



Verfahren zur chemischen Analyse der NSO-Heterozyklen

Bernd Kapp
Berghof Analytik + Umweltengineering GmbH & Co. KG
Ob dem Himmelreich 9
72074 Tübingen
B.Kapp@Institut-Berghof.de

www.berghof.com



Übersicht

- Aromatische Heterozyklen werden im Altlastenbereich nicht routinemäßig analysiert dementsprechend liegen auch keine Norm-Verfahren vor.
- Mögliche Analyseverfahren:
 - Flüssig-Flüssigextraktion (LLE)
 - Festphasenextraktion (SPE)
 - Direktverfahren (Dampfzugaanalyse)
 - Hochleistungsflüssigchromatographie HPLC mit DAD (Diodenarraydetektor), MS (Massenspektrometer) oder FLD (Fluoreszenzdetektor)
 - Gaschromatographie (GC) mit Massenspektrometer (MS) oder Flammenionisationsdetektor (FID)
- Analytik in Anlehnung an folgende Normen/Methodenbeschreibungen möglich
 - Bestimmung ausgewählter polycyclischer aromatischer Kohlenwasserstoffe (PAK) in Wässern und Eluaten mittels Gaschromatographie und Massenspektrometrie (GC-MS); Heft 10 Schriftenreihe altlastenforum Baden-Württemberg e.V.
 - Bestimmung ausgewählter polycyclischer aromatischer Kohlenwasserstoffe (PAK) – Verfahren mittels Gaschromatographie und Massenspektrometrie (GC-MS); DIN E 38407-F39: 2008-08
- Branchenleitfaden KORA, „Natürliche Schadstoffminderung von Teerdestillaten“, Abschlussentwurf 2007

www.berghof.com



Probleme bei der Analytik, Anforderungen an eine Routineanalytik

- Substanzauswahl, welche NSO-Heterozyklen sollen untersucht werden?
 - Nur Prioritätssubstanzen?
 - Prioritätssubstanzen und Metabolite?
 - Welche Metabolite?
- Verfügbarkeit von Substanzen, sind die Substanzen für die Routineanalytik erhältlich?
- Toxizität der Substanzen, welche Substanzen sollten als Leitsubstanzen aufgrund ihrer Toxizität zwingend untersucht werden?
- Bestimmbarkeit, sind die Substanzen gut zu analysieren, kann der Umfang mit einem Verfahren abgedeckt werden
- Vergleichbarkeit der Ergebnisse, bei Summenbildung sollten Heterozyklen mit dem Hauptbeitrag im Untersuchungsumfang enthalten sein, durch verschiedene Untersuchungspakete sind die Summen nicht vergleichbar!
- Robuste, routinegeeignete, vergleichbare Verfahren sind notwendig.
- Wirtschaftliches Verfahren, Praxisorientierung, was ist machbar

www.berghof.com



Erweiterung vorhandener Analytik und Vergleich

- Basierend auf den Methoden des KORA-Projektes von welchen zwei von einer Festphasenextraktion (SPE) ausgehen (nachfolgende Tabellen) und der bei Berghof vorliegenden SPE-Methode, erfolgt unter Berücksichtigung der Parameterliste in „NSO-Heterozyklen“, Heft 12 des Altlastenforums soweit möglich eine Methodenerweiterung auf die aufgelisteten Komponenten.
- Grundlage ist das Bestimmungsverfahren von NSO-Heterozyklen nach SPE mit GC-MS welches im Hinblick auf die integrale Altlastenbearbeitung in Ravensburg aus der Diplomarbeit Friedrich J., 2003-09, FH Reutlingen „Aufbau eines Verfahrens zur Analyse von ausgewählten heterozyklischen Kohlenwasserstoffen aus Grundwasser“ entwickelt wurde.
- Literaturrecherche erwies sich 2003 als schwierig, wenig publiziert
- Als Parameterumfang wurde deshalb der Stand aus „Zamfirescu D., Release and Fate of Specific Organic Contaminants at a Former Gaswork Site, Tübinger Geowissenschaftliche Arbeiten (TGA)“ zugrunde gelegt.

www.berghof.com



Erweiterung vorhandener Analytik und Vergleich

- In Bezug auf das zu verwendende Lösungsmittel, dessen Menge (250mL Dichlormethan!) und der zeitliche Aufwand der Aufarbeitung, wurde als Alternative zur publizierten direkten Flüssig-Flüssig-Extraktion aus dem Grundwasser die Festphasenextraktion etabliert und validiert.
- Die damalige Vorgehensweise wird durch die aktuell beschriebenen KORA-Verfahren bestätigt
- Parallel zur Erweiterung des SPE-Verfahrens erfolgt die Methodenadaption und Validierung des Verfahrens aus Heft 10 des atlastenforums (flüssig-flüssig Extraktion und GC-MS zur Bestimmung von PAK in Wasser) für NSO-Heterozyklen bei der LUBW.


www.berghof.com



Vergleich vorliegender Verfahren


	Probenlagerung	Probenvorbereitung	Aufarbeitung
KORA Methode 1 SPE, HPLC-DAD NSO-Heterozyklen und Metabolite Eawag Dübendorf	Stabilisierung vor Ort mit konz. HCl (5mL/L), pH ca. 2 und Lagerung bei +4°C	pH-Einstellung auf 4 mittels 5 mol/L NaOH	SPE-Anreicherung (Isolute ENV-hydroxyliertes Polystyrendivinylbenzol) ohne Vorkonditionierung, Elution mit 10mL Ac/MeOH (1:1)
KORA Methode 2 HS-GC-MS Leichtflüchtige NSO- Heterozyklen Eawag Dübendorf	Abfüllung (10mL) direkt vor Ort in HS-Vials, die Kaliumcarbonat + Natriumazid enthalten, schütteln, Lagerung bei -20°C im Dunkeln	Zugabe Int.Std. und in aufgetauter Probe das Kaliumcarbonat durch Schütteln o. US zum Lösen bringen.	⇒ Messung
KORA Methode 3 SPE, GC-MS NSO-Heterozyklen Uni Tübingen	Lagerung bei +4°C und pH von 1-2 (32%-iger HCl)	pH-Einstellung auf 7 mittels 5 mol/L NaOH	SPE-Anreicherung (Bond Elut PPL- Polystyrendivinylbenzol) mit Vorkonditionierung (MeOH+Bidest), Elution mit 4mL EtAc, Zugabe Int.Std, Einengen
KORA Methode 4 LLE, GC-MS TZW Karlsruhe	Lagerung bei +4°C und pH von 1-2 (32%-iger HCl)	pH-Einstellung auf 7 mittels 5 mol/L NaOH	Extraktion von 45mL Probe mit 5mL MTBE (20min), Zugabe Int.Std. zu einem Aliquot des Extraktes
Berghof-Methode SPE, GC-MS	Lagerung bei +4°C	pH-Einstellung auf 8 mittels ca. 16%iger NaOH evtl. Filtration (Glasfaser-Mikrofilter)	SPE-Anreicherung (H2O Phobic DVB- Divinylbenzol) mit Vorkonditionierung (DCM/Ac+DI-Wasser), Elution, Einengen mit LM-Wechsel

www.berghof.com



N-Heterozyklen	KORA Methode 1 HPLC-DAD	KORA Methode 2 HS-GC-MS	KORA Methode 3 GC-MS (Tü)	KORA Methode 4 GC-MS (Ka)	DIN 38406- F39 LUBW	Methode Berghof GC-MS
Chinolin	X	X	X	X	X	X
Isochinolin	X		X	X	X	X
2-Methylchinolin (Chinaldin)	X	X	X			X
4-Methylchinolin	X	X				X
6-Methylchinolin	X			X		X
2,4-Dimethylchinolin	X	X	X	X		n. verfügbar
2,6-Dimethylchinolin	X					X
1-Methylisochinolin	X		X			n. verfügbar
3-Methylisochinolin	X					X
4-Methyl-2-chinolin	X					n. verfügbar
2-Chinolinon [#]	X					
1-Isoschinolinon [#]	X					
Methylchinolinon [#]						
Carbazol	X		X	X	X	X
Acridin	X		X	X	X	X
9(10H)-Acridinon [#]	X		X			X
6(5H)-Phenanthridinon [#]	X		X			X
Phenanthridin					X	X
Pyrrol		X				X
Pyridin		X				X
2-Methylpyridin		X				X
3-Methylpyridin		X				X
4-Methylpyridin		X				X
Indol		X		X	X	X

www.berghof.com



Untersuchungsumfänge der einzelnen Verfahren

S-Heterozyklen	KORA Methode 1 HPLC-DAD	KORA Methode 2 HS-GC-MS	KORA Methode 3 GC-MS (Tü)	KORA Methode 4 GC-MS (Ka)	DIN 38406- F39 LUBW	Methode Berghof GC-MS
Benzothiophen	X	X	X	X	X	X
Dibenzothiophen	X	X	X	X	X	X
Thiophen		X				X
2-Methylthiophen		X				X
3-Methylthiophen		X				X
2,5-Dimethylthiophen		X				X
Tetrahydrothiophen		X				
2-Methylbenzothiophen		X	X			X
3-Methylbenzothiophen	X	X	X	X	X	X
5-Methylbenzothiophen		X	X			n. verfügbar
2,5-Dimethylbenzothiophen		X				n. verfügbar
Methyldibenzothiophene						
Hydroxibiphenyl [#]						

www.berghof.com



Untersuchungsumfänge der einzelnen Verfahren

O-Heterozyklen	KORA Methode 1 HPLC-DAD	KORA Methode 2 HS-GC-MS	KORA Methode 3 GC-MS (Tü)	KORA Methode 4 GC-MS (Ka)	DIN 38406-F39 LUBW	Methode Berghof GC-MS
Xanthen			X	X	X	X
Benzofuran	X	X	X	X	X	X
Dibenzofuran	X	X	X	X	X	X
2-Methylbenzofuran	X	X	X	X		X
2,3-Dimethylbenzofuran	X	X	X	X		X
9H-Xanthenon[#]	X					
2-Methylidibenzofuran	X			X		
Furan						
3,6-Dimethylbenzofuran			X			
Xanthon			X			

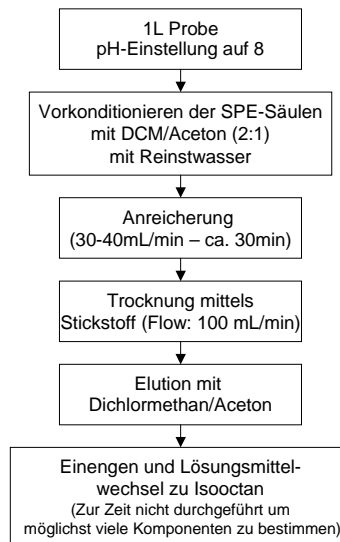
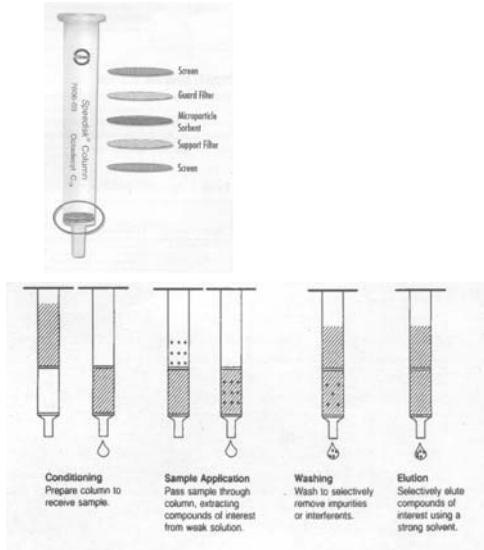
Fettdruck: Nach Heft 12 altlastenforum BW (Blotevogel et al.) Prioritäts substanz

#: Nach Heft 12 altlastenforum BW (Blotevogel et al.) Metabolite

www.berghof.com



Festphasenextraktion und anschließend GC-MS



www.berghof.com



Wiederfindung des Verfahrens mit Festphasenextraktion

Komponente	Mittelwert WFR 100A-F [%]	s0	vk [%]
Benzofuran	40,6	3,69	9,1
Benzofuran, 2-methyl	40,0	3,77	9,4
Benzo[b]thiophen	49,5	4,98	10,0
Benzofuran, 2,3-dimethyl	37,7	3,97	10,6
Chinolin (Quinoline)	85,3	8,82	10,3
Isochinolin (Isoquinoline)	102,9	8,92	8,7
Benzothiophen, 2-methyl	49,3	5,19	10,5
Indol	72,0	11,8	16,3
Chinolin, 2-methyl (Chinaldin)	84,7	6,77	8,0
Benzothiophen, 3-methyl	50,3	5,53	11,0
Isochinolin, 3-methyl	89,4	6,03	6,7
Chinolin, 6-methyl	90,4	6,51	7,2
Chinolin, 4-methyl	94,6	5,81	6,1
Chinolin, 2,6-dimethyl	94,1	4,73	5,0
Dibenzofuran	66,6	8,52	12,8
Xanthen	86,4	8,41	9,7
Dibenzothiophen	86,9	5,73	6,6
Acridin	112,8	3,15	2,8
Phenanthridin	110,3	3,83	3,5
Carbazol	110,3	3,78	3,4

■ Nicht bestimmbar durch schlechte Signale oder schlechte Wiederfindungen:

- Pyridin
- 2-Methylpyridin
- 3-Methylpyridin
- 4-Methylpyridin
- Pyrrol
- Thiophen
- 2-Methylthiophen
- 3-Methylthiophen
- 2,5-Dimethylthiophen

■ Probleme bereits bei der Standardherstellung

- 9(10H)-Acridinon
- 6(5H)-Phenanthridinon

www.berghof.com



Verfahren nach Heft 10 altlastenforum bzw. DIN 38406-F39

- flüssig-flüssig-Extraktion aus der Probenahme flasche mit 25mL Hexan aus der nicht sauren Probe, evtl. pH-Wert auf 7 bis 8 einstellen
- 30 min lang auf dem Magnetrührer bei einer maximalen Drehzahl von ca. 1.000 min⁻¹ sorgfältig rühren, so dass sich ein Rührtrichter ausbildet, der bis auf den Gefäßboden reicht.
- Phasentrennung über einen Scheidetrichter oder durch Verwendung eines Mikroseparator
- Extrakt trocknung über Natriumsulfat
- Einengen des getrockneten Extrakts am Rotationsverdampfer anschließend wird Abblasen mit Stickstoff empfohlen.
- Extrakte nicht bis zur Trockne einengen

www.berghof.com



Wiederfindung des Verfahrens nach Heft 10 altlastenforum, weitere Ergebnisse

- Die Daten zur Wiederfindung wurden in einer ersten Messserie bestimmt und können durch Störungen des Messsystems nicht exakt dargestellt werden
- Die Abschätzung der Wiederfindungsraten ergibt ähnliche Wiederfindungen wie beim Verfahren mit SPE
- Chinolin, Acridin und Indol sind ab 0,5µg/L sicher bestimmbar

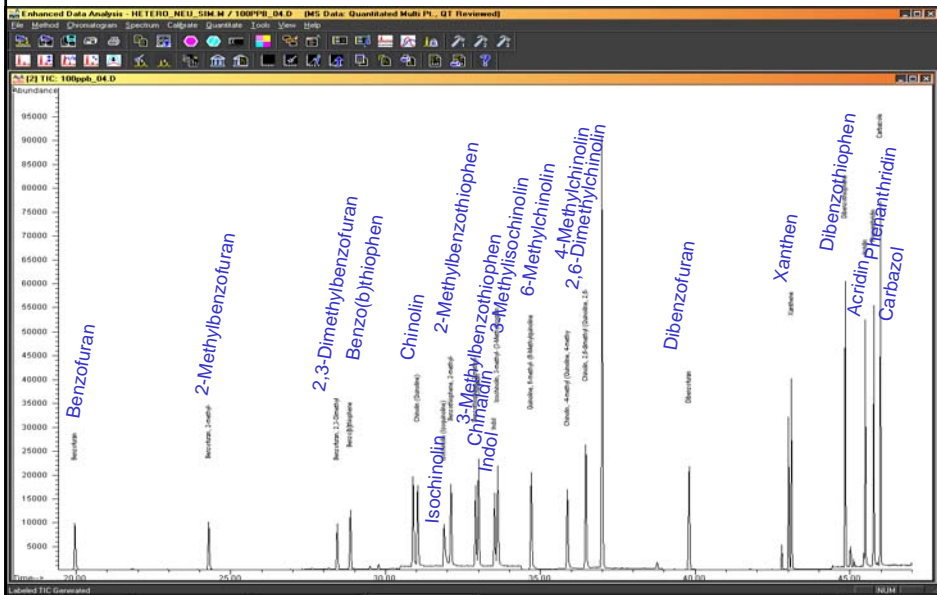
Weitere Ergebnisse:

- Durch die Kalibrierung mit über das Gesamtverfahren aufgearbeiteten Standards ist die Wiederfindung bei beiden Verfahren bereits berücksichtigt.
- Auch beim Verfahren nach DIN 38406-F39 sind Pyridine, Thiophen und Pyrrol nicht bestimmbar
 - Gleiche Messtechnik GC-MS
 - Gleiche Problematik
- Pyridine, Thiophen und Pyrrol sind auch über das „Twister“-Verfahren nicht bestimmbar
- Auch über Headspace nicht alle Komponenten bestimmbar

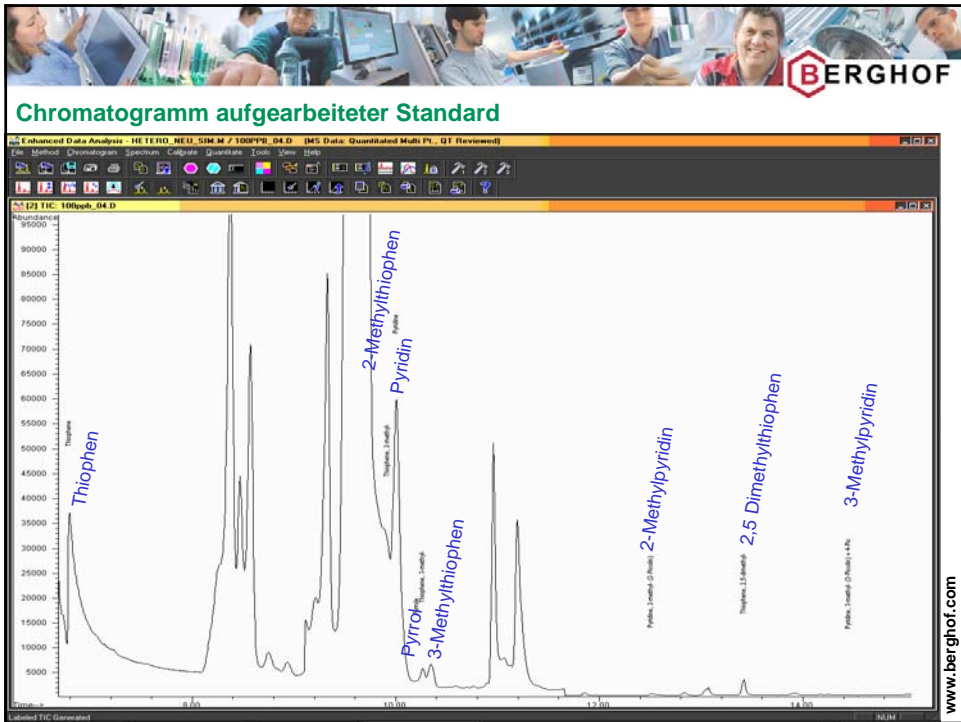
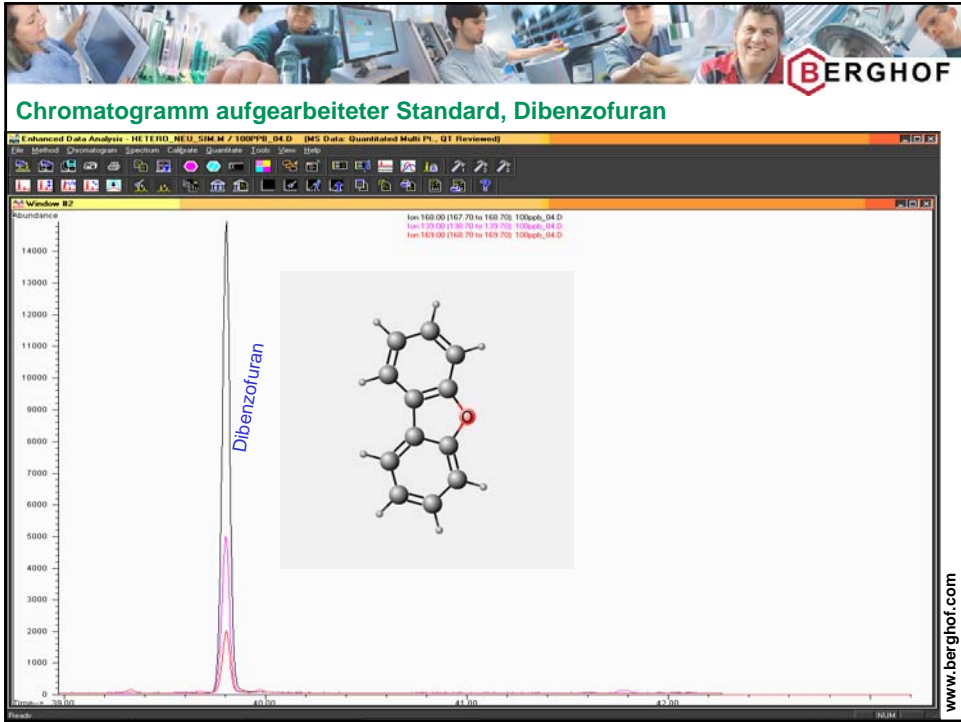
www.berghof.com

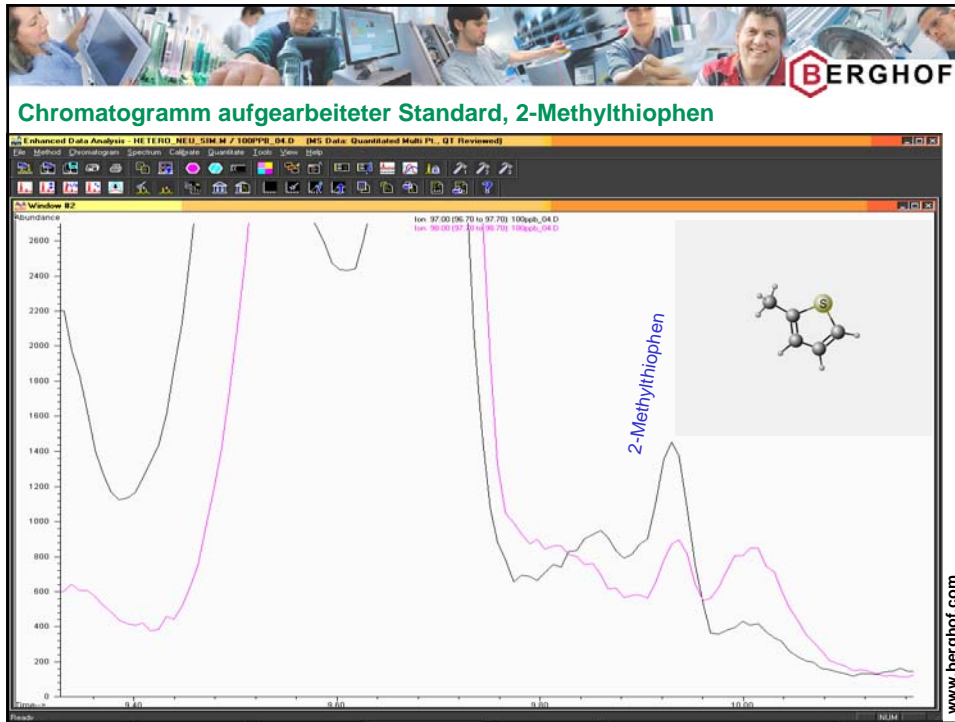


Chromatogramm aufgearbeiteter Standard



www.berghof.com






Ergebnisse		P1		P2					
Komponente/	34478-07	35023-01	LUBW	LUBW	34478-09	35023-02	LUBW	LUBW	
Ergebnisse in ng/L	500:1			2.te	500:1			2.te	
Gelb = alter Umfang				Messung				Messung	
Benzofuran	17.903	12.700		9.913	405.295	16.900		160.990	
Benzofuran, 2-methyl	9.774	10.900		6.056	114.880	98.800		38.008	
Benzo[b]thiophen	9.952	15.600		10.711	585.149	521.000		384.056	
Benzofuran, 2,3-dimethyl	1.281	1.120		619	23.778	28.400		14.857	
Chinolin (Quinoline)	2.064	885		456	15.713	6.030		9.806	
Isochinolin (Isoquinoline)	1.925	887		1.754	6.621	5.040		113.538	
Benzothiophen, 2-methyl	517	472			24.918	24.500			
Indol	632	417		<500	3.123	2.810		23.292	
Chinaldin Chinolin, 2-methyl	1.698	1.890			9.953	7.590			
Benzothiophen, 3-methyl	945	496		745	19.975	16.500		33.332	
Isochinolin, 3-methyl	<100				<100				
Chinolin, 6-methyl	<100				2.104				
Chinolin, 4-methyl	<100				<100				
Chinolin, 2,6-dimethyl	<100				<100	526			
Dibenzofuran	7.345	7.250		5.609	435.892	495.000		1.729.350	
Xanthen	<50	<50		<500	<50	<50		35.964	
Dibenzothiophen	2.040	1.830		1.344	14.013	7.800		191.958	
Acridin	<50	164		<500	<50	<50		<500	
Phenanthridin	<50	<50		<500	<50	390		6.121	
Carbazol	7.896	8.890		8.387	54.444	49.200		66.226	
Summe	63.970	63.719		45.594	1.715.857	1.282.738		2.807.498	
frühere Untersuchung					2.117.000				

pH 7,08 O₂ 1,63 T 15,2°C LF
 2440, Redox – 73mV
 gelbbraun, trüb, Geruch nach PAK

pH 7,22 O₂ 1,25 T 14,4°C LF
 1551, Redox – 115mV gelb,
 trüb, Geruch nach PAK


www.berghof.com



Ergebnisse

Komponente/ Ergebnisse in ng/L Gelb = alter Umfang	P12				P35			
	34478-06 910:1	35023-03	LUBW	LUBW 2.te Messung	34478-08 1000:1	35023-05	LUBW	LUBW 2.te Messung
Benzofuran	<50	<50	n.d.	n.d.	<50	<50	n.d.	n.d.
Benzofuran, 2-methyl	501	482		149	2.468	2.620		1.226
Benzo[b]thiophen	<50	<50	n.d.	n.d.	97	130	n.d.	n.d.
Benzofuran, 2,3-dimethyl	334	350		<500	773	864		<500
Chinolin (Quinoline)	<100	<100	n.d.	<500	<100	<100	n.d.	n.d.
Isochinolin (Isoquinoline)	<100	<100	n.d.	526	<100	<100	n.d.	1.468
Benzothiophen, 2-methyl	<100	<100			<100	<100		
Indol	<100	<100	n.d.	<500	<100	<100	n.d.	n.d.
Chinaldin Chinolin, 2-methyl	<100	<100			<100	<100		
Benzothiophen, 3-methyl	123	<100		<500	557	534		1.053
Isochinolin, 3-methyl	<100	<100			<100	<100		
Chinolin, 6-methyl	<100	<100			<100	<100		
Chinolin, 4-methyl	<100	<100			<100	<100		
Chinolin, 2,6-dimethyl	<100	<100			<100	<100		
Dibenzofuran	<50	432	n.d.	n.d.	290	415	n.d.	n.d.
Xanthen	<50	<50	n.d.	n.d.	<50	<50	n.d.	<500
Dibenzothiophen	116	176	n.d.	n.d.	292	332	50	n.d.
Acridin	<50	<50	n.d.	<500	<50	<50	n.d.	<500
Phenanthridin	<50	<50	n.d.	n.d.	<50	<50	n.d.	n.d.
Carbazol	<50	<50	n.d.	n.d.	49	49	n.d.	n.d.
Summe	1.074	1.440	0	675	4.527	4.944	50	3.747
frühere Untersuchung	1000							

www.berghof.com



N-Heterozyklen

	KORA Methode 1 HPLC-DAD	KORA Methode 2 HS-GC-MS	KORA Methode 3 GC-MS (Tü)	KORA Methode 4 GC-MS (Ka)	DIN 38406- F39 LUBW	Methode Berghof GC-MS
Chinolin	X	X	X	X	X	X
Isochinolin	X		X	X	X	X
2-Methylchinolin (Chinaldin)	X	X	X			X
4-Methylchinolin	X	X				X
6-Methylchinolin	X			X		X
2,4-Dimethylchinolin	X	X	X	X		n. verfügbar
2,6-Dimethylchinolin	X					X
1-Methylisochinolin	X		X			n. verfügbar
3-Methylisochinolin	X					X
4-Methyl-2-chinolin	X					n. verfügbar
2-Chinolinon [#]	X					
1-Isochinolinon [#]	X					
Methylchinolinon [#]						
Carbazol	X		X	X	X	X
Acridin	X		X	X	X	X
9(10H)-Acridinon [#]	X		X			-
6(5H)-Phenanthridinon [#]	X		X			-
Phenanthridin					X	X
Pyrrol		X			-	-
Pyridin		X			-	-
2-Methylpyridin		X			-	-
3-Methylpyridin		X			-	-
4-Methylpyridin		X			-	-
Indol		X		X	X	X

www.berghof.com



Möglicher Grundumfang

S-Heterozyklen	KORA Methode 1 HPLC-DAD	KORA Methode 2 HS-GC-MS	KORA Methode 3 GC-MS (Tü)	KORA Methode 4 GC-MS (Ka)	DIN 38406- F39 LUBW	Methode Berghof GC-MS
Benzothiophen	X	X	X	X	X	X
Dibenzothiophen	X	X	X	X	X	X
Thiophen		X			-	-
2-Methylthiophen		X			-	-
3-Methylthiophen		X			-	-
2,5-Dimethylthiophen		X			-	-
Tetrahydrothiophen		X				
2-Methylbenzothiophen		X	X			X
3-Methylbenzothiophen	X	X	X	X	X	X
5-Methylbenzothiophen		X	X			n. verfügbar
2,5-Dimethylbenzothiophen		X				n. verfügbar
Methyldibenzothiophene						
Hydroxibiphenyl [#]						

www.berghof.com



Möglicher Grundumfang

O-Heterozyklen	KORA Methode 1 HPLC-DAD	KORA Methode 2 HS-GC-MS	KORA Methode 3 GC-MS (Tü)	KORA Methode 4 GC-MS (Ka)	DIN 38406- F39 LUBW	Methode Berghof GC-MS
Xanthen			X	X	X	X
Benzofuran	X	X	X	X	X	X
Dibenzofuran	X	X	X	X	X	X
2-Methylbenzofuran	X	X	X	X	X	X
2,3-Dimethylbenzofuran	X	X	X	X	X	X
9H-Xanthenon [#]	X					
2-Methyldibenzofuran	X			X		
Furan						
3,6-Dimethylbenzofuran			X			
Xanthon			X			

Fettdruck: Nach Heft 12 altlastenforum BW (Blotevogel et al.) Prioritäts-substanz

#: Nach Heft 12 altlastenforum BW (Blotevogel et al.) Metabolite

www.berghof.com



IDEEN WERDEN WAHR



Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!