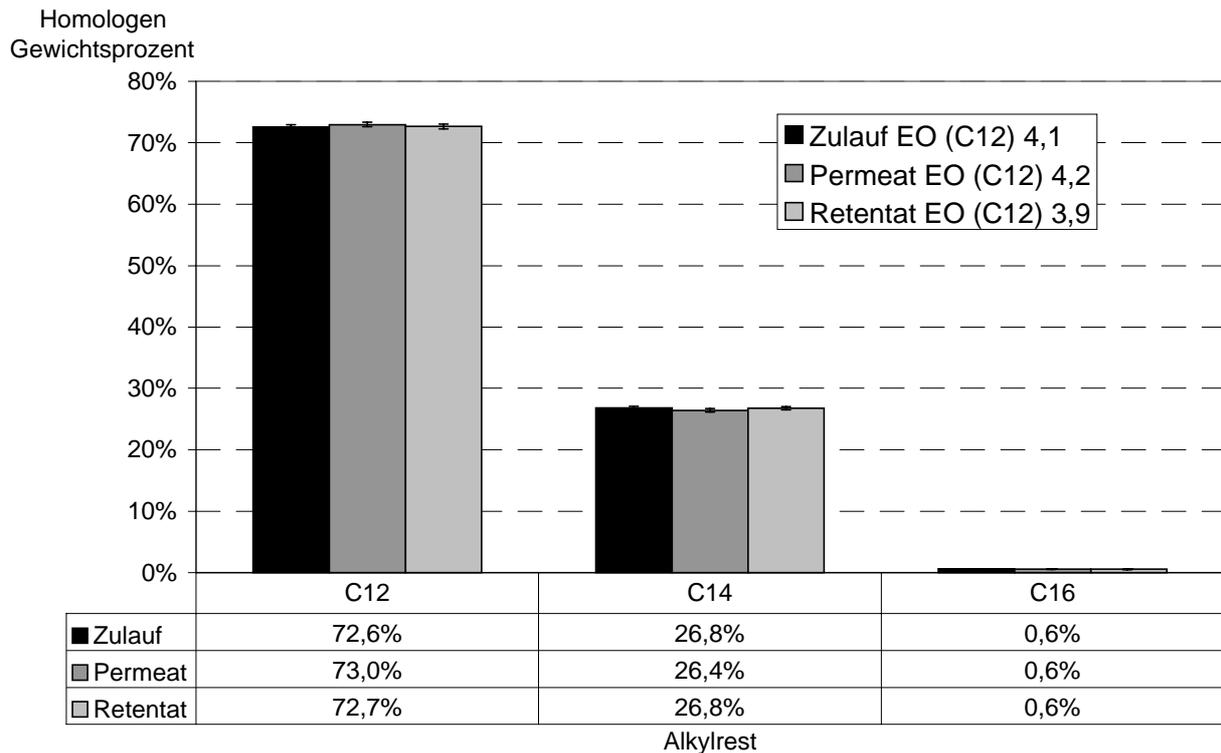


Abbildung 89: Vergleich der prozentualen Alkylkettenverteilung von Brij 30 (Deutsche ICI, Essen) vor und nach Durchgang durch eine Ultrafiltrationsmembran aus Polyethersulfon (Fa. Berghof) mit einem CutOff von 5000 D; Retentatkonz. 80 g/L, Permeatkonz. 0,2 g/L

5.2.2 Schaumfraktionierung

Bei der Schaumfraktionierung wird die Tatsache ausgenutzt, daß sich die grenzflächenaktiven Tensidmoleküle mit ihrem hydrophoben Teil an Oberflächen anlagern, z.B. bei Kollision mit einer Luftblase an deren Oberfläche. Durch Belüftung einer Tensidlösung entsteht so ein Schaum, in dem sich das Tensid anreichert. Durch Abtrennung und mechanische Schaumzerstörung wird anschließend eine konzentrierte Tensidlösung erhalten. Zurück bleibt der vom Tensid abgereicherte Klarlauf. Für nähere Informationen zum Verfahren und den Parametern sei auf Morgan und Wiesmann (1998, 2000) verwiesen.

In Kooperation mit TP E3a wurden ET5-, Brij 30- und Genapol UDD-079 Proben sowie Gemische aus Anreicherungsversuchen mittels ein- und mehrstufiger Schaumfraktionierung untersucht. Die Proben aus der Schaumfraktionierung wurden wie die Proben aus der Membrananreicherung im Abschnitt 5.2.1 aufgearbeitet und analysiert. Zusätzlich wurden die Ergebnisse mittels FIA-MS gemäß Abschnitt 4.7 überprüft.

Alle untersuchten AEO-Gemische zeigten nach der Behandlung eine Veränderung in der Zusammensetzung. Abbildung 90 zeigt am Beispiel der einstufigen Schaumfraktionierung von ET5 die Tendenz einer leichten Verschiebung innerhalb der Alkylkettenverteilung. So kommt es zu einer geringen Anreicherung der Isomeren mit kurzen Alkylketten (hier C14 und C16) im Schaum, während diejenigen mit langen Alkylketten (hier C18) leicht abgereichert werden. Da die Herstellerangaben zur Zusammensetzung von ET5 gleichfalls chargenbedingte Spannweiten zeigen (3-9% Myristylalkohol, 25-28% Cetylalkohol und 60-70% Oleylalkohol), ist fraglich, ob bei Eumulgin ET5 Veränderungen in diesem Ausmaß überhaupt Auswirkungen auf physikalische und chemische Anwendungseigenschaften haben. Proben aus der einstufigen Schaumfraktionierung von Brij 30 zeigten das gleiche Ergebnis. Beide technische AEO-Gemische Eumulgin ET5 und Brij 30 zeigen die gleiche Tendenz der Alkylkettenverschiebung, die sich im mehrstufigen Prozeß fortsetzt (Abbildung 91, am Beispiel von ET5).

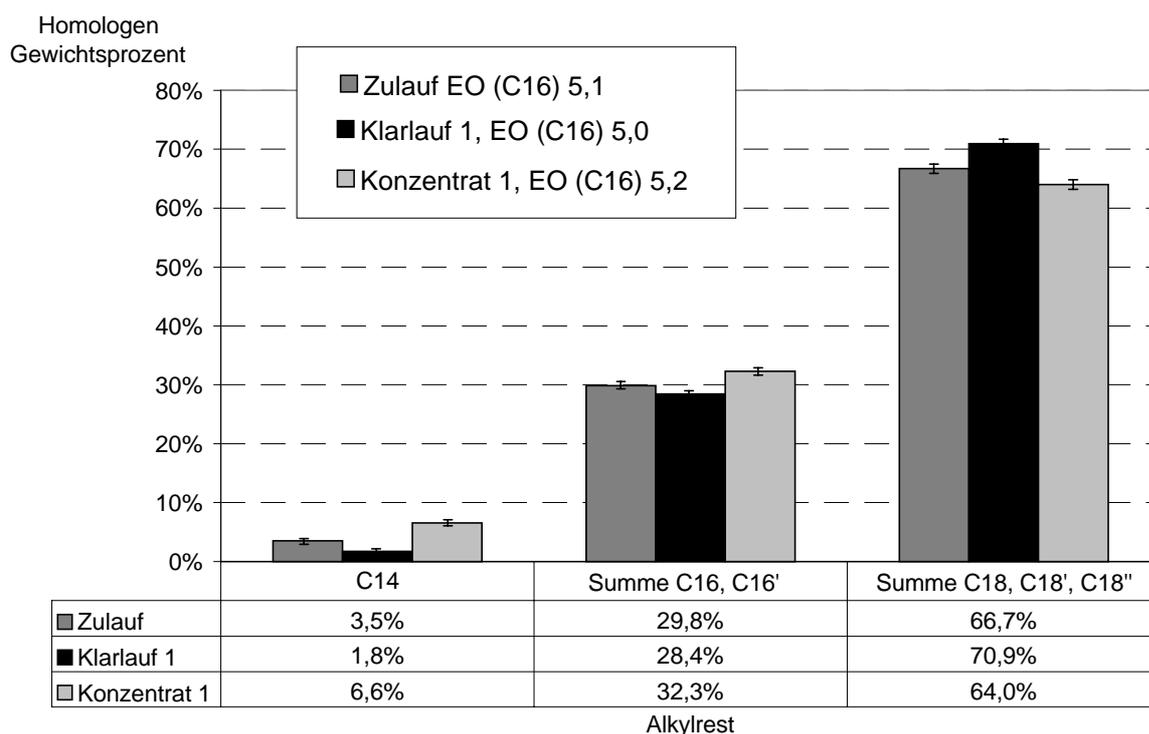


Abbildung 90: Veränderungen der prozentualen Alkylkettenverteilung von Eumulgin ET5 vor und nach der einstufigen Schaumfraktionierung, Luftvolumenstrom 20 L/h, Verweilzeit 1,5 h, Zulaufkonz. 1 g/L, Schaumkonz. 12,5 g/L, Aufkonzentrierung 12,5, Abreicherung 35%. Berücksichtigt wurden nur C14 und die Summe der gesättigten und ungesättigten C16- und C18-Komponenten, die Minorkomponenten C12, und C17 wurden nicht berücksichtigt

Auf Komponenten mit ungesättigten Alkylresten hat die Schaumfraktionierung deutlichere Auswirkungen (Abbildung 92). Ungesättigte Komponenten (Oleyl- und Linoylrest) lassen sich wesentlich besser ausschäumen und es kommt zu einer Abreicherung der Komponenten mit gesättigtem Alkylrest gleicher Kettenlänge (Stearylrest).

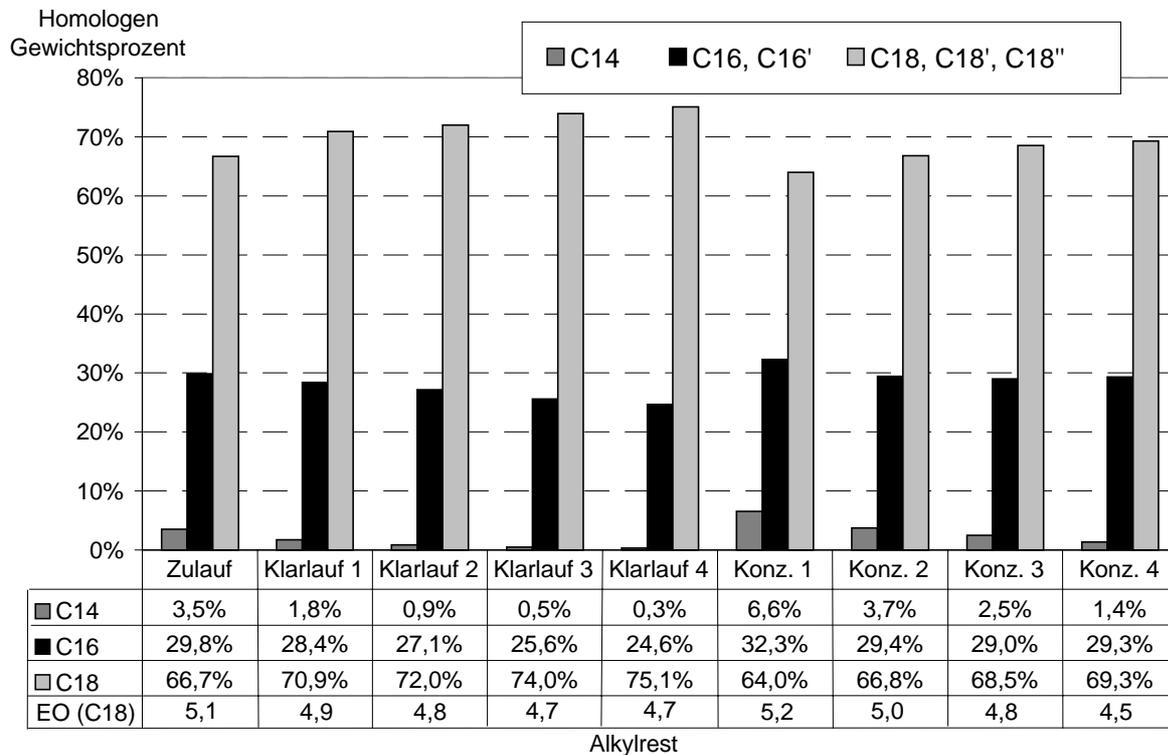


Abbildung 91: Veränderungen der prozentualen Alkylkettenverteilung von Eumulgin ET5 während der vierstufigen Schaumfraktionierung, Zulaufkonz. 0,5 g/L, Konzentrat 1: 3,9 g/L, Konz. 2: 4,8 g/L, Konz. 3: 7,6 g/L, Konz. 4: 2,5 g/L

Der mittlere molare Ethoxylierungsgrad aller Proben zeigte nur bei der mehrfachen Schaumfraktionierung von Genapol UDD-079 deutliche Veränderungen. Hier wurde bei den Abläufen im Vergleich zum Zulauf ein höherer Ethoxylierungsgrad gefunden, der auf den Verlust der leichtflüchtigen Komponenten insbesondere der Alkohole infolge des Durchblasens von Luft zurückgeführt werden kann.

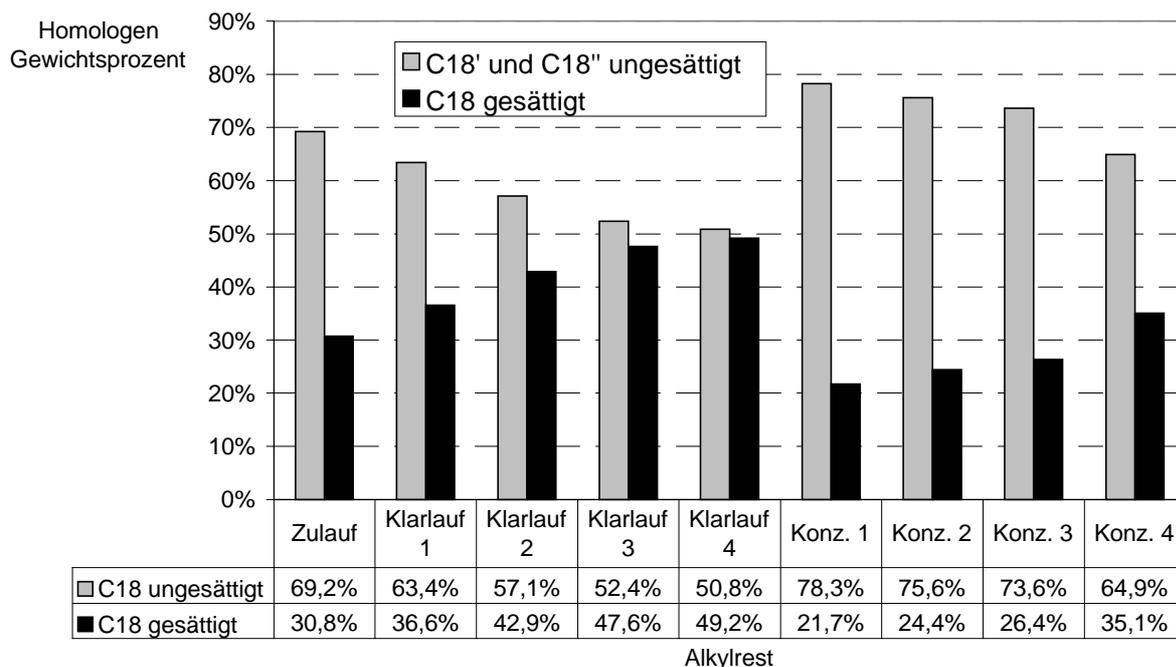


Abbildung 92: Einfluß der vierstufigen Schaumfraktionierung von Eumulgin ET5 aus Abbildung 91 auf gesättigte und ungesättigte Alkylreste (bezogen auf C18 gesamt)

Bei der vierstufigen Schaumfraktionierung von Genapol UDD-079 werden deutliche Veränderungen der Zusammensetzung hervorgerufen (Abbildung 93). Die Verschiebung der Alkylkettenverteilung ist hier jedoch gegenläufig. So kommt es zu einer **Anreicherung** der Isomeren mit **langen** Alkylketten (hier C11) im Schaum, während diejenigen mit kurzen Alkylketten (hier C9) abgereichert werden. Der Gehalt an Komponenten mit mittleren Kettenlängen (C10) bleibt annähernd gleich. Eine Erklärung für diese Phänomene existiert zur Zeit noch nicht. Um die Auswirkungen näher zu untersuchen, wurde eine einstufige Schaumfraktionierung für Gemische aus Genapol UDD-079 und Eumulgin ET5 durchgeführt. Da die Gemische zu komplex für eine Einzelkomponentenanalytik mittels HT-GC-AED werden, wurde nach der Gefriertrocknung nur die Analyse der Alkylkettenverteilung mittels Bromwasserstoffspaltung gemäß Abschnitt 4.6.1 durchgeführt. Die Berechnungen der Gewichtsprozent in den Mischungen wurden unter der Voraussetzung durchgeführt, daß sich der mittlere molare EO-Grad nicht stark verändert, wie in den Vorversuchen bestätigt wurde.

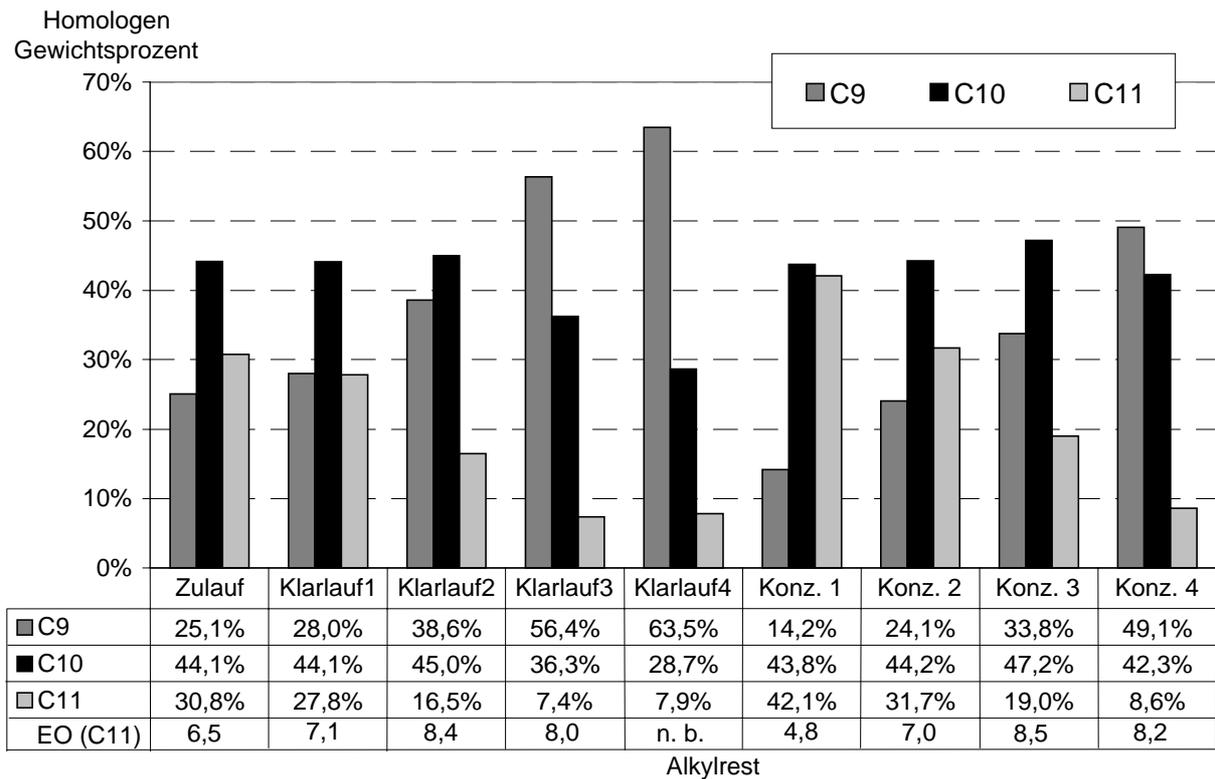


Abbildung 93: Veränderungen der prozentualen Alkylkettenverteilung von Genapol UDD-079 während der vierstufigen Schaumfraktionierung, Zulaufkonz. 0,6 g/L, Konzentrat 1: 2,4 g/L, Konz. 2: 0,7 g/L, Konz. 3: 2,0 g/L, Konz. 4: 23,9 g/L, Klarlaufkonz. 1: 0,5 g/L, 2: 0,3 g/L, 3: 0,06 g/L, 4: 0,0004g/L, n. b. = nicht bestimmbar, Konzentration zu gering

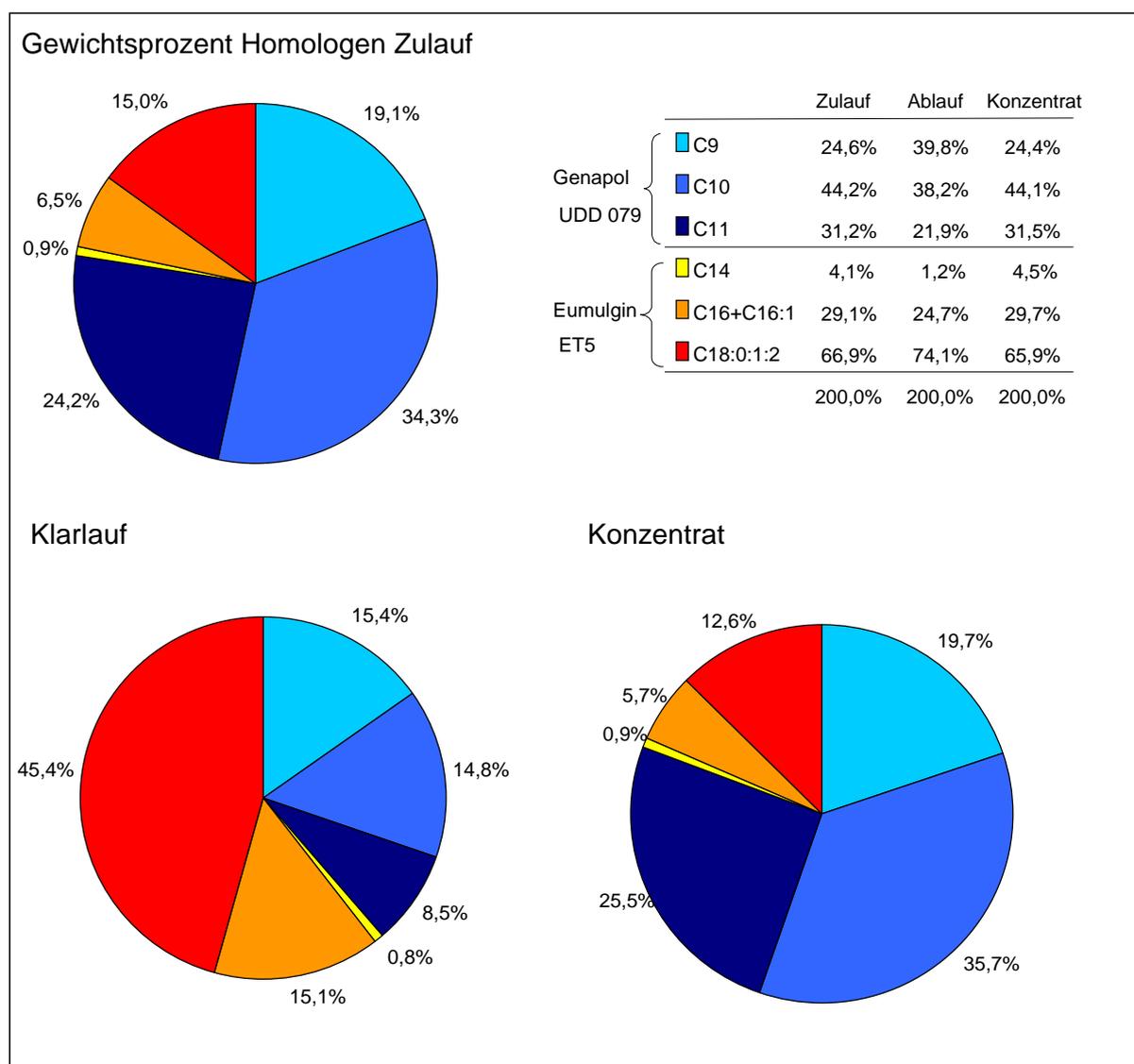


Abbildung 94: Veränderungen der prozentualen Alkylkettenverteilung eines AEO-Gemisches (80% Genapol UDD-079 und 20% Eumulgin ET5) vor und nach der einstufigen Schaumfraktionierung, Zulaufkonz. 0,6 g/L, Klarlaufkonz. 0,05 g/L, Schaumkonz. 3,6 g/L

Die Gewichtsprozent der Homologen im Gemisch sind in den Kreisdiagrammen bezogen auf das Gesamtgemisch angegeben und in der Tabelle für die Bestandteile der Mischung Genapol UDD-079 und Eumulgin ET5 jeweils einzeln ausgewiesen. Dies ist hier möglich, da die Gemische Komponenten mit unterschiedlichen Alkylresten aufweisen. Wird Genapol UDD-079 mit ET5 gemischt, ist die Verschiebung der Alkylkettenverteilung bei der Schaumfraktionierung weniger ausgeprägt. Im Gemisch 80:20 (Abbildung 94) weist das Konzentrat im Vergleich zum Zulauf eine sehr ähnliche Zusammensetzung auf. Der Klarlauf weicht von der Zusammensetzung des Zulaufs stark ab, dieser wurde jedoch auch sehr stark von AEO abgereichert, weswegen Veränderungen hier stärker ins Gewicht fallen. Im

Gemisch 50:50 (Abbildung 95) sind im Konzentrat die kurzen Alkylketten (Genapol UDD-079) angereichert und die langen Alkylketten (ET5) abgereichert, so wie bei der Schaumfraktionierung von Genapol UDD-079 allein.

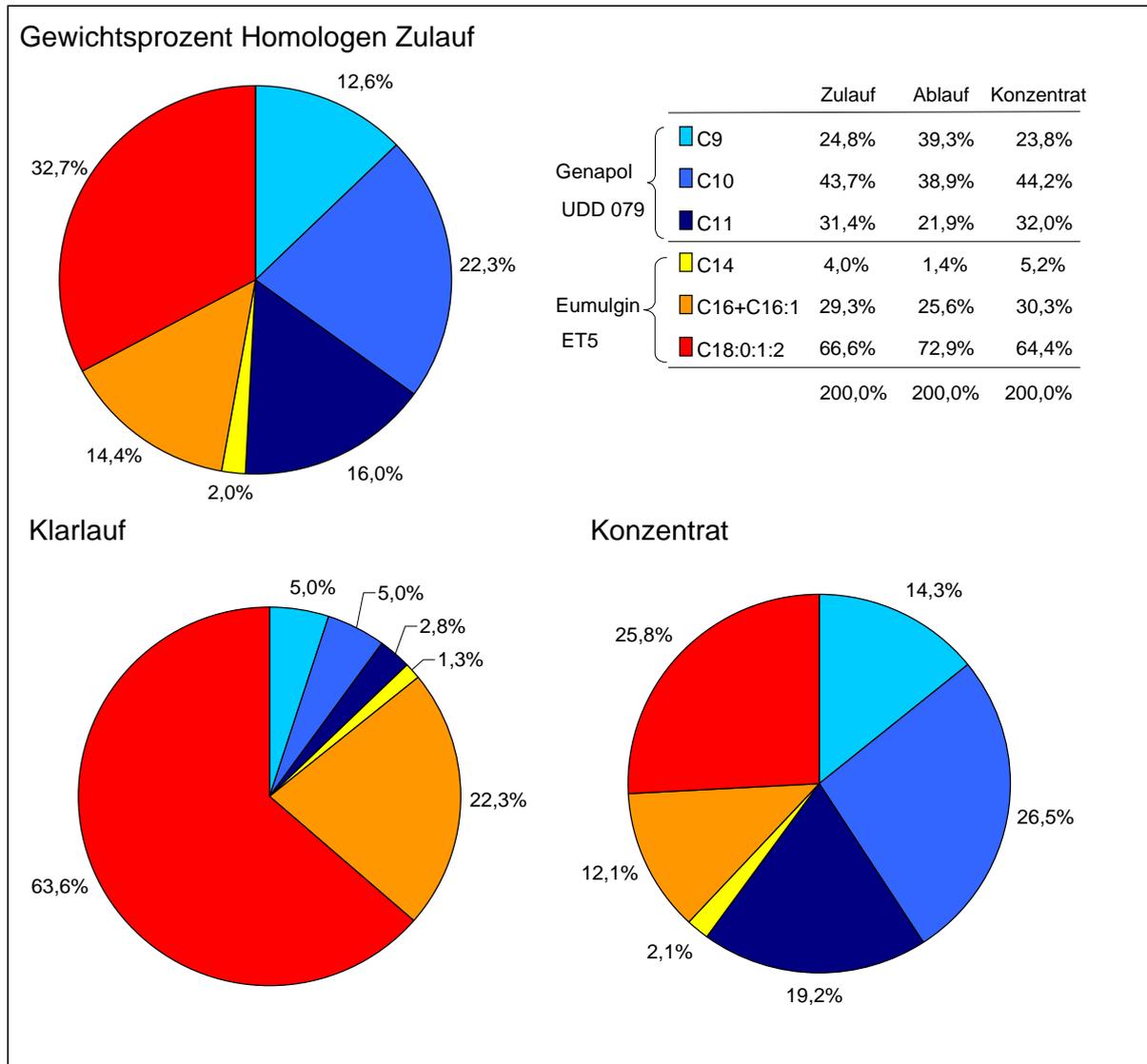


Abbildung 95: Veränderungen der prozentualen Alkylkettenverteilung eines AEO-Gemisches (50% Genapol UDD-079 und 50% Eumulgin ET5) vor und nach der einstufigen Schaumfraktionierung, Zulaufkonz. 0,8 g/L, Klarlaufkonz. 0,1 g/L, Schaumkonz. 6 g/L

5.2.3 Adsorptions-/Desorptionsverfahren

Die Anreicherung von Tensiden ist auch durch eine Adsorption und anschließende Desorption möglich. Für ein effektives Adsorptionsverfahren ist eine hohe Adsorptionskapazität sowie

eine möglichst einfache Regenerierung des Adsorbers anzustreben. Da Aktivkohlen und andere hydrophobe mikroporöse Materialien eine zu starke adsorptive Bindung an den hydrophoben Teil der Tenside zeigen, werden in dem Teilprojekt E1 mesoporöse Materialien mit (schwach) hydrophiler Oberfläche untersucht, die schwächere adsorptive Bindungen zeigen. Das zugrundeliegende Prinzip beruht auf der Basis der Temperaturwechseladsorption. Es stützt sich auf die Beobachtung, daß viele nichtionische Tenside an hydrophilen Festkörperoberflächen ein Adsorptionsverhalten mit einer stark temperaturabhängigen Sättigungbeladung der Oberfläche aufweisen. Die Oberfläche des Materials wird bei hoher Temperatur mit AEO beladen und anschließend durch eine starke Temperaturerniedrigung wieder desorbiert (Temperatur-Swing-Verfahren). Ausführliche Grundlagen und Parameter finden sich unter Dabiri, Dietsch und Findenegg (1998).

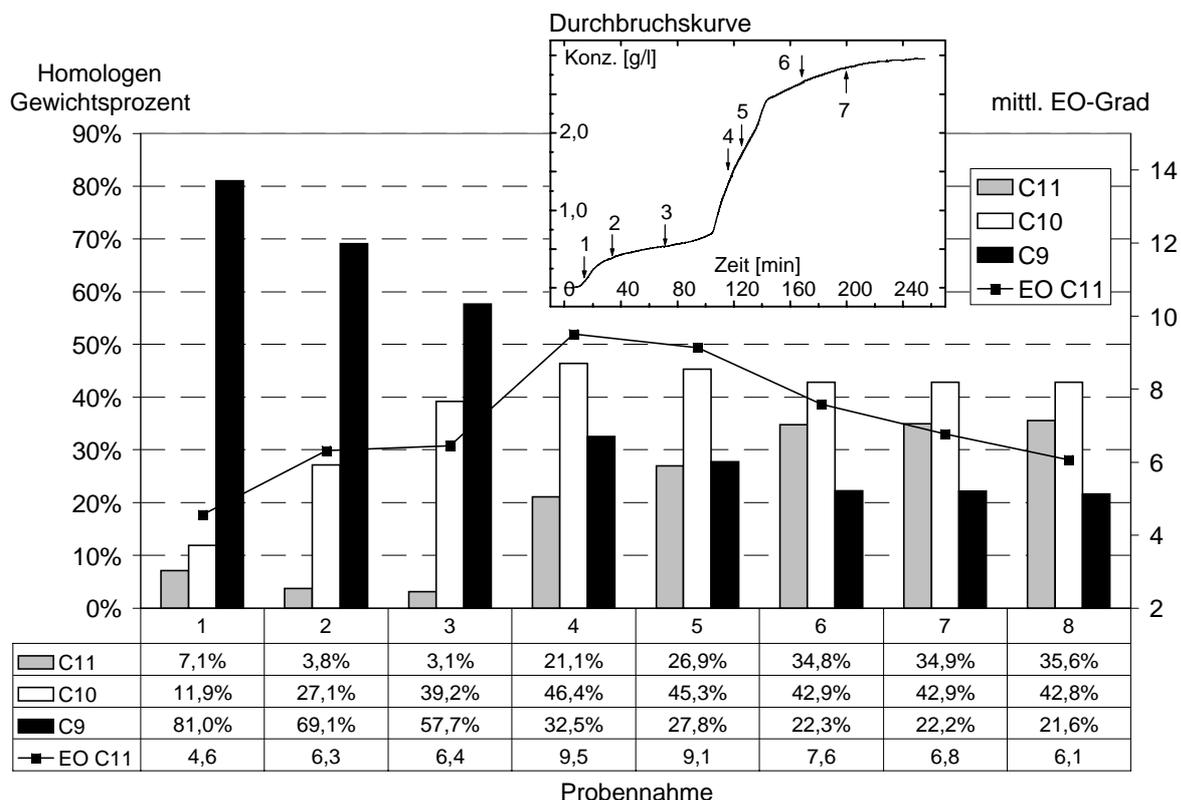


Abbildung 96: Alkylkettenverteilung im Eluat im Verlauf des Durchbruchs einer Konzentrationsstufe von Genapol UDD-079 (wäßrige Lösung, Adsorbens: Controlled-Pore Glass CPG-10/500, mittlerer Porendurchmesser 500 Å, spezifische Oberfläche 69 m²/g). Die Zahlen beziehen sich auf den Zeitpunkt der Probennahme gemäß der kleinen Abbildung der Durchbruchkurve. Die Probe 8 entspricht der Zusammensetzung der eingesetzten Lösung

In Zusammenarbeit mit diesem Teilprojekt wurde die Frage untersucht inwieweit bei der Adsorption des gewählten technischen Tensids Genapol UDD-079 an der Oberfläche eines mesoporösen Glases (Controlled-Pore Glass = CPG) eine selektive Anreicherung einzelner Komponenten erfolgt. Dazu wurde über eine mit CPG-10/500 gepackte und mit reinem Wasser gespülte Säule eine wäßrige Lösung des technischen AEO-Gemisches Genapol UDD-079 gespült und die Zusammensetzung am Säulenausgang im Verlauf des Durchbruchs der Konzentrationsfront analysiert. Die wäßrigen Proben wurden wie in Abschnitt 5.2.1 aufgearbeitet und analysiert. Zusätzlich wurden die Ergebnisse mittels FIA-MS gemäß Abschnitt 4.7 überprüft.

Abbildung 96 zeigt diese Durchbruchskurve der scharfen Konzentrationsstufe am Säulenende und die Zusammensetzung der Proben, die dem Eluat vor, während und nach dem Durchbruch der Konzentrationsfront entnommen wurden. Anhand der Alkylkettenverteilungen im Eluatstrom der Durchbruchskurve ist zu erkennen, daß zunächst (Probe 1) die längerkettigen Komponenten (bezogen auf den Alkylrest C11 und C10) im Eluat stark abgereichert sind und die C9-Komponenten stark angereichert auftreten. Dementsprechend erfolgt auf der zunächst noch freien Oberfläche des Adsorbens eine selektive Adsorption dieser längerkettigen Komponenten. Weiterhin ist zu erkennen, daß der Durchbruch der ersten Konzentrationsstufe im wesentlichen auf die C10-Komponenten zurückzuführen ist, deren Konzentration sich im Eluat in dieser Phase erhöht, während die C11-Komponenten weiterhin fast quantitativ zurückgehalten werden (Proben 2 und 3). Die zweite (größere) Stufe der Durchbruchskurve ist auf eine Sättigung der Oberfläche mit diesen am stärksten adsorbierten Komponenten zurückzuführen (Proben 4 bis 7). In dieser Phase erfolgt in der adsorbierten Schicht auch eine teilweise Verdrängung der C10 Komponenten durch die am stärksten adsorbierten C11-Komponenten, was sich in einem schwachen Maximum der Relativkonzentration von C10 im Eluat bemerkbar macht. Diese Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit Adsorptionsuntersuchungen von Reinsubstanzen an hydrophilen Substraten. Für die Adsorption von technischen Tensiden bedeutet dies, daß die Zusammensetzung der adsorbierten Schicht somit nicht jener des eingesetzten Tensids entspricht und die längerkettigen Oligomere im Adsorbat stärker angereichert werden.

Abbildung 97 zeigt die absoluten Ethoxymerenkonzentrationen der Proben aus der Durchbruchskurve von Abbildung 96. Dabei wird deutlich, daß auch die Ethoxylatkette eine Rolle bei der Adsorption spielt. Die höherethoxylierten Komponenten sind im Eluat noch nicht vorhanden / durchgebrochen (Probe 1 und 2) und werden damit an dem CPG-Material zuerst adsorbiert.

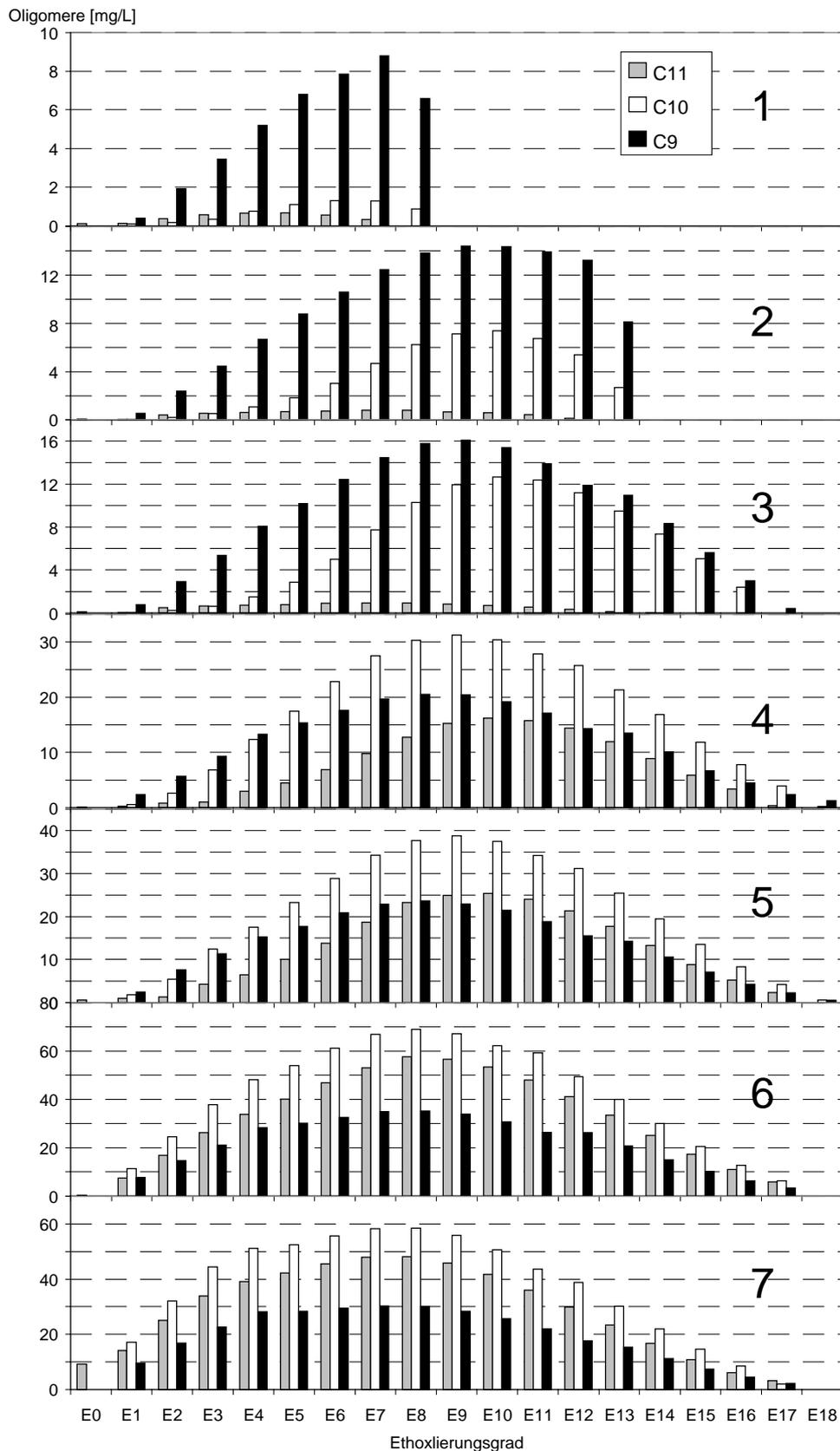


Abbildung 97: Verteilung der Oligomeren im Eluatstrom im Verlauf des Durchbruchs der Konzentrationsstufe von Genapol UDD-079 (wässrige Lösung, Adsorbens: CPG-10/500). Die Zahlen beziehen sich auf den Zeitpunkt der Probenahme gemäß der Durchbruchkurve aus Abbildung 96

Für eine effektive Anreicherung von technischen Tensiden wurde im TP E1 durch einen Temperaturwechsel zwischen 45°C und 5°C eine kontinuierliche Abfolge von Adsorptions- und Desorptionsschritten in einem Prozeß durchgeführt. Entsprechende Proben des Zulaufs, des resultierenden Klarlaufs und Konzentrats wurden auf ihre Zusammensetzung untersucht.

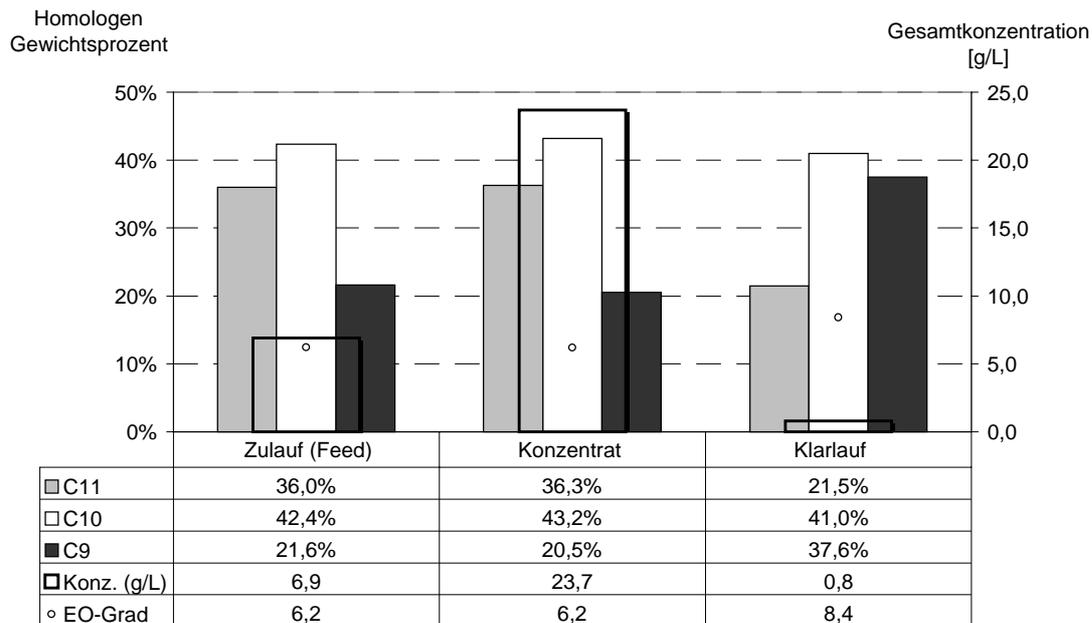


Abbildung 98: Gesamtkonzentration, Alkylkettenverteilung und mittlerer Ethoxylierungsgrad von Genapol UDD-079 in der angereicherten Fraktion und der abgereicherten Fraktion im Vergleich mit der Stammlösung (Feedstrom des Prozesses)

Abbildung 98 läßt erkennen, daß im Konzentrat eine schwache Anreicherung der längerkettigen C10- und C11-Komponenten gegenüber jener des Zulaufs erfolgt. Dementsprechend sind im Klarlauf diese Komponenten abgereichert und die kurz-kettigen C9-Komponenten gegenüber der Stammlösung deutlich angereichert. Die Veränderungen fallen hier deutlicher ins Gewicht, da der Klarlauf in der Konzentration stark abgereichert wurde. Dieses Ergebnis läßt sich wieder auf die stärkere Adsorption der längerkettigen Komponenten des Tensids (hier speziell bei der oberen Temperatur des Prozesses) zurückführen. Das Konzentrat weist dennoch im Vergleich zum Zulauf eine fast unveränderte Zusammensetzung auf.

5.3 Wäßrige Proben aus dem biologischen Abbau von Restkonzentraten

Nicht alle Spülwasser-Teilströme und Konzentrate eignen sich zur Rückgewinnung. Um zu vermeiden, daß diese nach der Aufkonzentrierung wieder in die zentrale Kläranlage geleitet werden, wird in dem Teilprojekt E3b des Sfb 193 der biologische Abbau von AEO untersucht. Diese Untersuchungen erfolgen im aeroben Belebtschlammverfahren in einer kontinuierlich betriebenen Versuchskläranlage im Labormaßstab sowie in Batch-Versuchen. AEO stellen hierbei für die Bakterien die einzige Kohlenstoffquelle im synthetischen Spülwasser dar. Zur analytischen Verfolgung des biologischen Abbaus wurden wäßrige membranfiltrierte Proben aus der Laborversuchskläranlage von TP E3b wie in Abschnitt 5.2.1 beschrieben aufgearbeitet und analysiert. Zusätzlich wurde im TP E3b der DOC (engl.: dissolved organic carbon, gelöster organischer Kohlenstoff) mit einem TOC Analyser Dimatec 100 in den membranfiltrierten Proben bestimmt. Die Membranfiltration erfolgte im TP E3b mit netzmittelfreien Celluloseacetat-Filtern mit einem Porendurchmesser von 0,2 µm (Macherey-Nagel, Düren). Die Bedingungen und Parameter der biologischen Abbauprobversuche sind unter Schreiner et al. (1999) und detailliert unter Schreiner (2000) beschrieben.

Bei Batchabbauprobversuchen von Eumulgin ET5 mit dieser Methode wurde festgestellt, daß im Verlauf des aeroben biologischen Abbaus die Konzentration von Eumulgin ET5 in Lösung über alle Oligomeren kontinuierlich abnimmt und der mittlere Ethoxylierungsgrad unbeeinflusst bleibt. Es kommt zu keiner Anreicherung einzelner Analyten, also sind alle Oligomeren gleichermaßen abbaubar. Ebenso wurden keine (neuen) Homologen mit kürzerkettigen Alkylresten nachgewiesen, die durch einen terminalen Angriff und teilweisen Abbau der Alkylkette auftreten würden und damit einen Hinweis auf den Abbauweg liefern. Da keine Veränderung der Verteilung zugunsten der niedriger ethoxylierten AEO beobachtet wurde, konnte auch kein Hinweis auf einen terminalen Angriff und teilweisen Abbau der Polyethylenglykol-Kette gefunden werden. Diese Erkenntnisse beziehen sich jedoch auf AEO in Lösung. Der genaue Weg der biologischen Metabolisierung von AEO, kann mit dieser Methode der Analyse von AEO in Lösung nicht untersucht werden, solange die Metaboliten von den Mikroorganismen nicht wieder desorbiert werden und damit in die wäßrige Lösung gelangen. Wie in Abbildung 99 dargestellt wurde im Verlauf des Batch-Abbauprobversuches ein höherer DOC der membranfiltrierten Proben gemessen als anhand der gefundenen Restkonzentration an ET5 in Lösung berechnet werden konnte. Der vollständige Abbau der für diesen Rest-DOC verantwortlichen organischen Bestandteile gelang zunächst nur in einem kontinuierlichen Zweistufen-Verfahren mit adaptierter mikrobieller Mischkultur.

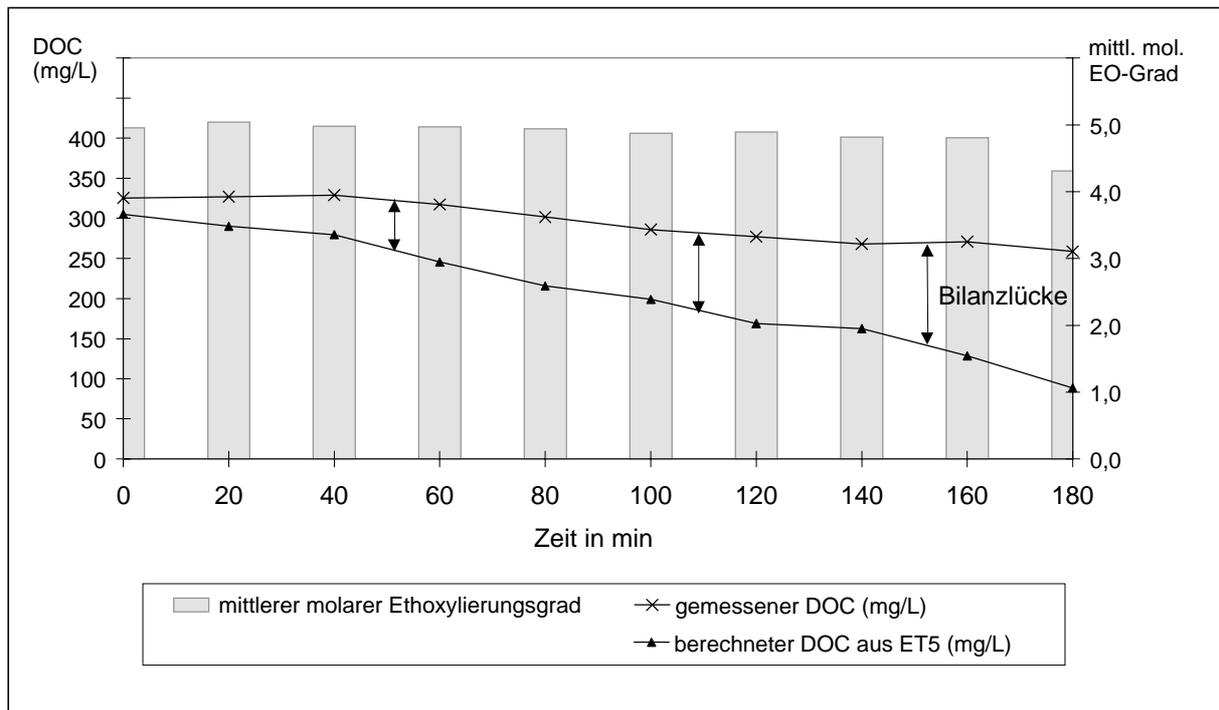


Abbildung 99: Verlauf von Adsorption und Abbau von Eumulgin ET5 im Batchversuch. Analyse von membranfiltrierten Proben und Vergleich von gemessenem DOC und theoretischem DOC aus der Bestimmung der Eumulgin ET5-Konzentration

Die Bilanzlücke in Abbildung 99 zwischen Rest-DOC und Restkonzentration an ET5 wurde durch die Zunahme der Konzentration von Polyethylenglykol (PEG) in Lösung erklärt, welches den höheren Wert des experimentell bestimmten DOC verursacht. Dies bestätigten Untersuchungen von Steber und Wierich (1984), die umfangreiche Analysen zum Abbauverhalten von ^{14}C -markierten AEO in Kläranlagen durchführten. Die von den Autoren vorgeschlagenen Abbauewege sind in Abbildung 100 dargestellt. In einem der beschriebenen Wege wird das zunächst adsorbierte Alkylethoxylat hydrolytisch in Alkohol und PEG gespalten. Dabei betonen die Autoren, daß unabhängig vom Abbaueweg (mit oder ohne Spaltung) die Alkoholkomponente schneller abgebaut wird, als die Polyethylenglykolkomponente. Dies führt zu der Annahme, daß das hydrophile Spaltprodukt PEG wieder desorbiert wird und sich zunächst anreichert. Da das PEG analytisch durch Flüssig-Flüssig-Extraktion mit Ethylacetat nicht erfaßt wurde und der theoretische DOC aus gemessener AEO-Konzentration berechnet wurde, ergab der Vergleich mit gemessenem DOC eine Bilanzlücke. Das wieder desorbierte PEG wird im zweiten Schritt von einer adaptierten Mischkultur wieder adsorbiert, oxidiert und weiter abgebaut. Dieser zunächst leicht schwerer

abbaubare Metabolit PEG konnte mittels FIA-MS in der wäßrigen Probe nachgewiesen werden (Abbildung 101).

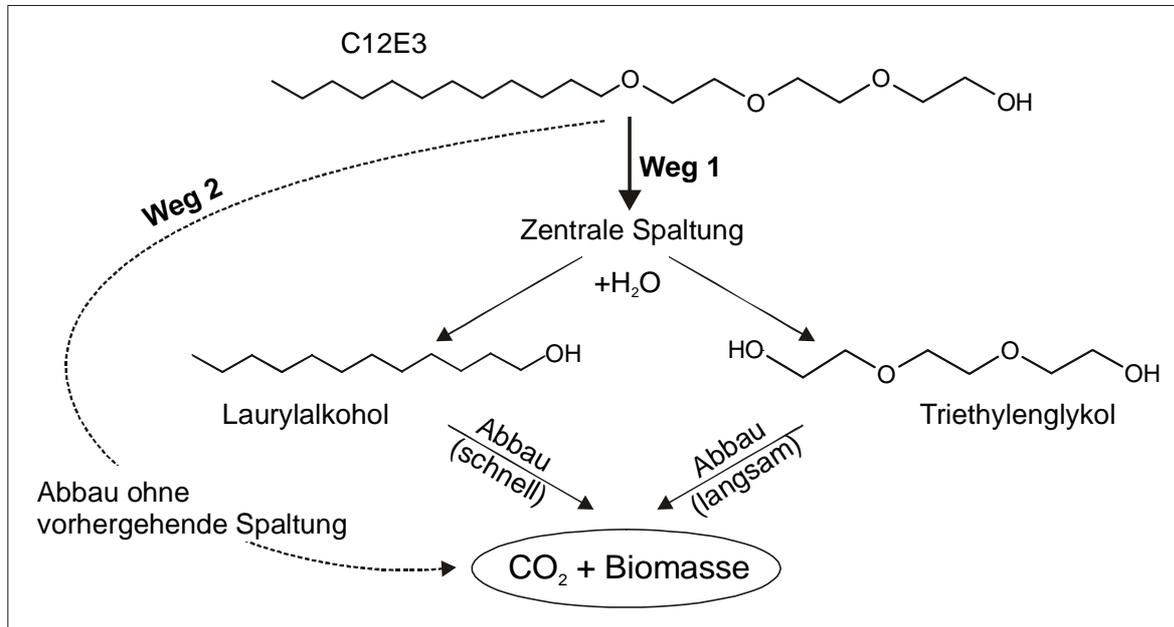


Abbildung 100: Angenommener Abbauweg von AEO am Beispiel von C12E3 in Abbauprobungen des TP E3b (nach Steber und Wierich, 1984)

Abbildung 101 stellt die FIA-MS des ET5-Zulaufs sowie des Ablaufs aus der beschriebenen kontinuierlich betriebenen Versuchskläranlage im Labormaßstab (Schreiner, 2000) gegenüber. Im Ablauf konnte nahezu kein AEO mehr nachgewiesen werden, sondern PEG, welches anhand seiner charakteristischen Massen und Tochterionenspektren identifiziert wurde. Ethoxylate zeigen stets die Massendifferenz von m/z 44, die Masse einer Ethoxy-Einheit bei einfacher Ladung. Wie durch die Pfeile dargestellt, liefert die Hydrolyse aller Verbindungen mit Ethoxylierungsgrad sieben (C14E7, C16E7 und C18E7) das gleiche Reaktionsprodukt Heptaethylenglykol, welches unter anderem im Ablauf nachgewiesen wurde. Es besteht die Annahme, daß das zweite Hydrolyseprodukt Alkohol vom Mikroorganismus schneller abgebaut wird und sich nicht anreichert. Die Alkohole können jedoch mit dieser Analysenmethode nicht nachgewiesen werden, sondern müssen nach Aufarbeitung mittels HT-GC-AED untersucht werden.

wurde festgestellt, daß bei der Analyse von membranfiltrierten Proben im Vergleich zur Gesamtprobe nur 20 - 50% der AEO erfaßt werden. Daraus kann geschlossen werden, daß 50 - 80% der AEO an der Biomasse adsorbiert vorliegen, da die Adsorption an dem Membranfilter vernachlässigt werden kann.

Die Wiederfindungsraten betragen bei der LLE mit Chloroform jedoch nur 40%. Da im weiteren Verlauf der Untersuchungen die Festphasenextraktion optimiert worden war, stellte sich die SPE als die bessere Methode zur Aufarbeitung von großen Volumina mit niedrigen Konzentrationen heraus. Je nach Konzentration der Probe (30 - 250 mg/L Brij 30) betragen die Wiederfindungen mit dieser Methode 60 - 90%. Die biomassehaltige wäßrige Probe wird gemäß Abschnitt 4.1.3.1.1 auf die RP-C8-Kartusche aufgegeben, dabei wird der größte Anteil der Biomasse auf der oberen Fritte und in dem SPE-Material zurückgehalten. Untersuchungen von Probenvolumina bis 15 mL sind dabei möglich, jedoch führt eine teilweise Verstopfung zu stark verminderten Durchflußgeschwindigkeiten. Die zweimalige Elution mit je 7,5 mL der elutionsstarken Lösungsmittel Methanol und Aceton führt zu einer Extraktion von den 50 - 80% AEO, die noch an der Biomasse adsorbiert vorliegen. Alternativ kann auch eine Festphasenextraktion mit graphitisiertem Kohlenstoff nach Abschnitt 4.1.3.1.3 durchgeführt werden, mit der die gleichen Ergebnisse erzielt wurden. Mit beiden Materialien ist die Extraktion des Metaboliten PEG möglich. PEG läßt sich ebenfalls mit BSTFA derivatisieren, überlagert sich jedoch teilweise mit C14-Homologen (C14E2 und C14E3) bei der HT-Gaschromatographie.

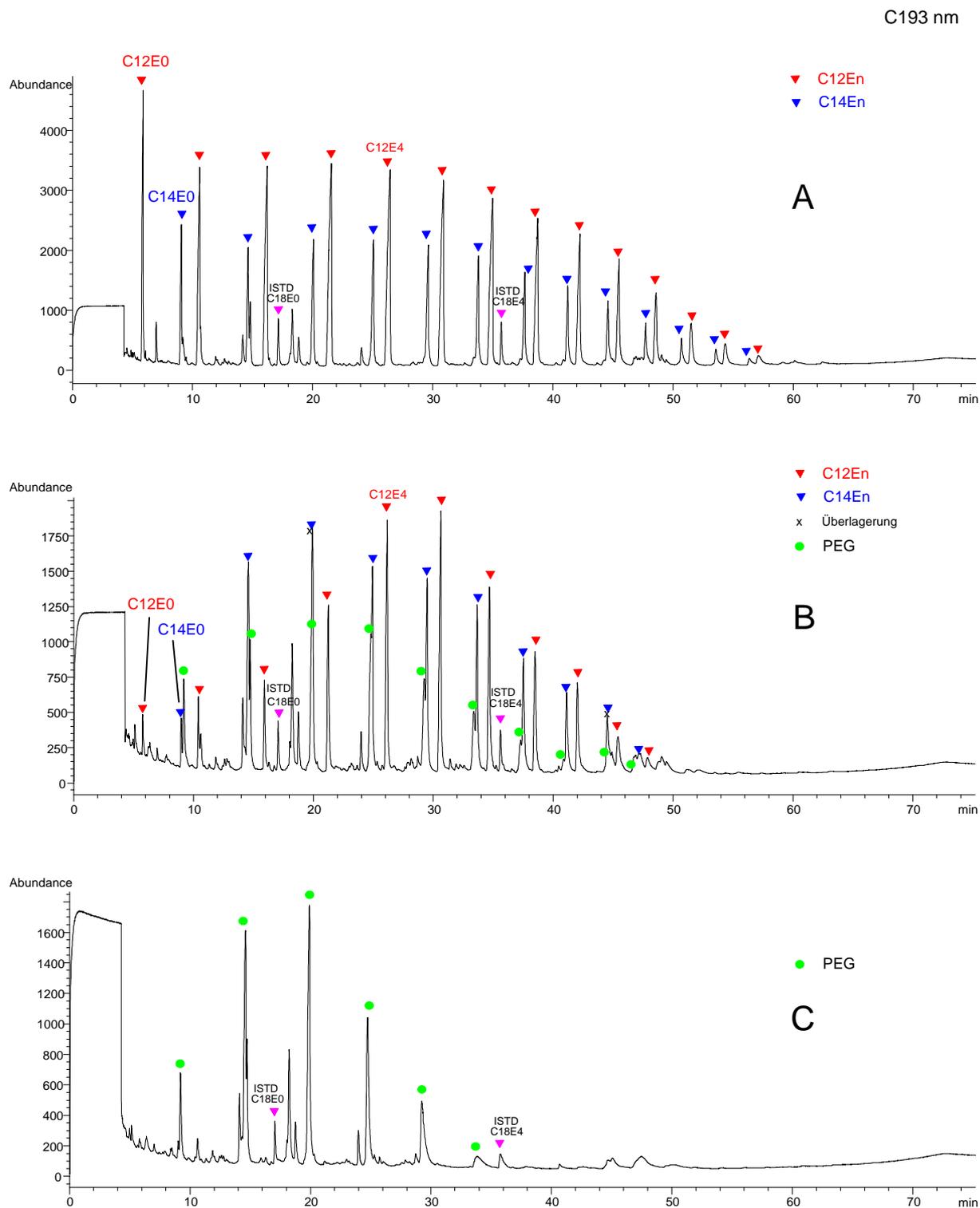


Abbildung 102: HT-GC-AED, Kohlenstoff-Spur, nach Silylierung von mittels SPE aufgearbeiteten, biomassehaltigen Proben aus dem Batch-Abbau von Brij 30 (Deutsche ICI, Essen). Probe A 250 mg/L AEO, Probe B 60 mg/L AEO, Probe C ca. 70 mg/L PEG. Parameter siehe Anhang A. Injektion: KAS

Abbildung 102 zeigt HT-GC-AED-Chromatogramme von Abbau-Proben aus dem Batch-Versuch mit Brij 30 (Deutsche ICI, Essen), die mittels Festphasenextraktion aufgearbeitet wurden. Die Probenreihenfolge A, B, C entspricht dabei dem zeitlichen Verlauf des Abbaus, wobei Probe A sofort nach Dotierung, Probe B während des Abbaus (bei noch stetigem Bakterienwachstum) und Probe C gegen Ende des Abbaus entnommen wurde. Durch die Matrixbelastung ergeben sich leichte Probleme der Bestimmung von höheren Ethoxymeren ab EO-Grad 14 (Probe A). Bei der Untersuchung des biologischen Abbaus mit dieser Methode, die die Extraktion der Biomasse einbezieht, wurde festgestellt, daß der Alkohol sehr schnell adsorbiert / abgebaut wird. Dies ist in Probe B anhand der C14-Homologenreihe deutlich zu erkennen. Bei den C12-Ethoxymeren in Probe B ist ebenfalls zu erkennen, daß die niedrig ethoxylierten Verbindungen offensichtlich schneller adsorbiert / abgebaut werden als die höher ethoxylierten Verbindungen. Sehr hoch ethoxylierte Verbindungen (ab EO 11) liegen - bedingt durch die niedrige Konzentration der Probe - hier bereits unter der Nachweisgrenze. Der Metabolit PEG kann im Verlauf des Abbaus früh nachgewiesen werden (Probe B, C).

5.4 Waschmittel, Körperpflegemittel zur Haar- und Hautreinigung

Folgende Waschmittel und Reinigungsmittel für Haut und Haar wurden auf AEO untersucht:

Ariel futur Vollwaschmittel, pulverförmig (Procter & Gamble GmbH, Schwalbach)

Spee Tabs Vollwaschmittel, Pulver gepresst (Henkel Waschmittel GmbH, Düsseldorf)

Kuschelweich Sommerwind Weichspülerkonzentrat (Lever, Hamburg)

Crisan Intensiv Antischuppen-Shampoo (Wella AG, Darmstadt)

Penaten Babyshampoo (Johnson & Johnson, Düsseldorf)

Bübchen Baby Bad (Ewald Hermes, Pharmazeutische Fabrik GmbH, Soest)

Die Deklarationen der Hersteller zu den Inhaltsstoffen sind im Anhang F zu finden.

5.4.1 Durchführung der Analyse

Aufgrund von Störungen durch die Anwesenheit von Alkylethersulfaten oder Alkylpolyglucosiden ist eine Aufarbeitung der Proben notwendig. Die Proben werden in Wasser gelöst (2 - 4 g/L für GC-AED-Messung) und 10 mL Probe (20 -40 mg) mit je 10 µg ISTD gemäß des in Abschnitt 4.2 beschriebenen Trennungsgangs aufgearbeitet. Die Art des ISTD richtet sich nach der erwarteten Alkylkettenverteilung. Da in den Proben meistens Alkylketten C12 - C16 vorkommen (Deklaration: "Laureth"), empfiehlt sich z.B. C18E0 und C18E4. Durch mögliche Matrixüberlagerungen werden zwei interne Standards eingesetzt. Anschließend werden die Proben zur gaschromatographischen Bestimmung gemäß Abschnitt 4.3.1.1 mit BSTFA derivatisiert (100 - 200 µg Gesamtprobe je nach erwartetem Gehalt) und mittels HT-GC-AED gemäß Anhang A untersucht. Zur Überprüfung der Ergebnisse wurden die aufgearbeiteten Proben gegebenenfalls nach Derivatisierung noch weiteren unterschiedlichen Bestimmungsmethoden zugeführt. Zur flüssigchromatographischen Bestimmung werden die 100 - 500 mg Probe wie oben aufgearbeitet und gemäß Abschnitt 4.5.1 mittels 3,5-Dinitrobenzoylchlorid derivatisiert. Die im Falle der Deklaration von "Laureth" eingesetzten internen Standards sind bei der RP-HPLC je 0,4 mg C10E8 (frühe Elution) bzw. C18E0 (späte Elution). Der ISTD C18E0 empfiehlt sich jedoch nicht bei Waschmitteln, da diese häufig ebenfalls C18-Komponenten enthalten. 1 - 5 mg Gesamtprobe werden anschließend mittels RP-C18-HPLC-UV gemäß Anhang C untersucht. Die Überprüfung der Ergebnisse mittels Bromwasserstoffspaltung erfolgt nach Abschnitt 4.6.1. Dazu werden 15 mg Probe mit 20 µg

internem Standard C20E0 der Aufarbeitung und 60 µg Gesamtprobe der GC-AED-Analyse zugeführt. Die FIA-MS gemäß Anhang D erfolgt direkt ohne Aufarbeitung nach Lösen der Proben in Methanol (ca. 0,25 g/L) und einer Membranfiltration mit Polyamid-Einmalfiltern.

Die schonende Abtrennung der AES ist **sehr wichtig**, da aus der Hydrolyse dieser sulfatisierten AEO die Ausgangsstoffe, d.h. AEO wieder entstehen können. **Durch Erhitzen kann die Hydrolyse verstärkt werden.** Die technischen AES enthalten stets AEO, teils als nicht umgesetztes Ausgangsprodukt, teils aus der Hydrolyse. Die meisten Körperreinigungsmittel enthalten das anionische Tensid AES nach Wasser als Hauptbestandteil. Sie enthalten damit auch zwangsläufig AEO, selbst wenn dieses nicht zugesetzt wurde. Dieser Fall traf bei den untersuchten Proben auf das Crisan Antischuppen-Shampoo zu. Unter den Körperpflegemitteln konnten im handelsüblichen Angebot einzig unter den Babypflegemitteln Produkte gefunden werden, die kein AES enthalten. Diese enthalten stattdessen amphotere Tenside als Hauptbestandteil, denen mehr Hautfreundlichkeit zugesprochen wird. Penaten Babyshampoo enthält weder AES noch AEO und eignete sich daher gut zum Dotieren eines AEO-Gemisches und anschließender Analyse zur Bestimmung der Wiederfindungsrate in Anwesenheit von Matrix. Gleiches traf auf den Weichspüler zu, der ebenfalls mit Brij 30 dotiert und analysiert wurde. Handelsübliche Vollwaschmittel enthalten kein AES, sondern lineare Alkylbenzolsulfonate (LAS) als anionisches Tensid. Auf die Anwesenheit von AES, kann sehr leicht und schnell geprüft werden, indem man die Probe in Methanol löst, membranfiltriert und eine FIA-MS im positiven und negativen Modus durchführt.

5.4.2 Analyse mittels HT-GC-AED

Da insbesondere Haut- und Haarreinigungsmittel sehr viele Inhaltsstoffe enthalten, die lange Kohlenwasserstoffreste aufweisen, bietet der Trennungsgang mit SPE auf der Basis hydrophober Wechselwirkungen wenig Ansatzpunkte Matrixinhaltsstoffe mit langen Alkylresten von den strukturell ähnlichen AEO abzutrennen. Mittels der Gaschromatographie und unselektiver Detektion werden alle Inhaltsstoffe der Probe, die ausreichend flüchtig sind angezeigt. Diese Matrixinhaltsstoffe werden in der unselektiven Kohlenstoff-Spur, die bereits von den hochkomplexen AEO-Gemischen nahezu ausgelastet ist, gleichermaßen detektiert, so daß die Chromatogramme sehr überladen erscheinen. Einzelne Peaküberlappungen sind daher unvermeidlich. Die Silizium-Spur ist grundsätzlich selektiver, dennoch reagieren sehr viele Matrixinhaltsstoffe mit BSTFA, die dann als siliziumhaltig detektiert werden. Die

Auswertung beider Element-Spuren, erleichtert jedoch die Analyse bei der einen oder anderen Peaküberlagerung.

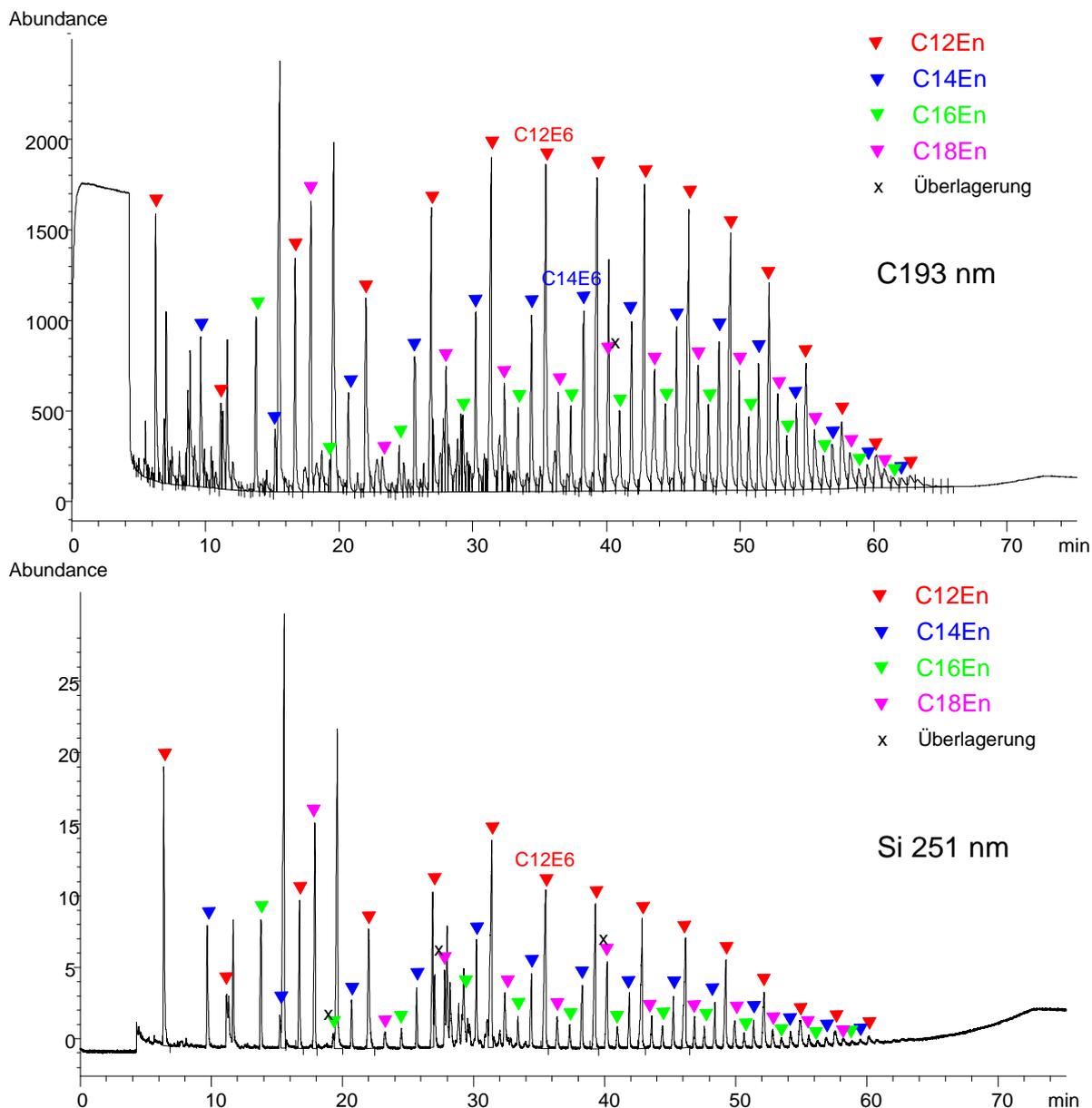


Abbildung 103: HT-GC-AED Kohlenstoff-Spur (oben) und Silizium-Spur (unten) von Spee Tabs Vollwaschmittel, silyliert. Parameter siehe Anhang A, Injektion: KAS

Abbildung 103, Abbildung 104, Abbildung 105 zeigen typische Gaschromatogramme mit Atomemissionsdetektion in der Kohlenstoff- und Silizium-Spur eines Vollwaschmittels (Spee Tabs), eines Badezusatzes (Bübchen Baby Bad) und eines Shampoos (Crisan Intensiv Antischuppen). Dem Vollwaschmittel und dem Badezusatz wurden AEO zugesetzt. In den Waschmitteln erfolgt nur eine allgemeine Deklaration als nichtionisches Tensid mit der

Mengenangabe < 5%. Nach Rahmenrezepturen liegen die AEO-Gehalte in europäischen phosphatfreien Vollwaschmitteln bei 3 - 6% AEO (Falbe, 1987b), was mit der Mengenangabe einen Rahmen von 3-5% setzt. Mittels HT-GC-AED wurde der AEO-Gehalt in Vollwaschmittel Spee Tabs zu 3,0% bestimmt (Tabelle 10).

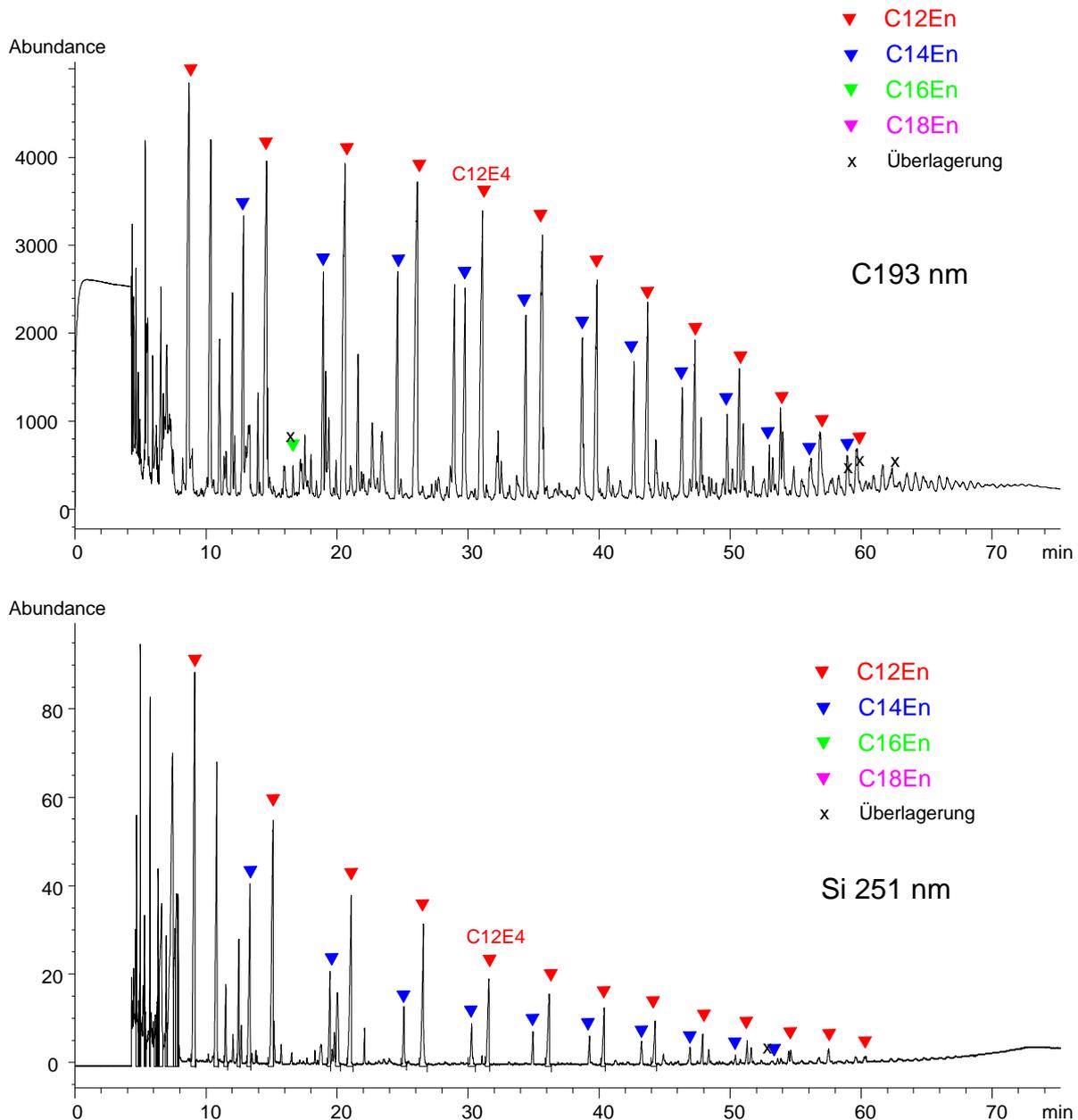


Abbildung 104: HT-GC-AED Kohlenstoff-Spur (oben) und Silizium-Spur (unten) von Bübchen Baby Bad, silyliert. Parameter siehe Anhang A. Injektion: KAS

Bei dem Badezusatz (Abbildung 104) erfolgte volle Deklaration mit genauer Bezeichnung durch INCI (International Nomenclature Cosmetic Ingredient). Der INCI-Name "Laureth-3"

an fünfter Stelle der Deklarationsreihenfolge bezeichnet ein AEO-Gemisch C12E3. Dieses AEO-Gemisch mit EO-Grad 3 konnte nachgewiesen und bestimmt werden. Die Alkylkettenverteilung entspricht bei der Bezeichnung "Lauryl-" typischerweise ca. 70% C12 und 30% C14, da in den meisten Fällen Kokosfett als Rohstoff eingesetzt wird. Die in geringerer Konzentration enthaltenen C16-Komponenten werden jedoch durch Matrixkomponenten größtenteils überlagert. An zwölfter Stelle der Deklarationsreihenfolge wird beim Badezusatz noch "Trideceth-9" angegeben, was einem AEO-Gemisch C13E9 entspricht. Dieses AEO-Gemisch, welches nach Herstellerinformation als Lösungsvermittler für Parfümöle eingesetzt wird, ist in so geringen Mengen vorhanden, daß es mit keiner der angewendeten Methoden nachgewiesen werden konnte. Rahmenrezepturen mit Mengenangaben für AEO-Gehalte in Badezusätzen konnten in der Literatur nicht gefunden werden. AEO spielen in Badezusätzen und in Duschbädern nur eine untergeordnete Rolle als Verdickungsmittel oder Lösungsvermittler. Der Badezusatz für Babys gehört mit der relativ hohen Konzentration von ca. 2% AEO zu den Ausnahmen.

Dem Shampoo (Abbildung 105) wurde kein AEO zugesetzt, das gefundene AEO-Gemisch entstammt dem Hauptbestandteil AES. Den meisten Shampoos und Duschbädern wird nach Wasser als Hauptbestandteil Laurylethersulfat mit EO 2 sowie ca. 70% C12 und ca. 30% C14 zugesetzt, was sich in dem gefundenen Hydrolyseprodukt widerspiegelt. Nach Rahmenrezepturen liegen die AES-Gehalte in Shampoos bei 12 - 16% Laurylethersulfat (Falbe, 1987c). Bei einem gefundenen AEO-Gehalt von 0,5%, kann man von ca. 3 - 4% AEO in technischen AES-Gemischen ausgehen. Dabei handelt es sich um nicht umgesetztes Ausgangsprodukt bzw. Hydrolyseprodukt. Durch thermische Beanspruchung kann der Gehalt an Hydrolyseprodukt schnell auf Werte um 15% ansteigen, z.B. bei der Injektion zur Gaschromatographie mit Höchsttemperaturen von 350°C des PTV. In diesem Fall würde man in Crisan Shampoo ca. 2% AEO finden. Daher ist nicht nur vor der Gaschromatographie die sorgfältige Abtrennung der AES aus der Probe besonders wichtig, sondern auch bei Derivatisierungen, die unter Erhitzen der Probe durchgeführt werden.

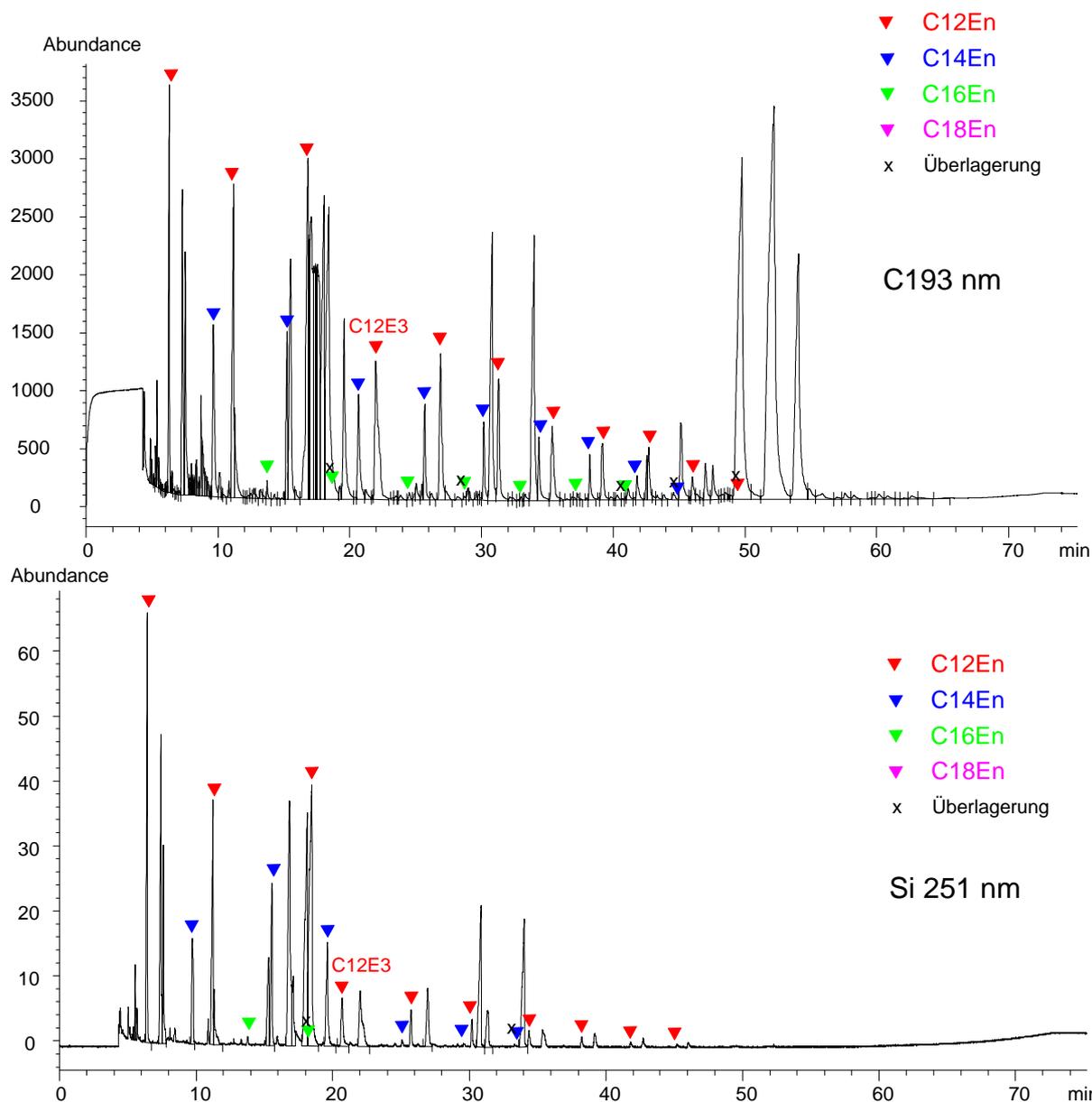


Abbildung 105: HT-GC-AED Kohlenstoff-Spur (oben) und Silizium-Spur (unten) von Crisan Intensiv Antischuppen-Shampoo, silyliert. Parameter siehe Anhang A. Injektion: KAS

5.4.3 Analyse mittels RP-HPLC-UV nach DNBC-Derivatisierung

Zur Überprüfung der HT-GC-AED-Ergebnisse wurde eine RP-HPLC-UV Bestimmung durchgeführt. Durch das geringere Auflösungsvermögen gestaltet sich mitunter die Trennung der zahlreichen Inhaltsstoffe schwieriger. Vorteilhaft ist jedoch, daß die Matrixstoffe im UV nicht detektiert oder an den Umkehrphasen durch ihre polare oder ionische Natur nicht oder nur wenig retardiert werden, womit sie im vorderen Teil des Chromatogramms bis 10 Minuten eluieren (vgl. Abbildung 106, Abbildung 107, Abbildung 108). Damit können

jedoch AEO mit Alkylresten kürzer als C12 nicht mehr mit dieser Methode bestimmt werden, da sie genau in diesem Bereich eluieren. Zudem ergeben sich Trennprobleme bei Gemischen petrolchemischer Herkunft und bei Gemischen mit mehreren vorkommenden Alkylresten wie im Abschnitt 4.5 besprochen. Trotz des Einsatzes hoher Mengen an Probe ist die Derivatisierungsausbeute sehr klein. Die C16-Komponenten wurden stets nahe der Nachweisgrenze detektiert, was zu Unterbefunden dieser Komponenten bei der Bestimmung der Alkylkettenverteilung führte. In Crisan Shampoo (Abbildung 107) wird der C16-Anteil der Alkylkettenverteilung einzig durch den zu hohen Wert des C16-Alkohols bestimmt. Dieser Wert stimmt gerade zufällig mit der Summe der C16-Komponenten aus den anderen Methoden überein. In Anbetracht der Einzelkomponentenanalytik wird hier jedoch ein stark verfälschtes Ergebnis erzielt. Da mit dieser kleinen zufällig ausgewählten Stichprobe an Wasch- und Reinigungsmitteln nur AEO mit niedrigen mittleren Ethoxylierungsgraden bis maximal 6 gefunden wurden, war kein Einsatz der HPLC notwendig. Sollte ein AEO-Gemisch höheren EO-Grades quantifiziert werden, ist die FIA-MS oder LC-MS die Methode der Wahl. Die Kalibrierung erfolgt mit einem oder mehreren hochethoxylierten Gemischen mit nur einem vorkommenden Alkylrest, die zuvor störungsfrei mittels HPLC-UV charakterisiert wurden.

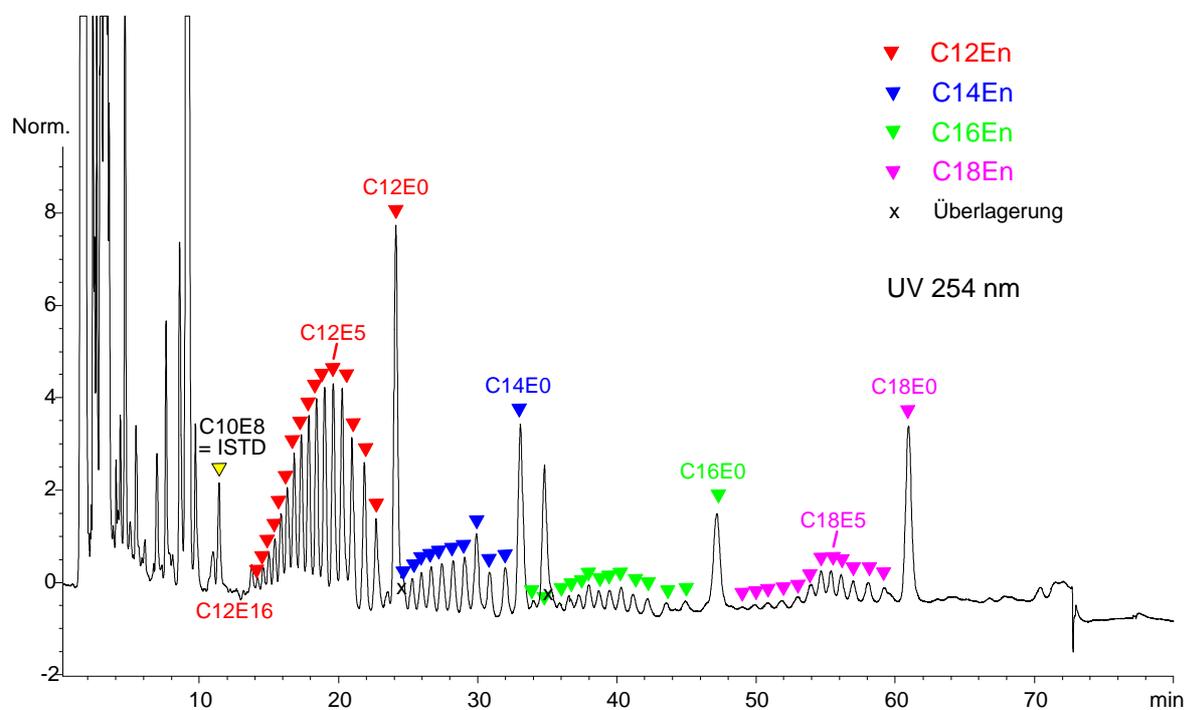


Abbildung 106: RP-C18-HPLC von mit DNBC derivatisiertem Vollwaschmittel Spee Tabs.
Parameter siehe Anhang C

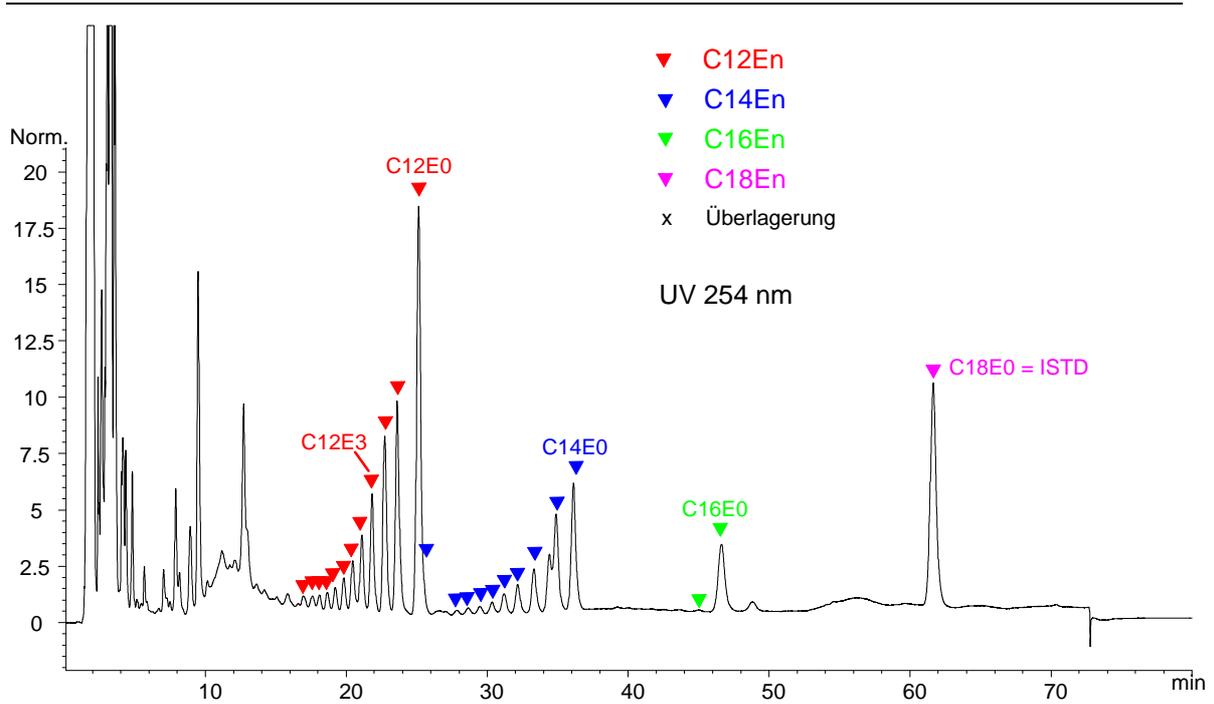


Abbildung 107: RP-C18-HPLC von mit DNBC derivatisiertem Crisan Intensiv Antischuppen-Shampoo. Parameter siehe Anhang C

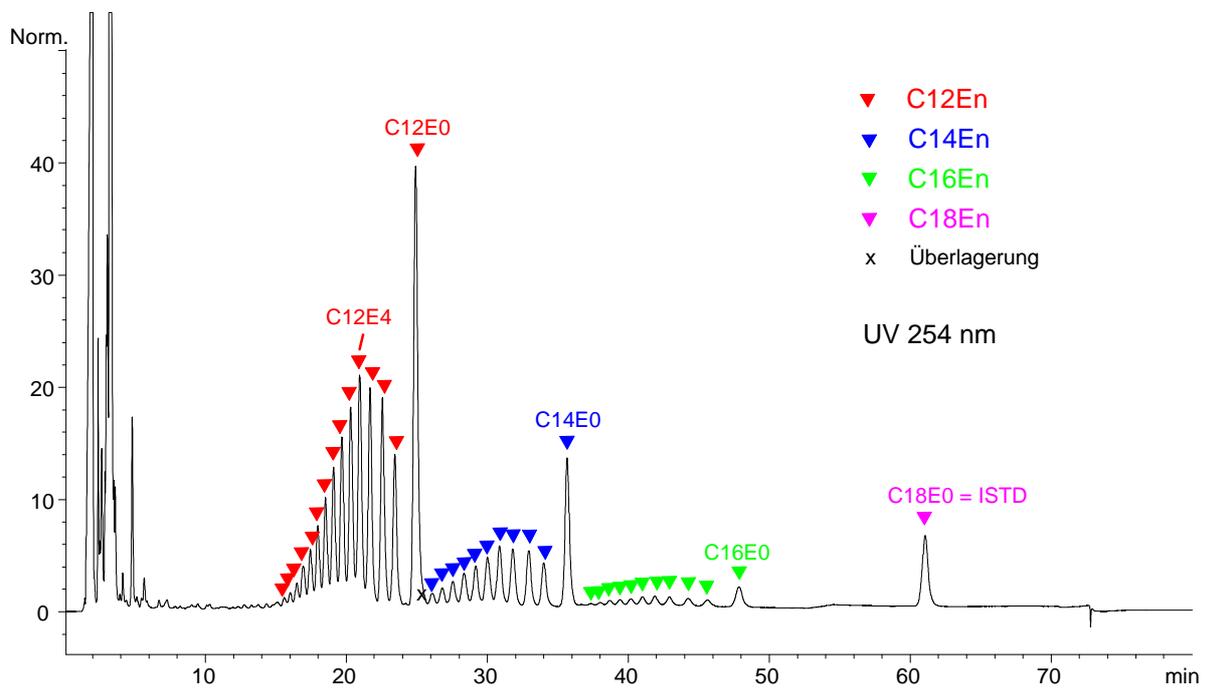


Abbildung 108: RP-C18-HPLC von mit DNBC derivatisiertem Brij 30 nach Aufarbeitung. Parameter siehe Anhang C

5.4.4 Untersuchung mittels FIA-MS

Die FIA-MS eignet sich zum schnellen Screening von Wasch- und Reinigungsmitteln. Sie ist innerhalb von Minuten sehr schnell durch die direkte Injektion der mit Methanol verdünnten Probe durchführbar. Ferner erlaubt sie eine im Vergleich zu den anderen Methoden sichere Identifizierung der Inhaltsstoffe anhand ihrer Massen. Um gegebenenfalls eine Überprüfung mittels Tandemmassenspektrometrie durchzuführen, muß allerdings das Natriumaddukt durch das Ammoniumaddukt verdrängt werden, was sich bei der nicht aufgearbeiteten Probe, die stets Natriumionen im Überschuß enthält, schwierig gestalten kann. Die AEO sind aber aufgrund ihrer Vielzahl an Verbindungen mit Massen in charakteristischen Abständen von m/z 44, 14 und 28 wesentlich eindeutiger zu identifizieren, als einzelne Verbindungen, die durch eine Matrixverbindung gleicher Masse als falsch positiv identifiziert werden könnten.

Abbildung 109, Abbildung 110 und Abbildung 111 zeigen Massenspektren des Vollwaschmittels Spee, des Badezusatzes Bübchen bzw. des Shampoos Crisan. Die FIA-MS erlaubt die Zuordnung einiger Matrixinhaltsstoffe. Die im positiven Modus aufgenommenen Massenspektren der Vollwaschmittel Spee Tabs und Ariel futur sind relativ "sauber" und werden fast ausschließlich von den AEO dominiert. In den negativen Massenspektren der Vollwaschmittel wurden die anionischen Tenside LAS identifiziert.

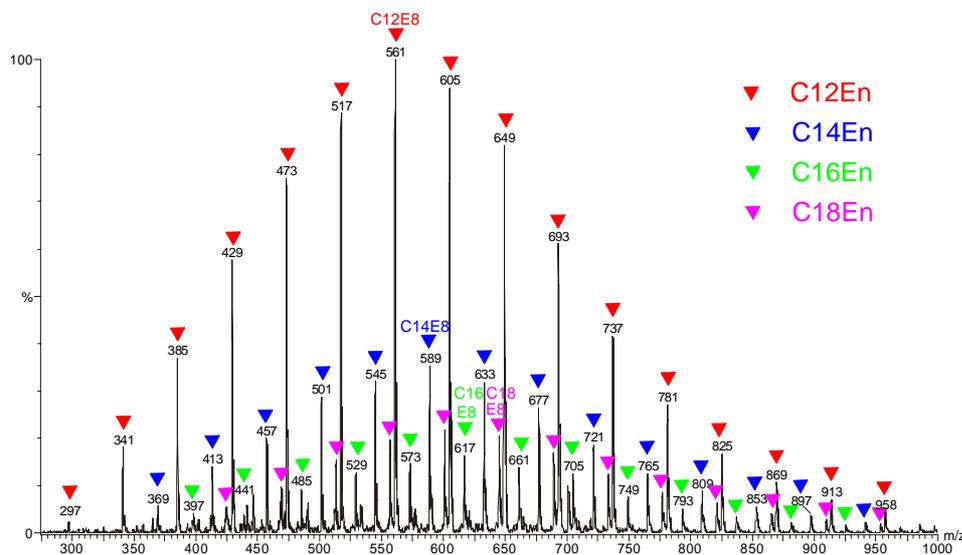


Abbildung 109: FIA-MS, Massenspektrum APCI, positiv von Vollwaschmittel Spee Tabs. Detektion der Na^+ -Addukte. Parameter siehe Anhang D

Die positiven Massenspektren der Körperpflegemittel weisen wesentlich mehr Inhaltsstoffe auf als die der Vollwaschmittel, was durch die Deklaration zahlreicher Inhaltsstoffe zu erwarten war. Die Massen des AEO-Gemisches "Laureth-3" treten im Bübchen Baby Bad (Abbildung 110) jedoch dominant neben den Alkylamidobetainen (einem Hauptinhaltsstoff) auf. Die Massen des AEO-Gemisches "Trideceth-9", welches in sehr geringer Konzentration als Lösungsvermittler mit dem Parfüngemisch zugesetzt wurde, verschwinden jedoch im Rauschen.

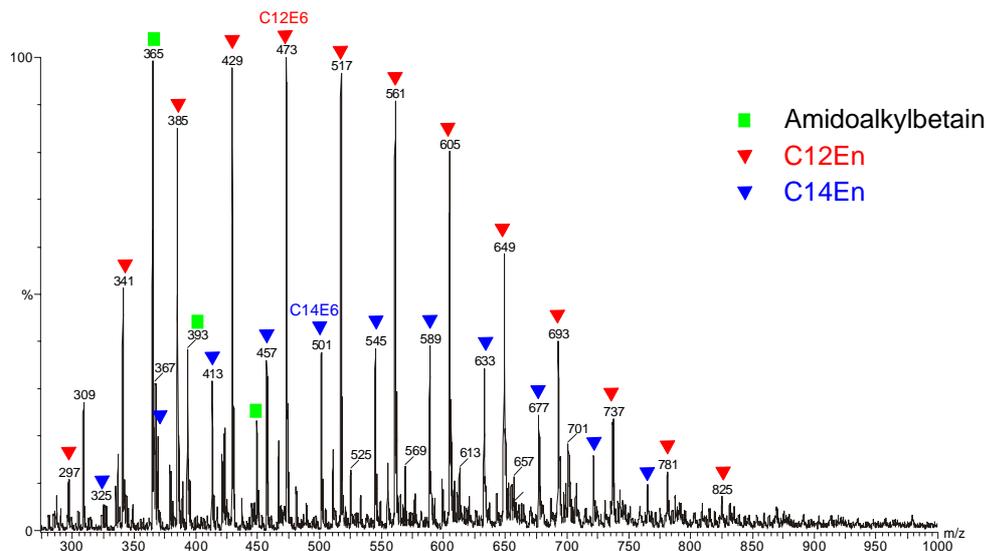


Abbildung 110: FIA-MS, Massenspektrum APCI positiv von Bübchen Baby Bad. Detektion der Na^+ -Addukte. Parameter siehe Anhang D

Das positive Massenspektrum von Crisan (Abbildung 111) wird von dem Hauptinhaltsstoff AES und den Alkylamidobetainen dominiert. Die AEO als "Verunreinigung" der AES können jedoch auch hier gut nachgewiesen werden. Der höhere Wert bei der Quantifizierung könnte durch eine leichte Zersetzung der (hier nicht zuvor abgetrennten) AES zu AEO infolge der kurzfristigen thermische Belastung von 400°C im APCI erklärt werden. Bei Anwesenheit von AES ist daher ratsam, die Analyse mittels Elektrospray durchzuführen, bei dem maximal eine Temperatur von 120°C auftritt.

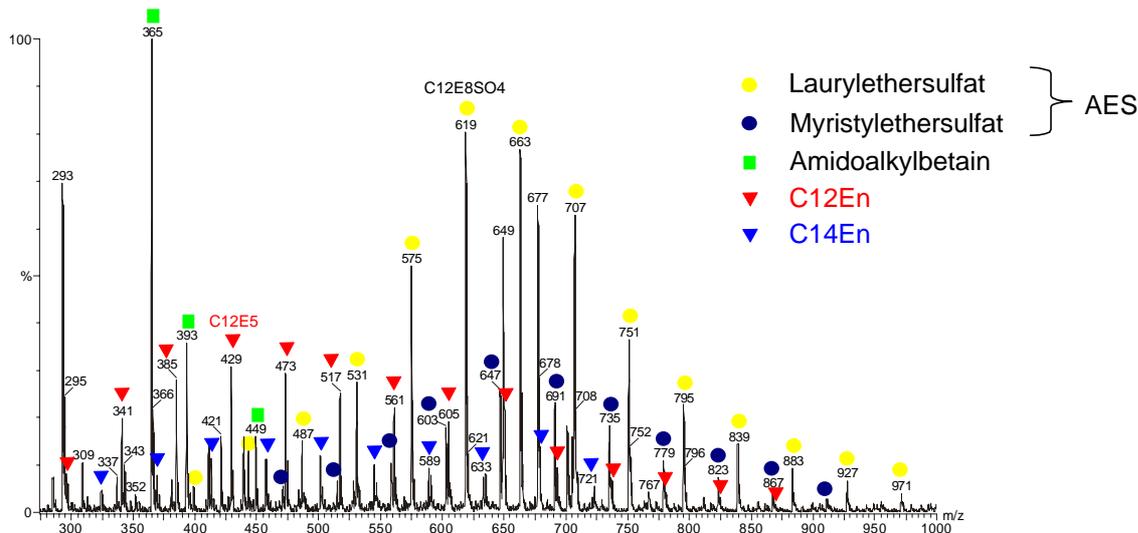


Abbildung 111: FIA-MS, Massenspektrum APCI, positiv von Crisan Intensiv Antischuppen-Shampoo. Detektion der AEO als Na^+ -Addukte, Alkylethersulfat als H^+ -Addukte. Parameter siehe Anhang D

Die Quantifizierung wurde durch externe Kalibrierung mit dem mittels HT-GC-AED charakterisierten AEO-Gemisch Brij 30 durchgeführt. Die Intensitäten der Massen aus dem Spektrum erhält man durch eine Überführung des kontinuierlichen, gegebenenfalls geglätteten Massenspektrums (wie in den Abbildungen dargestellt) in ein Strichspektrum. Die Berechnung kann auf der Basis der Höhen oder der Flächen durchgeführt werden. Letztere Art der Berechnung wurde gewählt und die Intensitäten der Massen aus dem flächenbasierten Strichspektrum direkt ausgelesen.

Zu den Nachteilen der positiven FIA-MS gehört jedoch, daß die Alkohole bzw. die einfach ethoxylierten Verbindungen nicht nachgewiesen und quantifiziert werden konnten, da sie im positiven Modus nicht bzw. als Natriumaddukt zu schwach detektiert werden (im Rauschen). In diesem Fall wurde auf prozentuale Werte aus den anderen Bestimmungsmethoden zurückgegriffen und in das Gesamtergebnis (Gesamtgehalt und mittlerer EO-Grad) rechnerisch mit einbezogen.

5.4.5 Analyse der Alkylbromide nach Behandlung mit Bromwasserstoff

Wenn es sich um komplexe AEO-Gemische in Anwesenheit von detektierter Matrix handelt, sind die Chromatogramme der Alkylbromide aufgrund der Reduzierung der Anzahl der Peaks wesentlich leichter auswertbar. Jedoch kann nur bedingt die gefundene Alkylkettenverteilung überprüft werden. Bei dieser Methode muß beachtet werden, daß gerade Matrixinhaltsstoffe mit Kohlenwasserstoffketten nicht mit dem Trennungsgang abgetrennt werden. Sie können mit dem Bromwasserstoff reagieren, womit sie identische Reaktionsprodukte (Alkylbromide) bilden. Dies kann zu Überbefunden bei der Quantifizierung und falsch positiven Qualifizierungen führen.

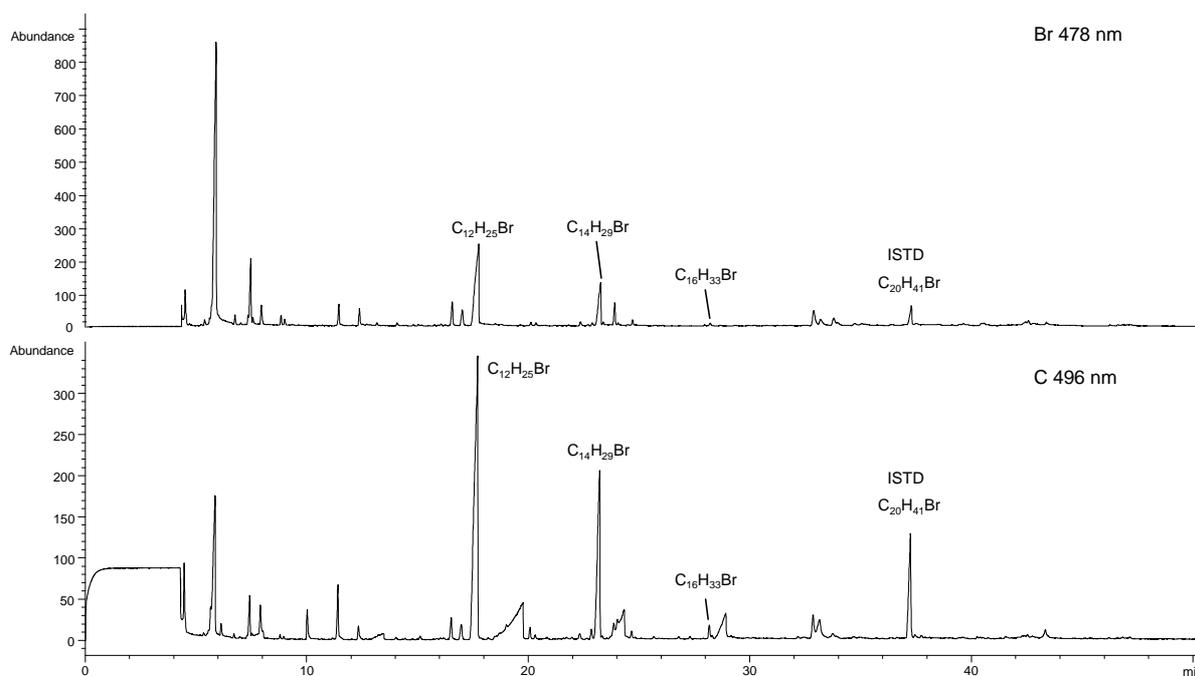


Abbildung 112: GC-AED, Brom- und Kohlenstoff-Spur der Alkylbromide von Bübchen Baby Bad nach Behandlung mit Bromwasserstoff. Parameter siehe Anhang A, Injektion: KAS

Abbildung 112 und Abbildung 113 zeigen Gaschromatogramme der Alkylbromide von dem Badezusatz Bübchen und dem Vollwaschmittel Spee Tabs nach Aufarbeitung und anschließender Behandlung mit Bromwasserstoff. Die Identifizierung der Alkylbromide erfolgte über die Retentionszeit und das Signal-Verhältnis in der Kohlenstoff- und Bromspur (siehe Abschnitt 4.6.2).

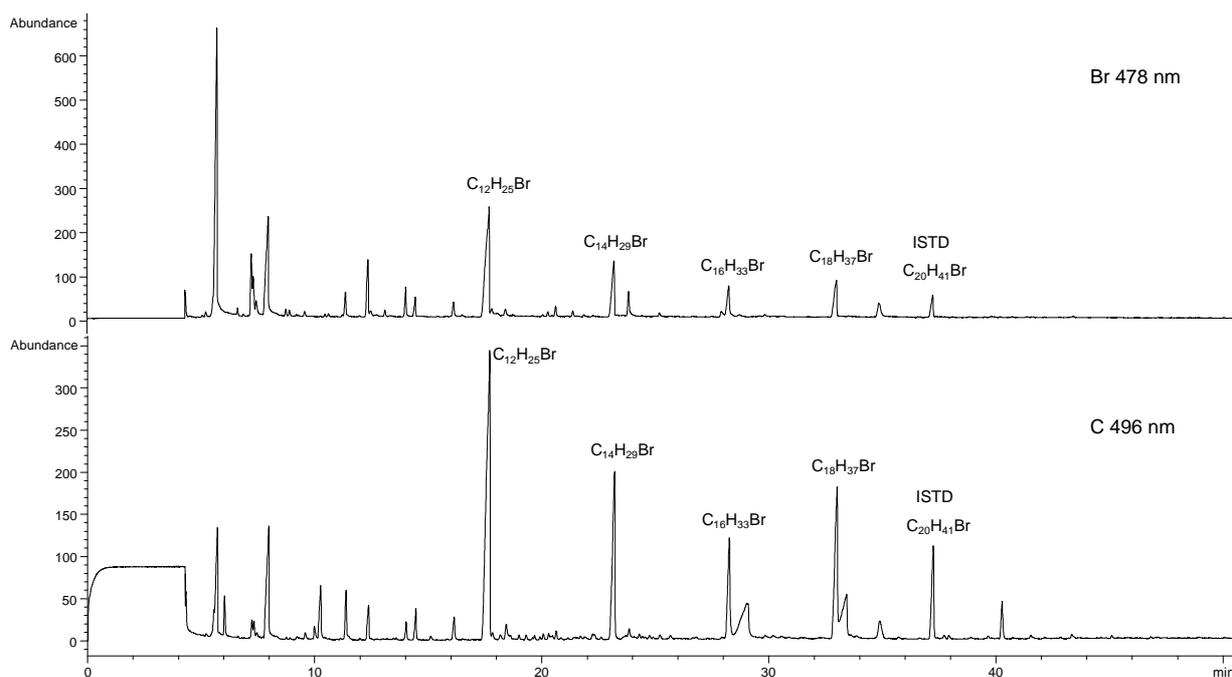


Abbildung 113: GC-AED, Brom- und Kohlenstoff-Spur der Alkylbromide von Spee Tabs nach Behandlung mit Bromwasserstoff. Parameter siehe Anhang A, Injekt.: KAS

5.4.6 Ergebnisse

In Tabelle 10 sind die Ergebnisse der Untersuchungen von Wasch- und Reinigungsmitteln bezüglich der Alkylkettenverteilung, des mittleren molaren Ethoxyierungsgrades und des Gehalts mit den verschiedenen Bestimmungsmethoden gegenübergestellt. Bei matrixreichen Proben wie dem Badezusatz können mit der HT-GC-AED-Methode die C16-Homologen, die zu insgesamt ca. 0,06% vorkommen aufgrund von Überlagerungen nicht mehr bestimmt werden. Das gleiche trifft auf die RP-HPLC-Methode zu, die zwar weniger von Matrixüberlagerungen betroffen ist, jedoch oftmals bezüglich der spät eluierenden C16-Komponenten keine ausreichende Empfindlichkeit zeigt. Die niedrigkonzentrierten C16-Komponenten konnten einzig mit der FIA-MS ausreichend sicher bestimmt werden. Die Leistungsfähigkeit dieser Methode wird auch daran gezeigt, daß die EO-Verteilungen aller Komponenten einen nahezu identischen EO-Grad aufweisen, was bei den anderen Methoden nicht der Fall ist, da die niedrigkonzentrierten hochethoxylierten Komponenten oft Matrixüberlagerungen oder der Nachweisgrenze zum Opfer fallen. Dennoch ist die FIA-MS auf die anderen Methoden angewiesen, über welche die zur Kalibrierung notwendigen technischen Standardgemische charakterisiert werden. Zudem können die Alkohole und die einfach ethoxylierten Verbindungen nicht quantifiziert werden und bedürfen zusätzlicher Bestimmungsmethoden.

Tabelle 10: Ergebnisse der Untersuchungen von Wasch- und Reinigungsmitteln (Alkylkettenverteilung, mittlerer molarer Ethoxylierungsgrad, Gehalt)

Angaben in Gewichtsprozent	Bübchen Baby Bad	Crisan Shampoo	Spee Tabs Vollwaschmittel	Ariel futur Vollwaschmittel
HT-GC-AED				
C12	70,4%	66,4%	50,9%	63,4%
C14	29,6%	29,9%	20,2%	30,0%
C16		3,7%	10,3%	6,6%
C18			18,6%	
EO (C12)	3,3	2,5	6,1	5,1
Gehalt	2,2%	0,5%	3,0%	3,8%
VK* (n = 3 - 4)	2,1%	6,9%	9,4%	4,2%
HPLC-UV				
C12		65,1%	58,8%	
C14		31,4%	16,3%	
C16		3,5% (C16E0!)	10,4%	
C18			14,5%	
EO (C12)		2,2	6,2	
Gehalt		0,4%	2,6%	
VK* (n = 2)			2,7%	
FIA-MS+				
C12	68,4%	68,7%	54,3%	66,5%
C14	28,4%	27,1%	21,0%	26,0%
C16	3,1%	4,2%	10,5%	7,5%
C18			14,2%	
EO (C12)	3,4	2,3	5,8	4,8
Gehalt	2,1%	0,7% (ΔT!)	2,6%	4,4%
GC, HBr				
C12	71,6%		56,4%	64,8%
C14	27,0%		20,4%	28,8%
C16	1,4%		9,0%	6,4%
C18			14,2%	
Gehalt	2,0%		3,8%	4,0%
VK** (n = 2)	5,0%		1,0%	0,3%
VK gesamt	4,8%	10,6% (ohne FIA-MS)	18,9%	7,5%
Deklaration (<i>Stelle in Aufzählung</i>)	Laureth-3 (5) Trideceth-9 (12)	Natriumlauryl-ethersulfat (2)	< 5% nichtionische Tenside	< 5% nichtion. und kation. Tenside

* Variationskoeffizient interexperimentell

** Variationskoeffizient intraexperimentell

Abbildung 114 zeigt zur graphischen Verdeutlichung der einzelnen Ergebnisse die Alkylkettenverteilung von Vollwaschmittel Spee Tabs mit vier unterschiedlichen Bestimmungsmethoden. Beim Vergleich zeigen die Werte der FIA-MS und der Alkylbromide die beste Übereinstimmung. Die Abweichungen der Werte der HT-GC-AED, lassen sich nur durch die fehlerhafte Integration der verrauschten Basislinie erklären, was zu Überbefunden bei den kleineren Peaks führen kann.

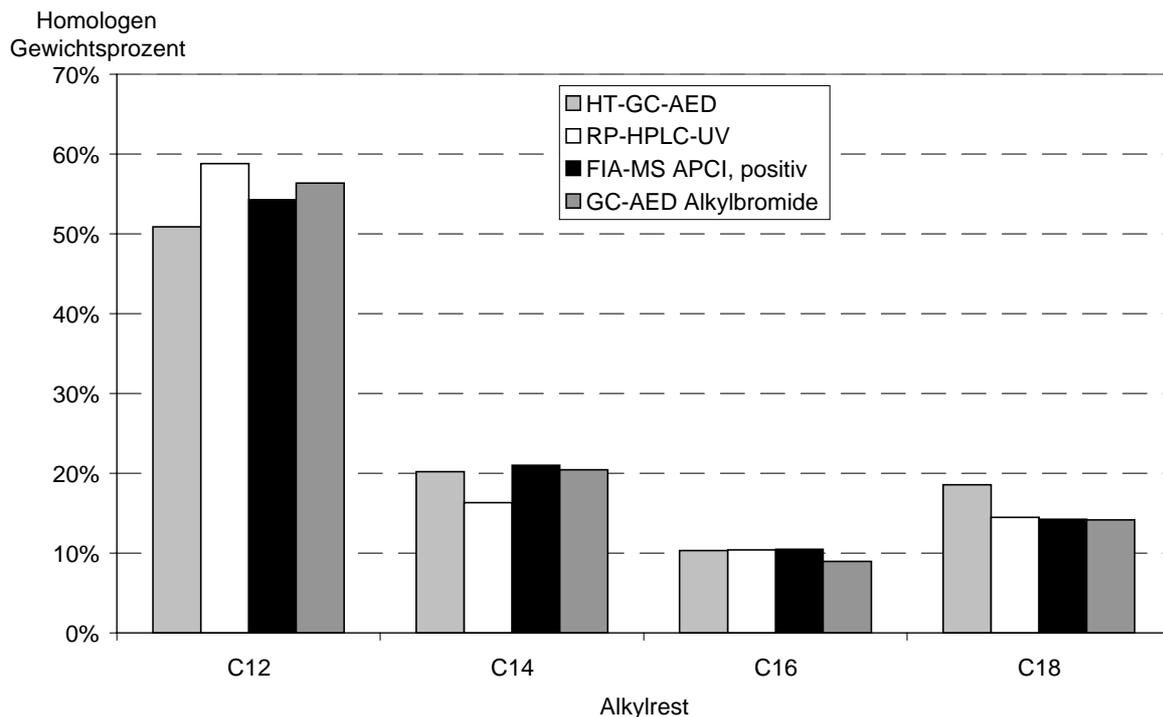


Abbildung 114: Alkylkettenverteilung von Vollwaschmittel Spee Tabs mittels unterschiedlicher Bestimmungsmethoden

Abbildung 115 zeigt die EO-Verteilungen der C12-Ethoxymeren des gefundenen AEO-Gemisches in Vollwaschmittel Spee Tabs. Die Kohlenstoff-Spur bei der HT-GC-AED-Messung ist von den meisten Störungen betroffen. Das hohe Rauschen führt hier zu einer ungenaueren Peakintegration. Die Verbindung C12E5 wird in beiden Spuren von einer Matrixverbindung überlagert, die sich ebenfalls silylieren lässt. Die universelle Kalibrierung in der Silizium-Spur ergibt Überbefunde bei den hochethoxylierten Verbindungen. Bei der FIA-MS schwanken die Intensitäten der Natrium-Addukte der niedrig ethoxylierten Verbindungen C12E2 und C12E3 infolge einer geringeren Empfindlichkeit. Die hoch ethoxylierten Verbindungen können durch die Kalibrierung mit dem niedriger ethoxylierten Gemisch Brij 30 nur hinreichend genau quantifiziert werden. Eine optisch runde Verteilung liefert hier die

RP-HPLC-UV. Dies trifft jedoch bei dieser Methode nur auf die früh eluierenden hochkonzentrierten C12-Homologen zu. Bei den stärker retardierten Komponenten ergeben sich Überlagerungen (Abbildung 106).

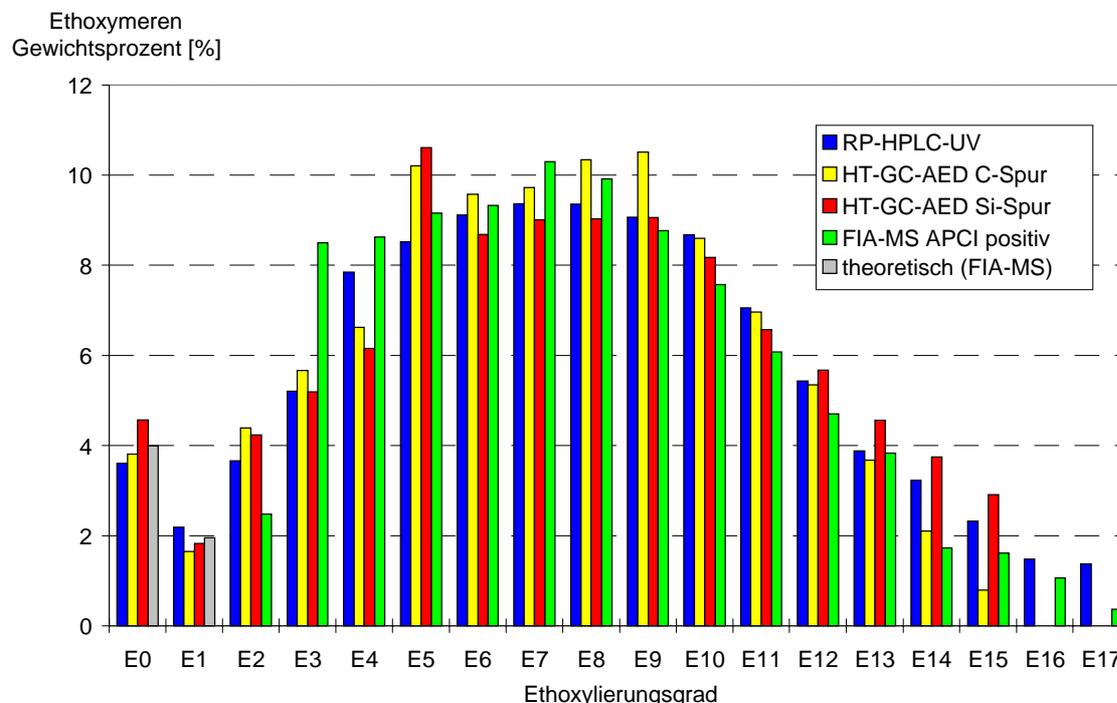


Abbildung 115: Vergleich der EO-Verteilung der C12-Ethoxymeren von Vollwaschmittel Spee Tabs nach Analyse mit verschiedenen Bestimmungsmethoden. Werte von E0 und E1 der Verteilung der FIA-MS theoretisch. Parameter der HT-GC-AED siehe Anhang A. Injektion: KAS. Parameter der RP-HPLC-UV siehe Anhang C. Parameter der FIA-MS siehe Anhang D

Abbildung 116 zeigt die EO-Verteilungen der C12-Ethoxymeren des gefundenen AEO-Gemisches in Crisan Shampoo, welches dem AES-Gemisch entstammt. Die Verbindung C12E3 wird in der Kohlenstoff-Spur von einer Matrixverbindung überlagert, jedoch nicht in der Silizium-Spur. Bei der FIA-MS wird das Natriumaddukt C12E2 in diesem Fall wieder sehr empfindlich detektiert. C12E10 war offensichtlich von einer Matrixverbindung überlagert und wurde nicht berücksichtigt, weil sich dieser hohe Wert verändernd auf die Verteilung auswirkte.

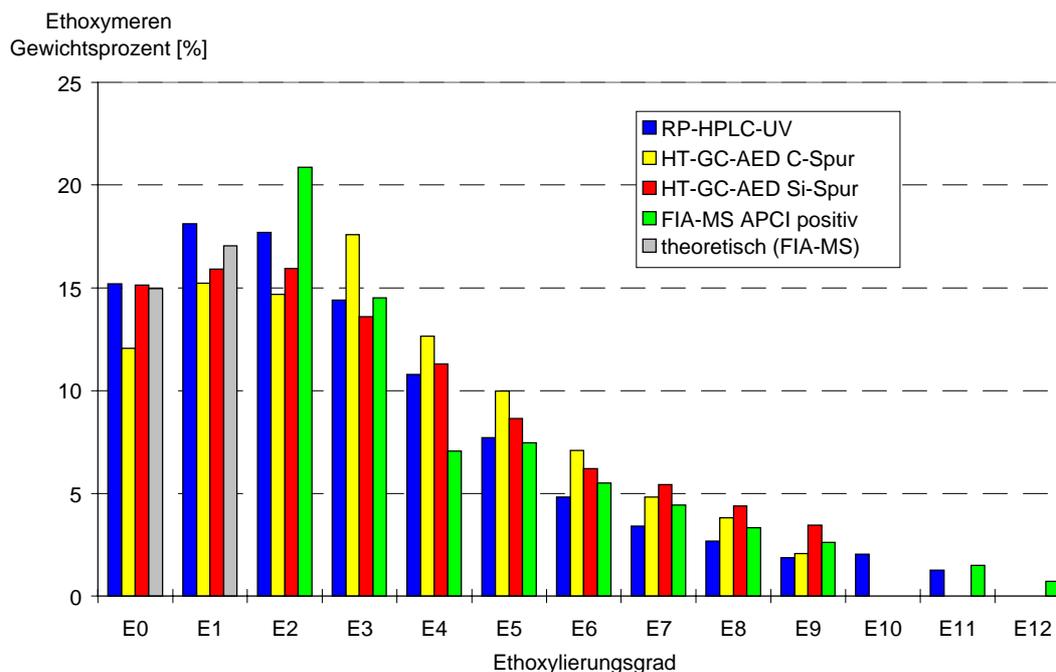


Abbildung 116: Vergleich der EO-Verteilung der C12-Ethoxymeren von Crisan Antischuppen-Shampoo nach Analyse mit RP-HPLC-UV und HT-GC-AED Kohlenstoff- sowie Silizium-Spur. Parameter der HT-GC-AED-Messung siehe Anhang A, Injektion: KAS. Parameter der RP-HPLC-UV-Messung siehe Anhang C

5.4.7 Wiederfindungen

Die ermittelten AEO-Gehalte der untersuchten Wasch- und Körperpflegemittel können nicht auf ihre Richtigkeit überprüft werden, da die Hersteller auch auf spezielle Anfrage keine Auskunft über die genaue Zusammensetzung ihrer Produkte geben. Aus diesem Grund wurden Produkte, die nachweislich kein AEO sowie AES enthalten, mit einer vergleichbaren Konzentration Brij 30 dotiert und gemäß Abschnitt 5.4.1 analysiert. Da kein Vollwaschmittel gefunden werden konnte, welches kein AEO enthält, wurde das Weichspülerkonzentrat Kuschelweich Sommerwind als eine Matrix für Textilpflegemittel sowie Penaten Baby Shampoo als eine Matrix für Körperpflegemittel herangezogen, die mit 5% bzw. 3% Brij 30 dotiert wurden. Um die Gesamteinflüsse der Aufarbeitung von den Matrixeinflüssen abgrenzen zu können wurde auch eine wässrige Brij 30-Lösung ohne Matrix aufgearbeitet. Die gefundenen Werte für die Alkylkettenverteilung, den EO-Grad und die Wiederfindungsraten sind in Tabelle 11 aufgeführt. Die angegebenen Wiederfindungen bei der HT-GC-AED- sowie RP-HPLC-UV-Methode wurden unter Berücksichtigung eines internen Standards ermittelt. Der interne Standard ist bei der Aufarbeitung unerlässlich. Da bei der FIA-MS die verdünnten Proben direkt vermessen werden, wurde die Wiederfindung ohne internen

Standard mit 80% ermittelt. Durch einen ISTD kann der Verlust von 20% ausgeglichen werden. Es handelt sich hier um eine verminderte Empfindlichkeit der Detektion (Suppression der Ionisierung) durch Matrixeinflüsse.

Tabelle 11: Wiederfindungen von Brij 30 mit und ohne Anwesenheit von Probenmatrix Alkylkettenverteilung, EO-Grad und Wiederfindung

Probe	Methode	C12	C14	C16	EO	Wiederfindung
Weichspüler Kuschelweich dotiert mit 5% Brij 30	HT-GC-AED	68,5%	25,3%	6,1%	4,1	92,1%
	RP-HPLC-UV	72,4%	23,3%	4,3%	4,1	103,5%
Penaten Baby Shampoo dotiert mit 3% Brij 30	HT-GC-AED	66,2%	27,5%	6,3%	4,1	95,2%
	FIA-MS+	67,6%	26,4%	6,0%	4	80,2%
Wasserprobe dotiert mit 5% Brij 30	HT-GC-AED	67,9%	26,5%	5,6%	4,2	109,3%
	RP-HPLC-UV	72,1%	23,6%	4,3%	4,4	103,7%
VK gesamt		3,7%	6,6%	16,7%	3,0%	10,8%

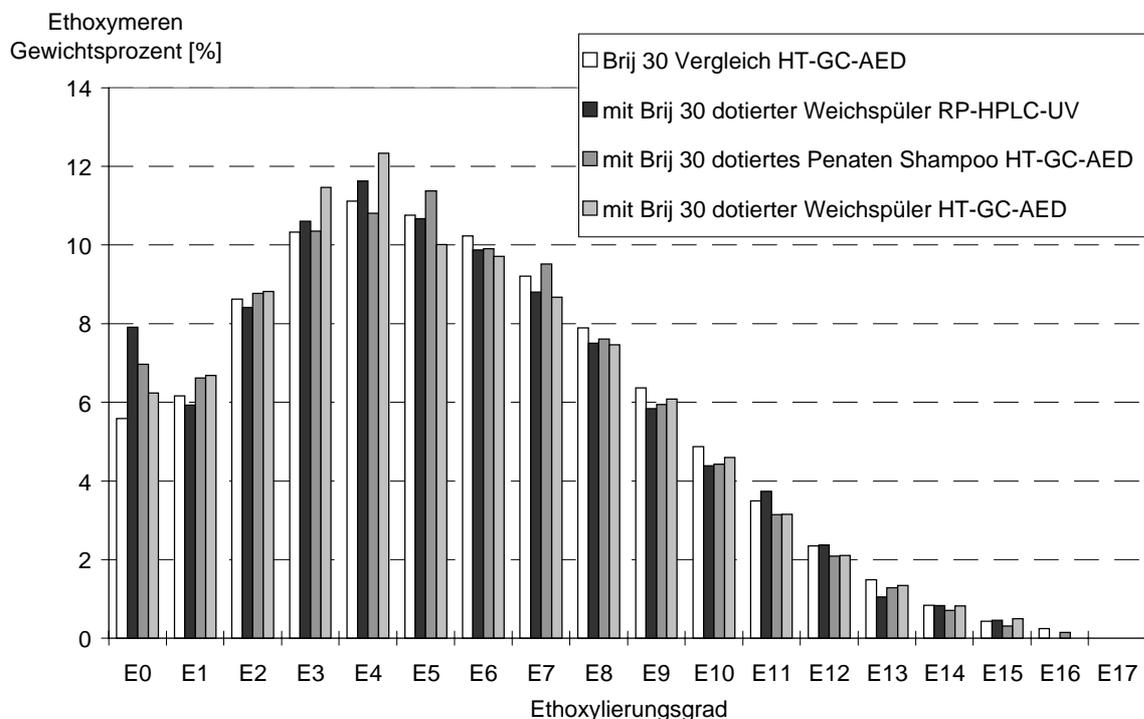


Abbildung 117: Vergleich der EO-Verteilung der C12-Ethoxymeren von Brij 30 nach Analyse in Gegenwart von Matrix. Parameter der HT-GC-AED siehe Anhang A, Injektion: KAS. Parameter der RP-HPLC-UV siehe Anhang C

Abbildung 117 stellt die gefundenen Ethoxymereverteilungen der C12-Ethoxymere von Brij 30 nach Analyse mit und ohne Anwesenheit von Matrix gegenüber.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Analysenergebnisse von Wasch- und Körperpflegemitteln mit der beschriebenen Aufarbeitungsmethode und HT-GC-AED-Bestimmung aufgrund der Interferenz mit Matrixinhaltsstoffen kritisch überprüft sein sollten.

Es zeigte sich jedoch, daß auch die anderen Bestimmungsmethoden von teilweisen Störungen durch Matrixbestandteile betroffen sind. Die Matrixbestandteile in Formulierungen sind den AEO sehr ähnlich und können daher mit dem entwickelten Trennungsgang nicht abgetrennt werden. Durch die Interferenzen liegen die Variationskoeffizienten der Ergebnisse im Vergleich bei ca. 15%. Die Genauigkeit der Quantifizierung wird daher ebenfalls mit dem Faktor $\pm 15\%$ angesetzt. Die jeweils deklarierten Inhaltsstoffe der Produkte konnten mit allen Bestimmungsmethoden nachgewiesen werden. Probleme ergeben sich jedoch bei der Quantifizierung von AEO bei Gehalten von unter 0,1% in der Formulierung

6 ZUSAMMENFASSUNG

Im Sonderforschungsbereich 193 der Deutschen Forschungsgemeinschaft werden im Rahmen von interdisziplinären Projekten von Ingenieuren, Lebensmittel-/Chemikern und Biologen Möglichkeiten der Aufbereitung von Prozeßabwässern untersucht. Der Projektbereich E des Sfb 193 befaßt sich mit der Behandlung von Prozeßabwässern der Tensidproduktion im Hinblick auf Produktrückgewinnung bzw. biologischen Abbau der Tenside. Zu der wichtigsten Klasse der nichtionischen Tenside gehören die Alkylethoxylate, die in ihrer Zusammensetzung sehr komplexe Gemische darstellen. Ziel des Teilprojektes E2b, in dessen Rahmen diese Arbeit entstanden ist, war es, Methoden zu erarbeiten, mit denen AEO in ihre Einzelkomponenten aufgetrennt werden können. Nach Quantifizierung der Einzelkomponenten kann deren Verhalten bei verfahrenstechnischen Prozessen, Adsorptionsversuchen sowie dem mikrobiellem Abbau verfolgt und bewertet werden.

Zur Aufarbeitung der Prozeßabwasser-Proben wurde neben der Gefriertrocknung und einer Flüssig-Flüssig-Extraktion eine Aufarbeitungsmethode mit Festphasenextraktion an graphitisiertem Kohlenstoff (ENVI-CARB) entwickelt. Die Wiederfindung der Substanzen liegt bei ca. 95%. Zur Aufarbeitung von Waschmittel- und Körperpflegeprodukten wurde diese Aufarbeitungsmethode erweitert, da in diesem Fall die Abtrennung weiterer Probenbestandteile, wie Alkylpolyglucoside und Alkylethersulfate, dringend erforderlich ist. Die Abtrennung der APG gelingt mittels Kieselgel, die Abtrennung von AES wird mit Hilfe eines Anionenaustauschers erreicht.

Die Analyse der komplexen AEO-Gemische gelingt nach Derivatisierung mittels Hochtemperatur-Gaschromatographie, bei der eine Auftrennung sowohl nach der Länge des Alkylrestes als auch nach dem Ethoxylierungsgrad möglich ist. Die HT-GC wurde erfolgreich mit der Atomemissionsdetektion gekoppelt. Diese Detektionsmethode hat den Vorteil, daß Elemente in homologen Reihen einen Response zeigen, der direkt proportional zu ihrer Stoffmenge ist. So kann über die betreffenden Elementspuren Kohlenstoff oder Sauerstoff eine komponentenunabhängige "universelle" Kalibrierung durchgeführt werden, ohne daß alle Referenzsubstanzen zur Verfügung stehen müssen. Wird eine Derivatisierung durch Silylierung der endständigen Hydroxylgruppe durchgeführt, so wird zusätzlich eine Bestimmung in der selektiven Silizium-Elementspur ermöglicht, wodurch sich mögliche Matrixkomponenten ausblenden lassen.

Die Absicherung der gefundenen Alkylkettenlänge der AEO erfolgt durch Umsetzung der aufgearbeiteten Proben mit Bromwasserstoff. Über die Quantifizierung der Alkylbromide mittels GC-MS oder GC-AED wird die Alkylkettenverteilung bestimmt. Bei Doppelbindungen in der Alkylkette erfolgt eine Addition des Bromwasserstoffs. So entstehen aus einfach ungesättigten Verbindungen zweifach bromierte und aus zweifach ungesättigten Verbindungen dreifach bromierte Kohlenwasserstoffketten. Die Addition des Bromwasserstoffs konnte mit Hilfe der Atomemissionsdetektion über Berechnungen der Element-Verhältnisse (C:Br) bestätigt werden. Durch die Mehrfachbromierung wird die gaschromatographische Trennung dieser Verbindungen verbessert und ihre Zuordnung erleichtert. Damit sind AEO-Gemische, wie das im Teilprojekt E häufig verwendete Eumulgin ET 5, hinsichtlich vorkommender ungesättigter Alkylreste leichter analysierbar.

Die HT-GC-AED bereitet jedoch Schwierigkeiten bei der Analyse von höher ethoxylierten AEO, da sie selbst nach Derivatisierung zunehmend schwerer verdampfbar werden. Höher ethoxylierte Gemische lassen sich nach Derivatisierung mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid durch HPLC-UV bestimmen. Auch mit dieser Detektionsmethode ist eine universelle Kalibrierung möglich. Bei Einsatz einer RP-C18-Phase und eines Acetonitril-Wasser-Gradienten erfolgt die Trennung der AEO ebenfalls nach der Länge des Alkylrestes und nach dem Ethoxylierungsgrad. Diese Methode eignet sich jedoch nur bedingt für komplexe AEO-Gemische mit mehreren Alkylresten, da es durch das geringere Auflösungsvermögen der HPLC leicht zu Peaküberlagerungen kommt. Die zusätzliche Auftrennung nach der Länge des Alkylrestes entfällt bei der NP-HPLC, welche an einer modifizierten Normalphase mit 3-Aminopropylresten durchgeführt wurde. Die Trennung erfolgt in diesem Fall allein nach dem hydrophilen Teil, also nach der Länge der Ethoxylatkette.

Eine sehr schnelle Analyse ohne jegliche Aufarbeitung der Proben ist mit der Fließinjektion in Kopplung mit der Massenspektrometrie möglich. Die AEO können mit dieser Methode ohne Derivatisierung im wässrigen oder organischen Milieu detektiert werden. Diese Detektion liefert jedoch keine berechenbaren Responsefaktoren. Die Quantifizierung gelingt daher nur über die Kalibrierung mit technischen AEO-Gemischen, die vorerst über andere Methoden wie GC oder HPLC charakterisiert werden müssen. Selbst dann ist aber auch die Detektion der Alkohole - und bei der Detektion von Natriumaddukten - die der einfach ethoxylierten Verbindungen nicht möglich, die somit über andere Methoden bestimmt werden müssen.

Die beschriebenen Methoden konnten erfolgreich zur Bestimmung von Prozeßabwasserproben aus der Kooperation mit den Teilprojekten E1, E3a sowie E4 eingesetzt werden. In

diesen Teilprojekten wird die Anwendung der unterschiedlichen physikalisch-chemischen Trennverfahren zur Anreicherung der Tenside aus den Spülabwässern untersucht.

Die Analyse von Proben aus der Schaumfraktionierung ergab, daß durch das Anreicherungsverfahren Veränderungen der AEO-Alkylkettenverteilung auftreten. Diese wurden anhand verschiedener AEO-Gemische und im mehrstufigen Prozeß der Schaumfraktionierung bestätigt. Leichte Veränderungen der Zusammensetzung ergeben sich auch bei Anwendung des Adsorptionsverfahrens. Lediglich das Verfahren der Ultrafiltration zeigt bei der Anwendung keine Auswirkungen auf die Zusammensetzung der wäßrigen AEO-Gemische.

Zur analytischen Verfolgung des biologischen Abbaus von AEO im Teilprojekt E3b wurden wäßrige Proben aus der Laborversuchskläranlage aufgearbeitet und analysiert. Dabei konnten keine schwer abbaubaren Oligomeren nachgewiesen werden. Es kommt zu einem langsameren Abbau des Metaboliten Polyethylenglykol, der mit mehreren Methoden nachgewiesen werden konnte. Nach Adaption der mikrobiellen Mischkultur wird jedoch auch das PEG zu Kohlendioxid und Wasser abgebaut.

Bei der Analyse von Waschmitteln und Körperpflegemitteln zeigte sich, daß alle entwickelten Bestimmungsmethoden von teilweisen Störungen durch Matrixbestandteile betroffen sind. Die Matrixbestandteile in Formulierungen sind den AEO sehr ähnlich und können daher mit Hilfe des entwickelten Trennungsgangs nicht vollständig abgetrennt werden. Die Variationskoeffizienten der Ergebnisse im Vergleich liegen bei ca. 15%. Die deklarierten Inhaltsstoffe der Produkte konnten nachgewiesen und mit dieser Genauigkeit bestimmt werden. Probleme ergeben sich jedoch bei der Quantifizierung von AEO bei Gehalten von unter 0,1% im Produkt.

7 LITERATUR

Abkürzungen von zitierten Zeitschriften:

Acta Biotechnol.	Acta Biotechnologica
Anal. Chem.	Analytical Chemistry
Bull. Chem. Soc. Jpn.	Bulletin of the Chemical Society of Japan
Environ. Sci. Technol.	Environmental Science and Technology
Fresenius' J. Anal. Chem.	Fresenius' Journal of Analytical Chemistry
Fresenius' Z. Anal. Chem.	Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie
GIT Fachz. Lab.	GIT Fachzeitschrift für das Laboratorium
J. Am. Oil Chem. Soc.	Journal of the American Oil Chemists' Society
J. Anal. At. Spectrom.	Journal of Analytical Atomic Spectrometry
J. Chromatogr. (A)	Journal of Chromatography (A)
J. Chromatogr. Sci.	Journal of Chromatographic Science
J. High Resolut. Chromatogr.	Journal of High Resolution Chromatography
J. Mass Spectrom.	Journal of Mass Spectrometry
J. Microcol. Sep.	Journal of Microcolumn Separations
Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.	Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmittel- untersuchung und Hygiene
Tenside Deterg.	Tenside Detergents, später:
Tenside Surf. Det.	Tenside Surfactants Detergents

Allen, M.C.; Linder, D.E. (1981): Ethylene Oxide Oligomer Distribution in Nonionic Surfactants via High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *J. Am. Oil Chem. Soc.* 58: 950-957.

Andersson, J.T.; Schmid, B. (1993): The atomic emission detector in gas chromatographic trace analysis. Some studies on the performance and applications. *Fresenius' J. Anal. Chem.* 346: 403-409.

Aranda, R.; Burk, R.C. (1998): Determination of a non-ionic surfactant by solid-phase microextraction coupled with high-performance liquid chromatography and on-line derivatization. *J. Chromatogr. A* 829: 401-406.

Aserin, A.; Frenkel, M.; Garti, N. (1984): HPLC Analysis of Nonionic Surfactants. Part IV. Polyoxyethylene Fatty Alcohols. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 61: 805-809.

Barry, J.P.; Radtke, D.R.; Carton, W.J.; Anselmo, R.T.; Evans, J.V. (1998): Analysis of ethoxylated polymers by capillary electrophoresis in UV-transparent polymer networks and by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 800: 13-19.

- Bartsch, H.; Straßner, M.; Hintze, U. (1998):** Characterization and Identification of Ethoxylated Surfactants by Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry. *Tenside Surf. Det.* 35: 94-102.
- Behler, A.; Raths, H.-C.; Guckenbiehl, B. (1996):** Neue Entwicklungen auf dem Gebiet der nichtionischen Tenside. *Henkel-Referate* 32: 7-12. Veröffentlicht in *Tenside Surf. Det.* 33: 64.
- Bourne, M.C.; Jennings, W.G. (1963):** Definition of the word "Detergent". *J. Am. Oil Chem. Soc.* 40: 212.
- Brockhaus (1993):** Enzyklopädie. 19. Aufl. FA Brockhaus, Mannheim.
- Brüschweiler, H. (1977):** Analyse von nichtionogenen grenzflächenaktiven Verbindungen (Emulgatoren) mittels Hochdrucksäulenchromatographie. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* 68: 46-63.
- Castillo, M.; Alonso, M.C.; Riu, J.; Barceló, D. (1999):** Identification of Polar, Ionic, and Highly Water Soluble Organic Pollutants in Untreated Industrial Wastewaters. *Environ. Sci. Technol.* 33: 1300-1306.
- Crescenzi, C.; Di Corcia, A.; Passariello, G.; Samperi, R.; Turnes Carou, M.I. (1996):** Evaluation of two new examples of graphitized carbon blacks for use in solid-phase extraction cartridges. *J. Chromatogr. A* 733: 41-55.
- Crescenzi, C.; Di Corcia, A.; Samperi, R. (1995):** Determination of Nonionic Polyethoxylate Surfactants in Environmental Water by Liquid Chromatography/Electrospray. *Anal. Chem.* 67: 1797-1804.
- Cserháti, T.; Forgács, E. (1997):** Separation and quantitative determination of non-ionic surfactants used as pesticide additives. *J. Chromatogr. A* 774: 265-279.
- Cumme, G.A.; Blume, E.; Bublitz, R.; Hoppe, H.; Horn, A. (1997):** Composition analysis of detergents of the polyoxyethylene type: comparison of thin-layer chromatography, reversed-phase chromatography and matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 791: 245-253.
- Dabiri, A.R.; Dietsch, O.; Findenegg, G. (1998):** Tensidanreicherung durch Adsorption an hydrophilen Adsorbentien nach einem Temperatur-Swing-Verfahren: Grundlagen und Grenzen. *Schriftenreihe Biologische Abwasserreinigung Band 10: Entwicklungen zur Produkt- und Wasserrückgewinnung aus Industrieabwässern, Tagungsband zum Kolloquium an der Technischen Universität Berlin am 16. bis 17.11.1998 (Hrsg. Sonderforschungsbereich 193) S. 207-217.*
- Desbène, P.L.; Desmazierès, B. (1994):** Analytical study of polyoxyethylene surfactants of high degree of condensation by normal-phase liquid chromatography on p-nitrophenyl-bonded silica. *J. Chromatogr. A* 661: 207-213.
- Desbène, P.L.; Desmazierès, B.; Basselier, J.J.; Desbène-Monvernay, A. (1989):** Analytical study of non-ionic surfactants used in enhanced oil recovery. Optimization of analytical conditions in reversed-phase partition chromatography. *J. Chromatogr.* 461: 305-313.
- Desbène, P.L.; Portet, F.I.; Goussot, G.J. (1996):** Quantitative trace analysis of surfactant mixtures by RP-HPLC with RI detection. *J. Chromatogr. A* 730: 209-218.
- Di Corcia, A. (1998):** Characterization of surfactants and their biointermediates by liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 794: 165-185.

- Di Corcia, A.; Crescenzi, C.; Marcomini, A.; Samperi, R. (1998):** Liquid Chromatography-Electrospray-Mass Spectrometry as a Valuable Tool for Characterizing Biodegradation Intermediates of Branched Alcohol Ethoxylate Surfactants. *Environ. Sci. Technol.* 32: 711-718.
- DIN 38 409 (1980):** Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H). Bestimmung der methylenblauaktiven und der bismutaktiven Substanzen (H 23). Verfahren DIN 38 409-H 23-1.
- Dowle, C.J.; Campbell, W.C. (1988):** Pyrolysis Gas Chromatographic Analysis of Alcohol Polyethoxylates with Hydrobromic Acid Cleavage of the Ether Linkages. *Analyst* 113: 1241-1244.
- Evans, K.A.; Dubey, S.T.; Kravetz, L.; Dzidic, I.; Gumulka, J.; Mueller, R.; Stork, J.R. (1994):** Quantitative Determination of Linear Primary Alcohol Ethoxylate Surfactants in Environmental Samples by Thermospray LC/MS. *Anal. Chem.* 66: 699-705.
- Evans, K.A.; Dubey, S.T.; Kravetz, L.; Evetts, S.W.; Dzidic, I.; Dooyema, C.C. (1997):** Quantitation of Alcohol Ethoxylate Surfactants in Environmental Samples by Electrospray Mass Spectrometry. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74: 765-792.
- Falbe, J. (Editor) (1987a):** Surfactants in Consumer Products. Theory, Technology and Application. Springer Verlag, Heidelberg. S. 26.
- Falbe, J. (Editor) (1987b):** Surfactants in Consumer Products. Theory, Technology and Application. Springer Verlag, Heidelberg. S. 288.
- Falbe, J. (Editor) (1987c):** Surfactants in Consumer Products. Theory, Technology and Application. Springer Verlag, Heidelberg. S. 384.
- Fendinger, N.J.; Begley, W.M.; McAvoy, D.C.; Eckhoff, W.S. (1995):** Measurement of Alkyl Ethoxylate Surfactants in Natural Waters. *Environ. Sci. Technol.* 29: 856-863.
- Fischesser, G.J.; Seymour, M.D. (1977):** Determination of alkyl ethoxylate mixtures by programmed multiple development thin-layer chromatography. *J. Chromatogr.* 135: 165-172.
- Gaskell, S.J. (1997):** Electrospray: Principles and Practice. *J. Mass Spectrom.* 32: 677-688.
- Gawalek, G. (1975):** Tenside. Akademie Verlag, Berlin S. 258.
- Gelencsér, A.; Szépvölgyi, J.; Hlavay, J. (1993):** Characterization of an element-specific detector for combined gas chromatography-atomic emission detection. *J. Chromatogr. A* 654: 269-277.
- Goers, B. (2000):** Spülwassermanagement und Tensidrückgewinnung in Mehrproduktanlagen mit Membranverfahren. Dissertation, Technische Universität Berlin.
- Goers, B.; Wozny, G. (1998):** Spülwassermanagement unter Verwendung von Membrantrennverfahren. Schriftenreihe Biologische Abwasserreinigung Band 10: Entwicklungen zur Produkt- und Wasserrückgewinnung aus Industrieabwässern, Tagungsband zum Kolloquium an der Technischen Universität Berlin am 16. bis 17.11.1998 (Hrsg. Sonderforschungsbereich 193) S. 151-168.
- Götte, E. (1960):** Vorschläge zur Terminologie der grenzflächenaktiven amphiphilen Verbindungen. *Fette, Seifen, Anstrichmittel* 62: 789-790.
- Grob, R.L. (1985):** Modern practice of gas chromatography. 2. Aufl., Wiley, New York.

- Gurka, D.F.; Pyle, S.; Titus, R. (1997):** Environmental Applications of Gas Chromatography/Atomic Emission Detection. *Anal. Chem.* 69: 2411-2417.
- Hammes, C.; Meister, J.; Berchter, M. (1996):** Tensidanalytik mit MALDI-TOF-MS. Kurzfassung eines Vortrages auf der "51. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Fettwissenschaft" vom 6. bis 8.10.96 in Bremen. *Henkel-Referate* 33: 108-114.
- Heinig, K.; Vogt, C.; Werner, G. (1997):** Separation of nonionic surfactants of the polyoxyethylene type by capillary electrophoresis. *Fresenius' J. Anal. Chem.* 357: 695-700.
- Heinig, K.; Vogt, C.; Werner, G. (1998):** Separation of Nonionic Surfactants by Capillary Electrophoresis and High-Performance Liquid Chromatography. *Anal. Chem.* 70: 1885-1892.
- Hennion, M.-C. (1999):** Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 856: 3-54.
- Hesse, M.; Meier, H.; Zeeh, B. (1991):** Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie. 4. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart.
- Hewlett Packard (1992):** Methodik und Applikationen in der Kapillargaschromatographie. Buch der Umweltanalytik, Band 4, Hrsg. E. Weber und R. Weber, GIT Verlag, Darmstadt.
- Hoffmann, H. (1963):** Über Derivate der Sulfobernsteinsäure-Halbestere als Detergentien mit milder Hautwirkung. *Fette, Seifen, Anstrichmittel* 65: 748-752.
- Hohm, G. (1990):** Dünnschichtchromatographische Methoden bei der qualitativen und quantitativen Untersuchung von tensidhaltigen Präparaten. *Seifen-Öle-Fette-Wachse* 116: 273-280.
- Jandera, P.; Holcapek, M.; Theodoridis, G. (1998):** Investigation of chromatographic behaviour of ethoxylated alcohol surfactants in normal-phase and reversed-phase systems using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 813: 299-311.
- Jennings, W. (1987):** Analytical gas chromatography. Academic Press, Orlando, FL, USA.
- Jewett, B.N.; Ramaley, L.; Kwak, J.C.T. (1999):** Atmospheric pressure ionization mass spectrometry techniques for the analysis of alkyl ethoxysulfate mixtures. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 10: 529-536.
- Julià-Danés, E.; Casanovas, A.M. (1979):** Application of mass spectrometry to the analysis of non-ionic surfactants. *Tenside Deterg.* 16: 317-323.
- Kibbey, T.C.G.; Yavaraski, T.P.; Hayes, K.F. (1996):** High-performance liquid chromatographic analysis of polydisperse ethoxylated non-ionic surfactants in aqueous samples. *J. Chromatogr. A* 752: 155-165.
- Kiewiet, A.T.; De Voogt, P. (1996):** Chromatographic tools for analyzing and tracking non-ionic surfactants in the aquatic environment. *J. Chromatogr. A* 733: 185-192.
- Kiewiet, A.T.; van der Steen, J.M.D.; Parsons, J.R. (1995):** Trace Analysis of Ethoxylated Nonionic Surfactants in Samples of Influent and Effluent of Sewage Treatment Plants by High-Performance Liquid Chromatography. *Anal. Chem.* 67: 4409-4415.
- Komárek, K.; Minár, J.; Skvarenina, S. (1996):** Capillary gas chromatography of higher alkylpolyoxyethylene glycols with an even number of carbon atoms in the alkyl group. Influence of type of derivatizing agent, alcohol chain length and oxyethylene chain

- length on the retention indices with a linear temperature increase. *J. Chromatogr. A* 727: 131-138.
- Komárek, K.; Pitthard, V.; Kostrubanicová, E.; Skvarenina, S.; Hoffmann, J. (1997):** Capillary GC-MS of lower oxyethylenated aliphatic alcohols. *J. Chromatogr. A* 773: 219-226.
- König, H. (1970):** Trennung nichtionogener Tenside mittels Dünnschicht-Chromatographie. *Z. Anal. Chem.* 251: 167-171.
- König, H.; Ryschka, R.; Strobel, W. (1985):** Trennung, Identifizierung und Bestimmung nichtionischer Tenside mittels Hochleistung-Flüssigkeits-Chromatographie. *Fresenius' Z. Anal. Chem.* 321: 263-267.
- Kosswig, K.; Stache, H. (1993):** Die Tenside. Carl Hanser Verlag, München, Wien.
- Kovacic, N.; Ramus, T.L. (1992):** Application of a Microwave-induced Plasma Atomic Emission Detector for Quantification of Halogenated Compounds by Gas Chromatography. *J. Anal. At. Spectrom.* 7: 999-1005.
- Kravetz, L.; Salanitro, J.P.; Dorn, P.B.; Guin, K.F. (1991):** Influence of Hydrophobe Type and Extent of Branching on Environmental Response Factors of Nonionic Surfactants. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 68: 610-618.
- Krusche, G. (1990):** Perspektiven der Tensidanalytik. *Tenside Surf. Det.* 27: 122-129.
- Lemr, K.; Zanette, M.; Marcomini, A. (1994):** Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of 1-naphthyl isocyanate derivatives of linear alcohol polyethoxylates. *J. Chromatogr. A* 686: 219-224.
- Linkerhägner, M. (1994):** Bestimmung von Pflanzenschutzmittelrückständen mittels Kapillargaschromatographie und Atomemissionsdetektion. Dissertation, Technische Universität Berlin. Shaker Verlag, Aachen.
- Longman, G.F. (1975):** The Analysis of Detergents and Detergent Products. John Wiley & Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto.
- Luke, B.G. (1973):** The analysis of alkylene oxide-fatty alcohol condensates by gas-liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 84: 43-49.
- Marcomini, A.; Pojana, G.; Patrolecco, L.; Capri, S. (1998):** Determination of nonionic aliphatic and aromatic polyethoxylated surfactants in environmental aqueous samples. *Analisis* 26: 64-69.
- Marcomini, A.; Zanette, M. (1996):** Chromatographic determination of non-ionic aliphatic surfactants of the alcohol polyethoxylate type in the environment. *J. Chromatogr. A* 733: 193-206. *Mass Spectrometry. Anal. Chem.* 67: 1797-1804.
- Matthijs, E.; Hennes, E.C. (1991):** Determination of Surfactants in Environmental Samples. *Tenside Surf. Det.* 28: 22-27.
- Mavrov V., Chmiel H., Geitner C. (1996):** Untersuchungen zur Selektivität unterschiedlicher Ultrafiltrations- und Mikrofiltrationsmembranen gegenüber Tensidkomponenten bei der Aufarbeitung von Öl-Wasser-Emulsionen. *Colloquium Produktionsintegrierter Umweltschutz: Abwässer der metallverarbeitenden Industrie, Bremen, 2. – 4.9.1996, GVC Preprints: C73-C90.*
- McClure, J.D. (1982):** Determination of Ethylene Oxide Oligomer Distributions in Alcohol Ethoxylates by HPLC Using a Rotating Disc-Flame Ionization Detector. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 59: 364-373.

- Micromass (1998):** Quattro LC Operator Training Course. Issue 1.
- Morgan, G.; Wiesmann, U. (1998):** Spülwasser- und Tensidrückgewinnung durch mehrfache Schaumfraktionierung. Schriftenreihe Biologische Abwasserreinigung Band 10: Entwicklungen zur Produkt- und Wasserrückgewinnung aus Industrieabwässern, Tagungsband zum Kolloquium an der Technischen Universität Berlin am 16. bis 17.11.1998 (Hrsg. Sonderforschungsbereich 193) S. 219-235.
- Morgan, G.; Wiesmann, U. (2000):** Single and Multi-stage Foam Fractionation of Rinse Water with Alkyl Ethoxylate Surfactants. In Veröffentlichung.
- Munari, F.; Colombo, P.A.; Magni, P.; Zilioli, G.; Trestianu, S.; Grob, K. (1995):** GC Instrumentation for On-Column Injection of Large Volumes; Automated Optimization of Conditions. *J. Microcol. Sep.* 7: 403-409.
- Murphy, R.E.; Schure, M.E.; Foley, J.P. (1998):** One- and Two-Dimensional Chromatographic Analysis of Alcohol Ethoxylates. *Anal. Chem.* 70: 4353-4360.
- Niessen, W.M.A. (1999):** State-of-the-art in liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 856: 179-197.
- Nitschke, L. (1999):** Wasch- und Reinigungsmitteltenside im Wasser. *GIT Fachz. Lab.* 7: 730-731.
- Nitschke, L.; Huber, L. (1993):** Analysis of ethoxylated alcohol surfactants in water by HPLC. *Fresenius' J. Anal. Chem.* 345: 585-588.
- Nozawa, A.; Ohnuma, T. (1980):** Improved high-performance liquid chromatographic analysis of ethylene oxide condensates by their esterification with 3,5-dinitrobenzoyl chloride. *J. Chromatogr.* 187: 261-263.
- Pasch, H.; Resch, M. (1996):** Polymeranalytik mit MALDI-MS. *GIT Fachz. Lab.* 2: 90-95.
- Patterson, S.J.; Scott, C.C.; Tucker, K.B.E. (1967):** Nonionic Detergent Degradation. I. Thin-Layer Chromatography and Foaming Properties of Alcohol Polyethoxylates. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 44: 407-412.
- Pedersen-Bjergaard, S.; Asp, T.N.; Greibrokk, T. (1992):** Factors Affecting C:H and C:N Ratios Determined by Gas Chromatography Coupled with Atomic Emission Detection. *J. High Resolut. Chromatogr.* 15: 89-93.
- Perkins, E.G. (Hrsg.) (1991):** Analyses of Fats, Oils and Lipoproteins, American Oil Chemists' Society (AOCS).
- Rasmussen, H.T.; Pinto, A.M.; DeMouth, M.W.; Touretzky, P.; McPherson, B.P. (1994):** High Temperature Gas Chromatography of Trimethylsilyl Derivatives of Alcohol Ethoxylates and Ethoxysulfates. *J. High Resolut. Chromatogr.* 17: 593-596.
- Rissler, K. (1996):** High-performance liquid chromatography and detection of polyethers and their mono(carboxy)alkyl and -arylalkyl substituted derivatives. *J. Chromatogr. A* 742: 1-54.
- Rockwood, A.L.; Higuchi, T. (1992):** Liquid Chromatography/Mass Spectrometry (LC/MS) Analysis of Non-Ionic Surfactants Using the FRIT-FAB Method. *Tenside Surf. Det.* 29: 6-12.
- Römpp (1981):** Chemie Lexikon. Neumüller, O.-A., (Hrsg.) 8. Aufl. Frankh'sche Verlagshandlung, Stuttgart.

- Rothbächer, H.; Korn, A.; Mayer, G. (1993):** Zur Analytik von Neutraltensiden in Reinigern der Automobilfertigung. *Tenside Surf. Det.* 30: 165-173.
- Saito, Y.; Sato, T.; Anazawa, I. (1989):** The Determination of the poly(oxyethylene) Oligomer Distribution in a Nonionic Surfactant by Means of Thin-Layer Chromatography. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 62: 3709-3710.
- Sandra, P.; David, F. (1990):** Microcolumn Chromatography for the Analysis of Detergents and Lubricants. *J. High Resolut. Chromatogr.* 13: 414-417.
- Sato, T.; Saito, Y.; Anazawa, I. (1988):** Polyoxyethylene Oligomer Distribution of Nonionic Surfactants. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 65: 996-999.
- Schäfer, W.J. (1993):** Absolute Gas Chromatographic Measurements with an Atomic Emission Spectrometer as Detector: A new Tool for Quantitative Analysis. *High Resolut. Chromatogr.* 16: 674-676.
- Scheidegger, D.H. (1995):** Bestimmung von Alkoholpolyethoxylaten in Abwasserreinigungsanlagen mittels Gaschromatographie, gekoppelt mit Massenspektrometrie mit chemischer Ionisation. Diss. Naturwiss. ETH Zürich, Nr. 11014: 1-111.
- Schmitt, Th.M.; Allen, T.C.; Brain, D.K.; Guin, K.F.; Lemel, D.E.; Osburn, Q.W. (1990):** HPLC Determination of Ethoxylated Alcohol Surfactants in Wastewater. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 67: 103-109.
- Schomburg, G. (1987):** Gaschromatographie. Grundlagen, Praxis, Kapillartechnik. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim.
- Schreiber, A.; Efer, J.; Ceglarek, U.; Engewald, W. (1998):** Identifizierung und Quantifizierung anionischer und nichtionischer Tenside. *GIT Fachz. Lab.* 42: 1050-1055.
- Schreiner, A. (2000):** Aerobe biologische Reinigung tensidbelasteter Abwässer. Grundlagen zur Verfahrensentwicklung und respirometrische Untersuchungen zur Kinetik. Dissertation, Technische Universität Berlin.
- Schreiner, A.; Asmussen, C.; Wiesmann, U., Stan, H.-J. (1999):** Investigation of Aerobic Degradation Kinetics of Surfactants Using Respirometric Batch Experiments. *Acta Biotechnol.* 19: 293-304.
- Schröder, H.Fr. (1991):** Polar, hydrophilic compounds in drinking water produced from surface water. Determination by liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.* 554: 251-266.
- Schröder, H. Fr. (1993):** Pollutants in drinking water and waste water. *J. Chromatography* 643: 145-161.
- Schröder, H. Fr. (1993a):** Surfactants: non-biodegradable, significant pollutants in sewage treatment plant effluents. Separation, identification and quantification by liquid chromatography, flow-injection analysis-mass spectrometry and tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr.* 647: 219-234.
- Silver, A.H.; Kalinoski, H.T. (1992):** Comparison of High-Temperature Gas Chromatography and CO₂ Supercritical Fluid Chromatography for the Analysis of Alcohol Ethoxylates. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69: 599-608.
- Stan, H.-J.; Heberer, T.; Billian, P. (1998):** Bestimmung von Fettalkoholethoxylaten in Trinkwasser. *Vom Wasser* 90: 93-105.

- Steber, J.; Wierich, P. (1984):** Abbauverhalten und Verbleib von Fettalkoholethoxylaten in der Umwelt-Untersuchungen mit ^{14}C -markierten Modelltensiden. Vortrag zur 39. DGF-Vortragstagung in Hannover am 27.09.1983, aus: Fette, Seifen, Anstrichmittel 86: 563-568.
- Sternberg, J.C.; Gallaway, W.S.; Jones, D.T.L. (1962):** The mechanism of response of flame ionization detectors. Gas Chromatography. Brenner, N.; Callen, J.E.; Weiss, M.D. (Hrsg), Academic Press, New York. S. 231-267.
- Sullivan, J.J.; Quimby, B.D. (1989):** Detection of C, H, N and O in Capillary Gas Chromatography by Atomic Emission. J. High Resolut. Chromatogr. 12: 282-286.
- Sun, C.; Baird, M.; Anderson, H.A.; Brydon, D.L. (1997):** Separation and determination of oligomers and homologues of aliphatic alcohol ethoxylates in textile lubricants and lubricant emulsion by high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. A 771: 145-154.
- Supelco (1994):** Separating Homologs and Polymers by HPLC. Application Note 46. Supelco Inc., Bellefonte, USA.
- Szymanski, A.; Wyrwas, B.; Lukaszewski, Z. (1995):** Application of an indirect tensammetric method for the determination of non-ionic surfactants in surface water. Analytica chimica Acta 305: 256-264.
- Thiele, B.; Günther, K.; Schwuger, M.J. (1999):** Trace Analysis of surfactants in environmental matrices. Tenside Surf. Det. 39: 8-18.
- Tolls, J.; Haller, M.; Sijm D.T.H.M. (1999):** Extraction and isolation of linear alcohol ethoxylates from fish. J. Chromatogr. A 839: 109-117.
- Trathnigg, B.; Kollroser, M. (1997):** Liquid chromatography of polyethers using universal detectors V. Quantitative aspects in the analysis of low-molecular-mass poly(ethylene glycol)s and their derivatives by reversed-phase high-performance liquid chromatography with an evaporative light scattering detector. J. Chromatogr. A 768: 223-238.
- Ullmann (1982):** Enzyklopädie der technischen Chemie. Bartholomé, E. (Hrsg.), Band 22, 4. Aufl., Verlag Chemie, Weinheim.
- Vogt, C.; Heinig, K. (1999):** Trace analysis of surfactants using chromatographic and electrophoretic techniques. Fresenius' J. Anal. Chem. 363: 612-618.
- Wallingford, R.A. (1996):** Oligomeric Separation of Ionic and Nonionic Ethoxylated Polymers by Capillary Gel Electrophoresis. Anal. Chem. 68: 2541-2548.
- Webster, C.; Cooke, M. (1995):** Use of an Atomic Emission Detector to Study the Variation in Elemental Response for Chlorine, Carbon, and Oxygen in Phenols. J. High Resolut. Chromatogr. 18: 319-322.
- Wee, V.T. (1981):** Determination of linear alcohol ethoxylates in waste- and surface water. Advances in the identification and analysis of organic pollutants in water. Keith, L.H. (Hrsg), Vol. 1, Ann Arbor Science Publishers, Inc., Michigan.
- Wickbold, R. (1971):** Konzentrierung und Abtrennung von Tensiden aus Oberflächenwasser durch Transport in die Gas/Wasser-Grenzschicht. Tenside Deterg. 8: 61-63.
- Wodarczak, S.; Burford, M. (1998):** Bestimmung von Alkylpolyglucosiden in Abwasserproben mittels SPE und HPLC. Posterbeitrag auf dem "Tag der Tenside" in Leipzig, 30.-31.3.1998.

- Wylie, P.L.; Sullivan, J.J.; Quimby, B.D. (1990):** An Investigation of Gas Chromatography with Atomic Emission Detection for the Determination of Empirical Formulas. *J. High Resolut. Chromatogr.* 13: 499-506.
- Yamagishi, T.; Hashimoto, S.; Kanai, M.; Otsuki, A. (1997):** Identification and determination of polyoxyethylene nonionic surfactants by HPLC/atmospheric pressure chemical ionization-MS, and its application to river water samples. *Bunseki Kagaku* 46: 537-547.
- Yieru, H.; Qingyu, O.; Weile, Y. (1990):** The Effect of Compound Structure on the Elemental Responses in Gas Chromatography-Microwave Induced Plasma-Atomic Emission Spectrometry. *J. Chromatogr. Sci.* 28: 584-588.
- Zanette, M.; Marcomini, A.; Marchiori, E.; Samperi, R. (1996):** High-performance liquid chromatographic fluorescence determination of aliphatic alcohol polyethoxylates and poly(ethylene glycol)s in aqueous samples. *J. Chromatogr. A* 756: 159-177.

ANHANG A: HT-GC-AED**Geräteparameter für die HT-GC-AED-Bestimmung**

	Gerätekonfiguration und Systemparameter
Gaschromatograph:	HP 5890A Series II (Hewlett-Packard, Waldbronn)
Kapillarsäule:	15 m x 0,32 mm, DB5-HT, Filmdicke 0,1 µm (J&W Scientific, Folsom, USA)
Vorsäule / Retention gap:	je nach Injektor s.u.
Trägergas:	Helium 99.9999%
Trägergas-Vordruck:	1,0 bar (15 psi)
Flußgeschwindigkeit:	41 cm/s (100°C)
GC-Temperaturprogramm:	1 min 50°C, mit 20°C/min bis 100°C, mit 4°C/min bis 375°C, 3 min halten
Probengeber:	HP 7673A
Injektion:	1 bzw. 2,5 µL
Injektor:	on-column: HP 5890A Series II oder PTV: KAS 3 (Gerstel, Mühlheim/Ruhr) s.u.
Detektor:	Atomemissionsdetektor HP 5921A
Detektion AEO nach Silylierung oder Acetylierung:	Kohlenstoff-Spur 193 nm oder Silizium-Spur 251 nm und Kohlenstoff-Spur 248 nm oder Sauerstoff-Spur 777 nm
Detektion Alkylbromide:	Kohlenstoff-Spur 496 nm und Brom-Spur 478 nm (mit einer Injektion)
Transferline-Temperatur:	375°C
Cavity-Temperatur:	300°C
Kühlwasser-Temperatur:	63°C
Make-up Gasfluß:	Kohlenstoff und Sauerstoff-Messung 30 ml/min Silizium-Messung: 170 mL/min (Helium 99.9999%)
Window-purge Gasfluß:	30 mL/min (Helium 99.9999%)
Spectrometer-purge Gasfluß:	2 L/min (Stickstoff <99.99%) Stickstoffgenerator: 75-72 (Whatman, Haverhill, USA)
Reaktandgase (wie vom Hersteller empfohlen):	30 psi Vordruck (Wasserstoff 99.997%) 20 psi Vordruck (Sauerstoff 99.997%) 30 psi Vordruck (Stickstoff mit 10% Methan 99.999%)
Datenaufnahme:	HP 5895A GC-AED ChemStation (Pascal)
Datenauswertung:	HP 5895A GC-AED ChemStation (Pascal) und HP ChemStation for LC Rev. A 05.01 Windows-Version (nach Import mittels Macro von S. Bobinger, Universität Münster)

Geräteparameter für die on-column-Injektion

Gerätekonfiguration und Systemparameter	
on-column Injektor:	HP 5890A Series II electronic pressure control
Temperaturprogramm:	Starttemperatur = Ofentemperatur: 50°C, „oventracking“
Vorsäule / Retention gap:	1 m x 0,53 mm, unbelegt, deaktiviert mit Phenylsiliconphase, 5 m x 0,32 mm, unbelegt, deaktiviert mit Phenylsiliconphase

Geräteparameter für die splitlose PTV-Injektion

Gerätekonfiguration und Systemparameter	
Kaltaufgabesystem:	KAS 3 (Gerstel, Mülheim/Ruhr)
Temperaturprogramm:	Starttemperatur: 150°C 150°C - 350°C mit 12°C/min, 2 min halten
Splitloszeit:	136 s
Splitströmung:	40 mL/min
Insertliner:	ungefüllt mit Verwirbelungseinstichen
Vorsäule / Retention gap:	5 m x 0,32 mm, unbelegt, deaktiviert mit Phenylsiliconphase

ANHANG B: GC-MS**Geräteparameter für die GC-MS-Bestimmung**

Gerätekonfiguration und Systemparameter	
Gaschromatograph:	HP 5890 Series II
Autosampler:	HP 7673A
Trägergas:	Helium 99,9999%, 2 mL/min
Kapillarsäule:	25 m x 0,32 mm; Permabond OV-17-DF; Filmdicke 0,25 µm
Vorsäule:	unbelegtes, desaktiviertes retention gap; fused silica; 2,5 m; ID 0,32 mm
Injektor:	PTV: KAS 3 (Gerstel, Mühlheim/Ruhr), Splitlos-Injektion
Injektionsvolumen:	2,5 µL
Splitloszeit:	2,15 min
Temperaturprogramm:	150°C - 260°C mit 12°C/min, 2 min halten 260°C - 350°C mit 12°C/min, 5 min halten
Temperatur der Transferline:	260°C
Massenspektrometer:	HP 5989 A (MS Engine)
Ionisationsarten:	EI, PCI
Reaktandgas (PCI):	Methan, 1 Torr
Multiplierspannung:	wie durch Tuning festgelegt
Quellentemperatur:	200°C (EI), 250°C (PCI)
Analysatortemperatur:	100°C (EI), 125°C (PCI)
Betriebsart:	Full-Scan-Modus, 40-550 oder -1000 amu
Datenaufnahme:	HP 59944C MS ChemStation auf HP Apollo 9000 unter HP-UX
Datenauswertung:	HP 59944C MS ChemStation, HP MS ChemStation G1701BA Software, Version B01.00 (Windows Version)

GC-Temperaturprogramm

Injektion von AEO mit oder ohne Derivatisierung:	50°C, 1 min halten 50°C - 100°C mit 20°C/min 100°C - 260°C mit 4°C/min, 5 min halten
Injektion von Alkylbromiden:	50°C, 1 min halten 50°C - 260°C mit 4°C/min, 5 min halten

ANHANG C: HPLC-UV**Geräteparameter für die HPLC-UV-Bestimmung**

Gerätekonfiguration und Systemparameter	
HPLC-System:	HP Serie 1050
Detektor:	variabler Wellenlängendetektor HP Serie 1050
Detektion:	UV 254 nm
Säulenofen:	Jones Chromatography (Hengoed, Wales, UK)
Säulentemperatur:	35°C
Datenaufnahme und -auswertung:	HPLC ChemStation for LC Rev. A 05.01
Injektionsvolumen:	5 - 10 µL

Umkehrphasen-HPLC:

Säule:	Nucleosil 120, C18, 5 µm, 250 x 4,6 mm, endcapped (Macherey-Nagel, Düren),	
Mobile Phase:	A: Wasser	B: 95% Acetonitril
Flußrate:	1,7 mL/min	
Gradient:	0 - 20 min	80% B
	20 - 25 min	80% - 90% B
	25 - 35 min	90% B
	35 - 50 min	90% - 95% B
	50 - 52 min	95% B
	52 - 70 min	100% B

Normalphasen-HPLC:

Säule:	Supelcosil LC-NH ₂ , 5 µm, 250 x 4,6 mm oder Supelcosil LC-Diol, 5 µm, 250 x 4,6 mm (Supelco, Deisenhofen)	
Mobile Phase:	A: Hexan-Dichlormethan 95:5 B: Hexan-Dichlormethan-Methanol 5:4:1	
Flußrate:	1 mL/min	
Gradient:	0 - 8 min	30% - 50% B
	8 - 15 min	50% - 60% B
	15 - 25 min	60% - 80% B
	25 - 35 min	80% - 100% B
	35 - 40 min	100% B

ANHANG D: FIA-MS**Geräteparameter für die FIA-MS-Bestimmung**

	Gerätekonfiguration und Systemparameter
Spritzenpumpe:	Modell 11 (Harvard, Holliston, USA)
HPLC-System:	HP 1100 (Hewlett Packard, Waldbronn)
Massenspektrometer:	Quattro-LC Triple Stage MS (Micromass, Manchester, UK)
Stickstoffgenerator:	Whatman 75-72 (Whatman, Haverhill, USA)
"Ionisierung" mittels Elektrospray, positiv:	Capillary: 3 kV Cone: NH ₄ ⁺ -Addukte: Rampe 10 - 51 V (bei m/z 240 - 1000) Cone: Na ⁺ -Addukte: Rampe 23 - 129 V (bei m/z 240 - 1000) Skimmer Lens: 5 V Skimmer: 1,5 V RF-Lens: 0,2 V Source Block Temperature: 80°C Desolvation Temperature: 150°C Nebulizer Gas: 80 - 90 L/h Drying Gas: 400-500 L/h MS Entrance: 50 V MS Exit: 120 V MS Ion Energy: 0,8 V MS Low Mass / High Mass Resolution: 12 - 15 MS Multiplier: 650 V
"Ionisierung" mittels Elektrospray, negativ:	Capillary: 3 kV Cone: Rampe 21 - 78 V (bei m/z 240 - 1000) Skimmer Lens: 5 V Skimmer: 1,5 V RF-Lens: 0,2 V Source Block Temperature: 80°C Desolvation Temperature: 150°C Nebulizer Gas: 80 - 90 L/h Drying Gas: 400 - 500 L/h MS Entrance: 50 V MS Exit: 120 V MS Ion Energy: 0,8 V MS Low Mass / High Mass Resolution: 12 - 15 MS Multiplier: 650 V

Injektion kontinuierlich mittels Spritzenpumpe mit 0,01 mL/min oder mittels Autosampler über HPLC (bis 100 µL) mit Eluenten Acetonitril und Flußrate von 0,05 - 0,1 mL/min

Geräteparameter für die FIA-MS-Bestimmung, Fortsetzung

	Gerätekonfiguration und Systemparameter
Ionisierung mittels APCI, positiv:	Corona: 3 kV Cone: Na ⁺ -Addukte: Rampe 23 - 129 V (bei m/z 240 - 1000) Skimmer Lens: 5 V Skimmer: 1,5 V RF-Lens: 0,2 V Source Block Temperature: 120°C APCI Probe Temperature: 400°C Nebulizer Gas: 600 L/h Drying Gas: 800 L/h MS Entrance: 50 V MS Exit: 80 V MS Ion Energy: 0,9 V MS Low Mass / High Mass Resolution: 12 - 15 MS Multiplier: 650 V
Ionisierung mittels APCI, negativ:	Corona: 3 kV Cone: Rampe 25 - 67 V (bei m/z 300 - 1000) Skimmer Lens: 5 V Skimmer: 1,5 V RF-Lens: 0,2 V Source Block Temperature: 120°C APCI Probe Temperature: 400°C Nebulizer Gas: 600 L/h Drying Gas: 800 L/h MS Entrance: 50 V MS Exit: 80 V MS Ion Energy: 0,9 V MS Low Mass / High Mass Resolution: 12 - 15 MS Multiplier: 650 V
HPLC-seitiger Eluent: Fluß:	Acetonitril 0,5 mL/min, Injektion über Autosampler (bis 100 µL) oder kontinuierlich mittels Spritzenpumpe mit 0,01 mL/min über eine T-Verbindung
Aufnahme von MS-MS-Tochterionenspektren:	Kollisionsgas: Argon (99,999%) Druck in Stoßzelle: ca. 0,0013 mbar Kollisionsenergie in Abhängigkeit von EO-Grad: 20 - 40 eV
Datenaufnahme:	MCA-Modus (Multi Channel Acquisition); Meßzyklus: 2 - 4 s pro Scan (je nach Massenbereich) über 0,5 - 2 min
Datenregistrierung und -auswertung:	Software MassLynx 3.2 für Windows NT (Micromass, Manchester, UK)

ANHANG E: LÖSUNGSMITTEL, CHEMIKALIEN, MATERIALIEN**Standardsubstanzen**

	Vertrieb, Hersteller
Standardsubstanzen lineare primäre Alkohole:	
C9E0, ≈ 98%	Sigma-Aldrich Chemie, Deisenhofen
C10E0, ≈ 98%	
C11E0, ≈ 98% (GC)	
C12E0, ≈ 99% (GC)	
C14E0, ≈ 96% (GC)	
C16E0, ≈ 99%	
C18E0, ≈ 99%	
C20E0, ≈ 99% (GC)	
C18'E0 (cis,cis-9,12-Octadecadien-1-ol) ≥ 99%	
C18'E0 (cis-9-Octadecen-1-ol) ≈ 99% (GC)	
Standardsubstanzen AEO:	
C10E8, C14E7, C16E4, C16E8, C18E4, C18E8 (keine Reinheitsangaben)	Sigma-Aldrich Chemie, Deisenhofen
C12E1, > 99% (GC)	Fluka, Neu-Ulm
C12E2, ≥ 98% (GC)	
C12E3, ≈ 98% (GC)	
C12E4, > 98% (GC)	
C12E5, ≥ 98% (GC)	
C12E6, > 98% (TLC)	
C12E7, > 98% (TLC)	
C12E8, ≥ 98% (GC)	
C12E9, ≥ 98% (TLC)	
C14E7, > 98% (TLC)	
Standardsubstanzen PEG:	
Triethylenglykol puriss., > 99,0% (GC)	Fluka, Neu-Ulm
Tetraethylenglykol puriss., ≥ 99,0% (GC)	
Pentaethylenglykol purum, ≥ 97,0% (GC)	
Hexethylenglykol purum, ≥ 97,0% (GC)	

Technische Gemische

	Vertrieb, Hersteller
Brij 30, Lot 16H0046 (AEO) Brij 56 Lot 113H00511 (AEO) Brij 76 Lot 76C0179 (AEO)	Sigma-Aldrich Chemie, Deisenhofen
Brij 30, Chargen-Nr. 614453 (AEO)	Deutsche ICI, Essen
Eumulgin ET5 (AEO) Emulsogen P (AEO)	Henkel, Düsseldorf
Genapol UDD 079 (AEO) Genapol LRO-Paste (AES)	Hoechst, Frankfurt
Polyethylenglykol 200 purum Polyethylenglykol 400 purum	Fluka, Neu-Ulm

Chemikalien und Gase

	Vertrieb, Hersteller
1-Methylimidazol 1-Naphthoylchlorid (NC) 97% 3,5-Dinitrobenzoylchlorid (DNBC) Bis(trimethylsilyl)trifluoracetamid (BSTFA) Bromwasserstoff (30 Gew.% in Essigsäure) Glutarsäureanhydrid Imidazol 99+% Maleinsäureanhydrid 99% Phenylisocyanat (PIC) Pyridin HPLC-grade, 99,9+%	Sigma-Aldrich Chemie, Deisenhofen
Acetanhydrid p. a. Sulfobenzoessäureanhydrid purum Trimellitsäureanhydrid purum, $\geq 97\%$ Phthalsäureanhydrid purum, $\geq 97\%$	Fluka, Neu-Ulm
Ammoniak, 25%, p. a. Ammoniumacetat p. a. Natriumcarbonat, wasserfrei, p. a. Natriumchlorid p. a. Natriumhydroxid p. a. Salzsäure, 37%, p. a.	Merck, Darmstadt
Essigsäure 99-100 %	Mallinckrodt Baker, Griesheim
Alle Gase (angegeben in Geräteparametern)	Messer, Berlin

Lösungsmittel

	Vertrieb, Hersteller
Acetonitril LiChrosolv [®] Gradient Grade	Merck, Darmstadt
Diethylether, reinst	
Methanol LiChrosolv [®] Gradient Grade	
n-Hexan SupraSolv [®]	
Chloroform p.a.	Fluka, Neu-Ulm
Dichlormethan Pestanal [®]	Riedel-de Haën, Seelze
Ethylacetat Pestanal [®]	
Tetrahydrofuran für die HPLC	Promochem, Wesel
Wasser HPLC-Grade	Mallinckrodt Baker, Griesheim

Materialien

Produkt	Vertrieb, Hersteller
Gewindeflasche G4, 4 mL, 45 x 14,5 mm	CS-Chromatographie, Langerwehe
Dichtscheibe G13 BK/rot mit PTFE/blau 1mm	
Dichtscheibe G13 PTFE/weiß 0,2 mm	
Schraubkappe G13 Harz, schwarz mit Loch	
Einmalfilter mit Polyamidmembran der Porenweite 0,2 µm	Muder & Wochele Chromatographietechnik, Berlin
Reagenzglasschüttler	Heidolph Reax 1 D R, 200 - 2400 U/min
3 mL- und 6 mL-SPE-Extraktionssäulen aus Polyethylen	ICT, Bad Homburg
PTFE-Fritten	
70 ml-Vorratsgefäße (Trichter) für die SPE	
Vakuumstation	Mallinckrodt Baker, Griesheim
Festphasenmaterialien:	
Bakerbond RP-C8	Mallinckrodt Baker, Griesheim
Bakerbond RP-C18	
Bakerbond RP-C18 Polar Plus	
Chromabond HR-P	Macherey-Nagel, Düren
Isolute ENV+	IST Separtis, Grenzach-Wyhlen
Isolute SI	
Isolute SAX	
ENVI-CARB	Supelco, Deisenhofen

ANHANG F: VERPACKUNGS-DEKLARATIONEN**Ariel futur Vollwaschmittel, pulverförmig; Procter & Gamble GmbH, Schwalbach**

Enzyme (Amylase, Cellulase, Lipase, Protease), Optische Aufheller
 unter 5%: Nichtionische und Kationische Tenside, Polycarboxylate, Phosphonate
 5 - 15%: Anionische Tenside
 15 - 30%: Bleichmittel auf Sauerstoffbasis, Zeolithe (Wasserenthärter)
 Waschkalkalien, Neutralsalze, Schmutzträger, Schaumregulatoren, Bleichaktivator, Parfüm

Spee Tabs Vollwaschmittel, Pulver gepresst; Henkel Waschmittel GmbH, Düsseldorf

unter 5%: Nichtionische Tenside, Seife, Phosphonate, Polycarboxylate
 5 - 15%: Bleichmittel auf Sauerstoffbasis
 15 - 30%: Anionische Tenside, Zeolithe (Sasil R)
 Enzyme (Amylase, Cellulase, Protease)
 Weitere Inhaltsstoffe: Optische Aufheller, Parfümole

Kuschelweich Sommerwind Weichspülerkonzentrat; Lever, Hamburg

unter 5%: Nichtionische Tenside
 5-15 %: Kationische Tenside
 Konservierungsstoffe
 Duft-, Farb- und Hilfsstoffe

Penaten Babyshampoo; Johnson & Johnson, Düsseldorf

Inhaltsstoffe in Deklarationsreihenfolge	Funktion*
Wasser	
Kokosfettsäureamidoalkyl-Betain	Amphoterer Tensid
Natriumlaurylsulfat	Anionischer Tensid (FAS)
Hexylenglycol	Feuchthaltemittel
Polyquaternium-2	Lösungsvermittler
PEG 200-Ester von gehärtetem Glycerinmonopalmitat	Lösungsvermittler
Polyolfettsäureester (PEG-7 Glyceryl Cocoat)	Rückfettungsmittel
Polyoxyethylen-20-Sorbitan-Monolaurat	Tensid
Milchsäure	Pflegestoff / pH-Wert
Parfüm	Duft

*Quelle: Bübchen Informationsbroschüre: Kleines Lexikon der Inhaltsstoffe, Bübchen Baby-Service, 81662 München

Crisan Intensiv Antischuppen-Shampoo; Wella AG, Darmstadt

Inhaltsstoffe in Deklarationsreihenfolge	Funktion
Wasser	
Natriumlaurylethersulfat	Anionisches Tensid (AES)
1,2-Propylenglycol	Feuchthaltemittel
Natriumchlorid	Verdickungsmittel
Kokosfettsäureamidoalkyl-Betain	Amphoterer Tensid
PEG-3 Distearat	Perlglanz
Climbazol	Anti-Schuppen-Wirkstoff
Piroctone Olamin	Anti-Schuppen-Wirkstoff
Guar-Hydroxypropyl-Trimethylammoniumchlorid	verbessert Kämmbarkeit
Kamillenextrakt	Pflegemittel
Glutaminsäure	Pflegestoff / pH-Wert
Parfüm	Duft
Citronensäure	pH-Wert
Natriumbenzoat	Konservierungsstoff
Natriumformiat	Konservierungsstoff
Kaliumsorbat	Konservierungsstoff
CI 42090	blauer Farbstoff

Bübchen Babybad; Ewald Hermes, Pharmazeutische Fabrik GmbH, Soest

Inhaltsstoffe in Deklarationsreihenfolge	Funktion
Wasser	
Kokosfettsäureamidoethylhydroxyethylglycinat	Amphoterer Tensid
Kokosfettsäureamidoalkyl-Betain	Amphoterer Tensid
Polyoxyethylen-20-Sorbitan-Monolaurat	Tensid
Laureth-3	AEO (C12E3)
Polyethylenglycol-Diester von Methylglucose und Ölsäure	Verdickungsmittel
Polyolfettsäureester (PEG-7 Glyceryl Cocoat)	Rückfettungsmittel
1,2-Propylenglycol	Feuchthaltemittel
Kamillenextrakt	Pflegestoff
Rosmarinextrakt	Pflegestoff
Polyethylenglycolester von gehärtetem Rizinusöl	Lösungsvermittler von Parfümölen
Trideceth-9	
Parfüm	Duft
Citronensäure	pH-Wert
CI 42051	blauer Farbstoff

