

Dipl.-Chem. Lorina Schmalz^{*)},
Dr.-Ing. Simone Tränckner
Dresdner Grundwasserforschungs-
zentrum e. V.,
Meraner Straße 10, 01217 Dresden
E-Mail: LSchmalz@dgfz.de



* Korrespondenzautorin

Flüssigchromatographische Bestimmung von polaren nitroaromatischen Verbindungen im Grundwasser von Rüstungsaltslasten

Zusammenfassung

Zur analytischen Bestimmung von polaren Nitroaromaten wurde eine HPLC-Methode unter Ionensuppressionsbedingungen erarbeitet. Die Methode ermöglicht eine Bestimmung von Nitrobenzoe- und Nitrosulfonsäuren sowie Nitrophenolen durch direkte Injektion der Wasserproben. Eine vorherige Abtrennung der normalerweise störenden unpolaren Nitroaromaten ist dank der besonderen Selektivität der eingesetzten Trennphase nicht notwendig. Mit Bestimmungsgrenzen zwischen 3 und 13 µg/l und Variationskoeffizienten unter 2,5 % erlaubt die in Handhabung und Probenvorbereitung einfache Methode eine sichere Analyse polarer nitroaromatischer Verbindungen in natürlichen Wasserproben.

Schlagwörter: Analytik, Grundwasser, Altslasten, Nitroaromaten, Benzoesäuren, Sulfonsäuren, Nitrophenole, HPLC, Diodenarray-Detektor

The Liquid Chromatography Determination of Polar Nitroaromatic Compounds in Groundwater of Former Ammunition Sites

Summary

An HPLC method for the analytic determination of polar nitroaromatic compounds under ion-suppression conditions was developed. With this method, the analysis of nitrobenzoic and nitrosulfonic acids as well as nitrophenoles can be performed by means of direct injection of water samples. The extraordinary selectivity of the separation phase makes a preceding separation of unpolar nitroaromatic compounds, usually disturbing the separation, unnecessary. The method, which provides easy handling and sample preparation, is characterized by a detection limit of 3–13 µg/l and a variation coefficient of less than 2.5 %.

Keywords: analytical chemistry, groundwater, contaminated sites, nitroaromatic compounds, benzoic acids, sulfonic acids, nitrophenoles, HPLC, diode array detector

1 Einleitung und Zielstellung

Bei der Herstellung und Entsorgung von Sprengstoffen in den ehemaligen Produktionsstätten entstanden eine Vielzahl nitroaromatischer Verbindungen, die Boden und Grundwasser in diesen Gebieten verunreinigen. Neben den sprengstofftypischen Verbindungen (STV, unpolare Nitroaromaten – unterschiedlich substituierte Nitrotoluole und Nitrobenzole) fallen auch polare Nitroaromaten (Nitrobenzoesäuren, Nitrosulfonsäuren, Nitrophenole) bei der Untersuchung von Rüstungsaltslasten immer wieder auf [1–3]. Diese Stoffe sind als Abbauprodukte der Sprengstoffe in Folge der biologischen [4–6] und chemischen [7–9] Metabolisierung sowie als technische Nebenprodukte [10] bekannt.

Im Grundwasser und Boden an verschiedenen Altslaststandorten wurden bisher als polare Nitroaromaten vor allem Benzoesäuren, wie:

- 2,4-Dinitrobenzoesäure (24DNBs),
 - 2,4,6-Trinitrobenzoesäure (246TNBs),
 - 2-Amino-4,6-dinitrobenzoesäure (2A46DNBs),
- Sulfonsäuren, wie:
- 2,4-Dinitrotoluol-3-sulfonsäure (24DNTSs-3),
 - 2,4-Dinitrotoluol-5-sulfonsäure (24DNTSs-5),
- sowie Dinitrophenole, wie:

- 3,5-Dinitrophenol (35DNPh),
 - 2,4-Dinitrophenol (24-DNPh),
- nachgewiesen [1, 3, 11–14]. Unter human- und ökotoxikologischem Aspekt sind die Stoffe nicht unbedenklich. So wurde eine mutagene Wirkung für 2,4-Dinitrobenzoesäure von Couch et al. nachgewiesen [15] und die 2,4,6-Trinitrobenzoesäure in einem ökotoxikologischen Test als gefährlich für aquatische Organismen eingestuft [16]. Das Gefährdungspotential der polaren nitroaromatischen Verbindungen erhöht sich zusätzlich durch deren hohe Mobilität aufgrund ihrer hohen Wasserlöslichkeit (Tabelle 1). Der zuverlässige analytische Nachweis der polaren Nitroaromaten ist damit eine wichtige Grundlage für weitere Untersuchungen von natürlichen Abbau- und Rückhalteprozessen sowie beim Monitoring der Altslasten und der toxikologischen Einordnung der Stoffe [4]. Für langjährige Monitoring-Maßnahmen und für Prozess-Untersuchungen ist außerdem eine relativ einfache und preiswerte Methode besonders wünschenswert.

Aufgrund der hohen Polarität der Analyten ist deren gaschromatographische Bestimmung mit einer aufwändigen Probenvorbereitung (Extraktion und Derivatisierung) verbunden [17–19, 28]. Demgegenüber hat die Flüssigchromatographie den Vorteil der Direktaufgabe der wässrigen Probe und wird aus diesem Grund oft angewendet [2, 3, 11–14, 20–28]. Unter

Nr.	Verbindung	Abkürzung	CAS-Nummer	Hersteller	Löslichkeit in Wasser ¹⁾ [g/l]	log K _{ow} ¹⁾	pK _a ¹⁾	Retentionszeit [min]
1	4-Amino-2,6-dinitrobenzoesäure	4A26DNBs	114168-48-8	ITEM ²⁾	k. A. ³⁾	k. A.	k. A.	10,92
2	2,4,6-Trinitrobenzoesäure	246TNBs	129-66-8	ITEM/ Fa. Promochem	20 (25 °C)	0,23	0,65	15,54
3	2,4-Dinitrobenzoesäure	24DNBs	610-30-0	ITEM/ Fa. Dr. Ehrenstorfer	18,2 (25 °C)	1,17	1,42	15,98
4	2-Amino-4,6-dinitrobenzoesäure	2A46DNBs	14380-55-8	ITEM	k. A.	k. A.	k. A.	17,35
5	2,4-Dinitrotoluolsulfonsäure-3	24DNTSs-3	63348-71-0	ITEM	k. A.	k. A.	k. A.	18,71
6	2,4-Dinitrotoluolsulfonsäure-5	24DNTSs-5	52146-86-8	ITEM	k. A.	k. A.	k. A.	20,51
7	2,4,6-Trinitrophenol (Pikrinsäure)	246TNPh	88-89-1	Fa. Dr. Ehrenstorfer	12,7 (25 °C)	1,33	1,02	24,91
8	4-Nitrobenzoesäure	4NBs	62-23-7	Fa. Dr. Ehrenstorfer	0,2 (15 °C)	1,89	3,44	25,6
9	3-Nitrophenol	3NPh	554-84-7	Fa. Dr. Ehrenstorfer	13,5 (25 °C)	2,00	8,36	26,20
10	4-Nitrophenol	4NPh	100-02-7	Fa. Dr. Ehrenstorfer	11,6 (20 °C)	1,91	7,15	26,45
11	3,5-Dinitrophenol	35DNPh	586-11-8	Fa. Dr. Ehrenstorfer	4,0 (25 °C)	2,36/1,73	6,69	32,03

¹⁾ Die Angaben stammen aus *www.chemfinder.com* (Mai 2004).

²⁾ Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Experimentelle Medizin, Hannover

³⁾ k. A – keine Angabe

Tabelle 1: Physikalische und chemische Kennwerte der hier untersuchten polaren Nitroaromaten sowie Retentionszeiten bei der HPLC-Bestimmung

konventionellen RP-HPLC-Bedingungen haben die ionogenen Benzoe- und Sulfonsäuren jedoch zu kleine Kapazitätsfaktoren (k'), so dass die Verwendung der Ionenpaar- oder Ionensuppressions(Ionenunterdrückungs)-Technik erforderlich ist. In der Literatur sind einige Anwendungsbeispiele mit Ionensuppressions- [2, 13, 20–23] und Ionenpaarchromatographie [3, 11–14, 24, 25] für polare Nitroaromaten beschrieben. Die Variante der Ionensuppression wurde aufgrund ihrer einfacheren Handhabung und Ausführung und daher Zeit- und Kostensparbarkeit von uns bevorzugt.

Für die Detektion der polaren Nitroaromaten in der Flüssigchromatographie steht eine Palette von Detektoren zur Verfügung. So wurden vielfach konventionelle UV-VIS- [11, 28], Dioden-Array- [2, 3, 12–14, 22–25, 28] und Fluoreszenz-Detektoren [13, 23, 24] verwendet, seltener elektrochemische [20], MS- [27] und NMR-Detektoren [12, 21, 26, 27]. Die MS- und NMR-Detektion wird überwiegend zur Strukturaufklärung eingesetzt. Die Fluoreszenzdetektion ist durch den Quench-Effekt der Nitro-Gruppen limitiert und liefert nur für amino-substituierte Verbindungen einen ausreichend empfindlichen analytischen Nachweis [23]. Für die Analyse in einer natürlichen Matrix sind jedoch Detektoren unverzichtbar, die eine Aufnahme von Substanzspektren erlauben, da sie eine sichere und selektive Bestimmung gewährleisten.

Die geeignete Selektivität des Trennmaterials für die zu bestimmenden Analyten ist ein anderer wichtiger Aspekt bei der Erarbeitung einer flüssigchromatographischen Methode. Als stationäre Phase für den HPLC-Nachweis polarer Nitroaromaten wurden verschiedene RP18-Materialien, wie Lichrospher von Merck [12, 13, 20, 221, 26, 27], Nucleosil (CS-Chromatographie Service) [14], Hypersil (Knauer) [25] verwendet. Alle diese Trägermaterialien erlauben zwar eine gute Trennung von diversen Benzoe- und Sulfonsäuren, die jedoch in realen Wasserproben durch die ständige Anwesenheit von unpolaren Nitroaromaten gestört wird [22]. Dabei liegen Letztere oft um mindestens eine Potenz höher konzentriert als die polaren Nitroaromaten vor. So wurden beispielweise am untersuchten Rüstungsstandort die unpolaren Nitroaromaten im Bereich von 0,5 bis 10 mg/l und die polaren Nitroaromaten in Konzentrationen von 0,005 bis 0,8 mg/l gefunden. Die vorherige Abtrennung der unpolaren Verbindungen mittels Flüssig-flüssig-Extraktion [3, 21, 22, 26, 28] oder Festphasenextraktion [2, 3, 11–13, 20, 24, 25] war folglich bisher zwingend notwendig.

Im Rahmen eines vom Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderten F&E-Projektes zur Überprüfung von Selbstreinigungspotentialen in STV-kontaminierten Grundwasserleitern bestand die Aufgabe, polare Nitroaromaten in einer natürlichen Matrix zu bestimmen. Als Ziel wurde die Entwicklung einer robusten, zeit- und kostensparenden Analysenme-

thode unter Minimierung des Aufwandes bei der Probenvorbereitung definiert.

2 Apparatur und Materialien

Die flüssigchromatographische Bestimmung der polaren Nitroaromaten wurde mit einer Apparatur der Fa. Gynkotec durchgeführt. Das HPLC-System bestand aus einer Gradientenpumpe GP-50 mit integriertem Degasser, einem Autosampler GINA-50, einem Säulentermostat STH-585 und einem UV/VIS-DAD-Detektor UVD-340S. Als Trennsäule wurde ULTRASEP ES Phenol-1 der Fa. SepServ (Berlin) mit der Größe 250 × 3mm und der Partikelgröße 5 µm verwendet. Als Eluent diente eine Mischung aus Acetonitril und Wasser („HPLC-Reagent, Gradient-Grade“ der Fa. Baker), dem Phosphorsäure der Qualität „p. p. a.“ (Fa. Merck) zugegeben wurde. Einzelne Referenzstoffe lieferten die Fa. Dr. Ehrenstorfer und die Fa. Promochem. Nicht im Handel erhältliche Referenzstoffe (Tabelle 1) wurden freundlicherweise von unserem Projektpartner [Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Experimentelle Medizin (Fraunhofer ITEM), Hannover, Dr. Alfred Preiß] zur Verfügung gestellt.

3 Entwicklung der Methode

3.1 Stationäre und mobile Phase

Die chromatographische Trennung hängt im Wesentlichen von der Selektivität der stationären und mobilen Phase ab. Zwei stationäre Phasen wurden getestet:

- Aqua C18, mit Polar-Endcapping, speziell für die Analytik polarer Stoffe von Fa. Phenomenex angeboten,
- UltraSep ES Phenol-1, eine RP-18-Phase von Fa. SepServ, für die Analytik der Phenol-Verbindungen zugeschnitten.

Um die Tauglichkeit der Trägermaterialien für die Retention der Zielanalyten prinzipiell zu prüfen, wurden die Säulen unter isokratischen Bedingungen mit Wasser (pH-Wert von 2,5 bis 3,0) und Methanol (30, 40, 50 und 60 %) getestet. Mit dem speziellen Träger (Aqua C18) wurde leider keine gute Peaksymmetrie für die Benzoe- und Sulfonsäuren erzielt. Alle Peaks wiesen ein starkes Tailing auf. Dagegen zeigte die UltraSep ES-Säule eine sehr gute Einsatzfähigkeit für die Zielanalyten. Das UltraSep ES Phenol-Material ist ein hoch beladener Methyl-C18-Träger mit wirksamen Restsilanolen der Grundmatrix. Die sehr gute Peak-Geometrie (Tailingfaktor < 1,6) favorisierte dieses Trägermaterial für unsere Untersuchungen.

Ein Acetonitril/Wasser-Gemisch hat sich in weiteren Tests als die optimale mobile Phase für die Phenol-Säule erwiesen. Die Trennung des Stoffgemisches erfolgte mittels Gradientelution. Die Ionensuppressionsbedingungen wurden durch die pH-Einstellung der mobilen Phase mit Phosphorsäure realisiert. Der pH-Wert ist im Fall ionogener Verbindungen ein wichtiger Faktor für die optimale Selektivität des Trennsystems. Um die Ionenbildung zu unterdrücken, sollte der pH-Wert des Eluenten unter dem pK_a -Wert der Substanz liegen. Eine vollständige Ionensuppression wird bei $pH = pK_{a-2}$ gewährleistet [29]. Für die Zielsubstanzen liegen die pK_a -Werte im Bereich von 8,36 bis 0,65 (Tabelle 1). Da die Stabilität des RP-Trägermaterials mit $pH = 2$ begrenzt ist, kann die Ionenbildung nicht für alle Stoffe vollständig unterdrückt werden. Um optimale Trennbe-

dingungen zu erzielen, wurde der pH-Wert des Eluenten im Bereich von 2,5 bis 3,6 variiert. Das gleiche Stoffgemisch wurde im Gradientenregime unter verschiedenen pH-Werten des Eluenten chromatographiert. Die pH-Änderung zeigte für die verschiedenen Analyten unterschiedliche Auswirkungen. Besonders pH-labil waren 2A46DNBs, 246TNPh und 24-DNBs. Ihre Verzögerung auf der Säule stieg mit sinkendem pH-Wert um mehr als 5 Minuten. 4A26DNBs hat erst bei $pH = 2,9$ auf die veränderten Trennbedingungen reagiert. Die Retentionszeiten von 35DNPh, 4NPh und 3NPh blieben dagegen stabil. Die Sulfonsäuren (24DNTSs-3, 24DNTSs-5) und 4NBs wiesen eine annähernd konstante Retention ab pH-Werten < 2,9 auf (Bild 1).

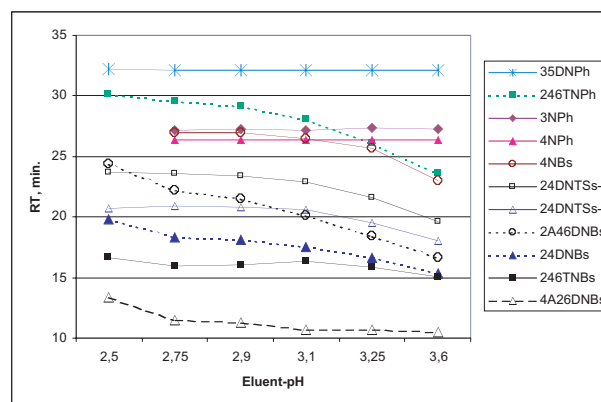


Bild 1: Abhängigkeit der Retentionszeiten (RT) der polaren Nitroaromaten vom pH-Wert des Eluenten

Die Änderung der Retention bei verschiedenen pH-Werten des Eluenten ist mit dem Dissoziationsgleichgewicht (pK_a -Wert) der Verbindungen erklärbar. Eine kurze Retention der polaren Substanzen auf dem unpolaren RP-Träger zeigt, dass sich diese überwiegend im ionisierten Zustand im Eluenten befinden und daher kaum mit dem Träger reagieren [22, 29]. Erst wenn sich der pH-Wert des Eluenten dem pK_a -Wert der Verbindung nähert, wird der Anteil der nicht ionisierten Moleküle wachsen und ihre Verzögerung auf dem Träger steigen. Die Stoffe 24-DNBs mit $pK_a = 1,4$ und 246TNPh mit $pK_a = 1,02$ illustrieren diesen Effekt im Bild 1. Unterschreitet der pH-Wert des Eluenten den pK_a -Wert, wird die Ionenbildung unterdrückt, und nicht ionisierte Moleküle erreichen ihre maximale Retention, die durch weiteres Absinken des pH-Wertes des Eluenten nicht mehr verändert werden kann. Das ist beispielsweise für 4-Nitrobenzoesäure der Fall (Bild 1). Nicht für alle untersuchten Verbindungen konnten pK_a -Werte in der Literatur gefunden werden. Das der 4-Nitrobenzoesäure ähnliche Verhalten bei der 2,4-Dinitrotoluolsulfonsäuren lässt darauf schließen, dass deren pK_a -Wert ebenfalls im untersuchten pH-Bereich unterschritten wurde. Bei den untersuchten Nitro- und Dinitrophenolen liegen die pK_a -Werte weit oberhalb des angewendeten pH-Bereiches. Die Ionenbildung der Phenole ist vollständig unterdrückt, und demzufolge beeinflusst eine pH-Änderung ihr Retentionsverhalten nicht.

Die Änderung der Trennselektivität durch die Manipulation des Ionisierungsgleichgewichtes (sprich die Einstellung des pH-Wertes vom Eluenten) ist gut aus den Bildern 2a–2f ersichtlich. Zufriedenstellende Chromatogramme der Zielanalyten wurden im untersuchten pH-Bereich von 2,5 bis 3,6 erhalten. Die Entscheidung über den optimalen pH-Wert des Eluenten kann

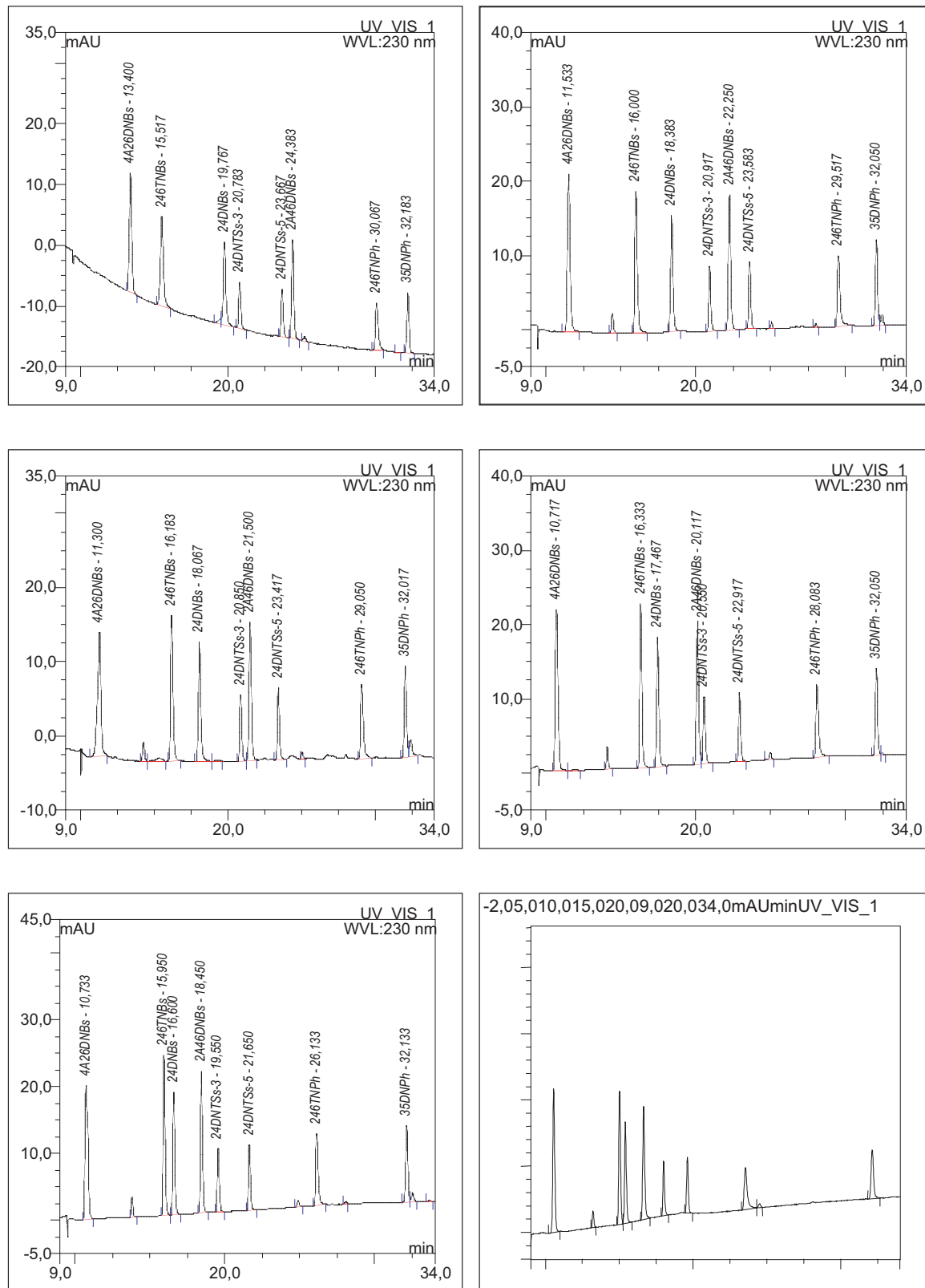


Bild 2: Trennung des Gemisches von polaren Nitroaromaten bei verschiedenen pH-Werten der mobilen Phase:

a) pH = 2,5; b) pH = 2,75; c) pH = 2,9; d) pH = 3,1; e) pH = 3,25; f) pH = 3,6

dabei individuell unter Berücksichtigung der störenden Matrix (Kapitel 3.2) getroffen werden.

3.2 Störungen

Die HPLC-Bestimmung der polaren Nitroaromaten kann sowohl von unbekanntem polaren Substanzen (Matrix) als auch von unpolaren Nitroaromaten [22, 23, 25] gestört werden. Hinsichtlich ersterer können die Störungen durch Variation des pH-Wertes des Eluenten minimiert und das Trennungsoptimum gefunden werden. Die von uns untersuchten Wässer haben minimale Störungen bei einem pH-Wert von 3,6 gezeigt, so dass die weitere Validierung der Methode mit diesem pH-Wert durchgeführt wurde.

Die unpolaren Nitroaromaten müssten bisher, wie schon erwähnt, während der Probenvorbereitung abgetrennt werden (Kapitel 1). Es wurde nun festgestellt, dass die eingesetzte stationäre Phase („SepServ-Phenol-1“) unter den gewählten Bedingungen eine sehr günstige Selektivität aufweist. Die unpolaren Stoffe haben größere Retentionszeiten als die polaren (ab 27 Minuten) und stören die Bestimmung der polaren Nitroaromaten mit Ausnahme des 3,5-Dinitrophenols nicht (Bild 3).

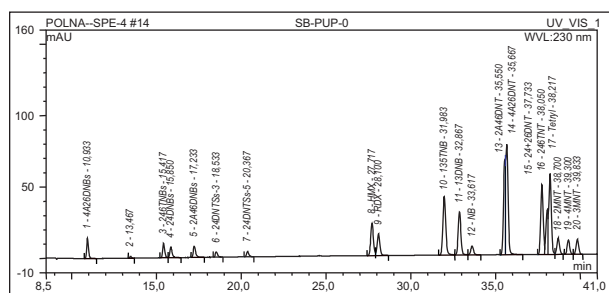


Bild 3: Chromatogramm eines Standardgemisches polarer und unpolarer Nitroaromaten. Konzentration der polaren Nitroaromaten ca. 0,25 mg/l, der unpolaren Nitroaromaten ca. 1 mg/l

Um einer aufwändigen Vorextraktion der Wasserprobe mit einem organischen Lösungsmittel für den Nachweis von 3,5-DNPh zu entgehen, haben wir folgende Methode angewendet: Diejenigen Proben, die zunächst einen Peak im Retentionsfenster von 3,5-DNPh mit einem unklaren Spektrum zeigten, wurden im gleichen HPLC-System nochmals mit einem anderen Gradienten chromatographiert. Dabei wurde ein Gradienten-Regime gefunden, das die saubere Abtrennung des 3,5-DNPh gewährleistet (30 – 50 % B in 26 min.; t = 30 °C; Flow = 0,4 ml/min). Die illustrierenden Beispielmessungen werden im Kapitel 5 aufgeführt.

3.3 Detektion

Für die Detektion wurde ein Diodenarray-Detektor verwendet, der in realen Proben bei der Anwesenheit einer Vielzahl von unbekanntem Verbindungen die notwendige spektrale Bestätigung der Zielanalyten ermöglicht. Um eine optimale Wellenlänge für die Verbindungen zu finden, wurden anhand der Substanzspektren zwei Messkanäle ausgewählt. Mit der Orientierung auf das Absorptionsmaximum der Stoffspektren (Bilder 4a–e) wur-

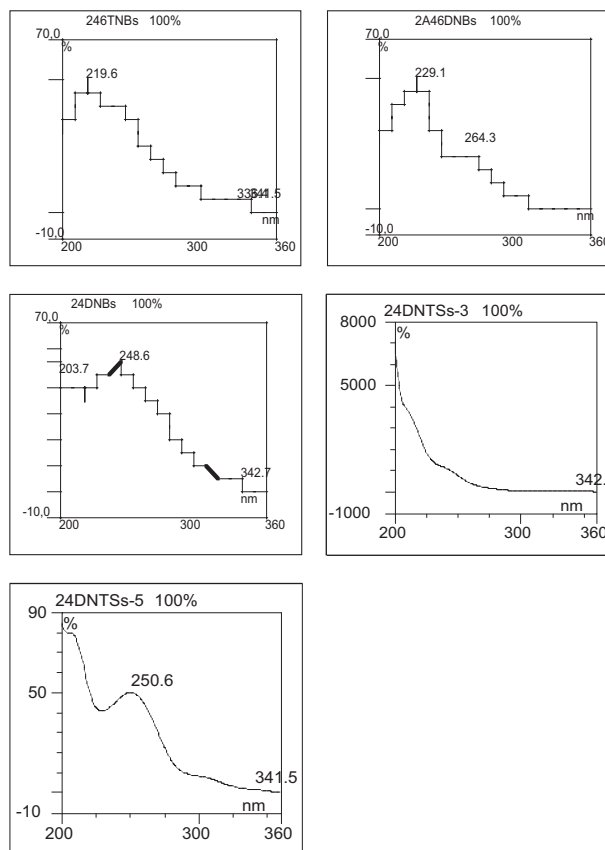


Bild 4: UV-Spektren von: a) 246TNBs; b) 2A46DNBs; c) 24DNBs; d) 24DNTSs-3; e) 24DNTSs-5

de ein Kanal bei 230 nm für die Detektion von Benzoesäuren angelegt und ein weiterer bei 210 nm zur Detektion von Sulfonsäuren. Zu beachten ist dabei, dass das Rauschen der Basislinie bei 210 nm höher war als bei 230 nm. Aber der Vergleich der Chromatogramme bei beiden Wellenlängen zeigt einen deutlichen Vorteil des Kanals 210 nm zur Detektion von Sulfonsäuren (Bild 5).

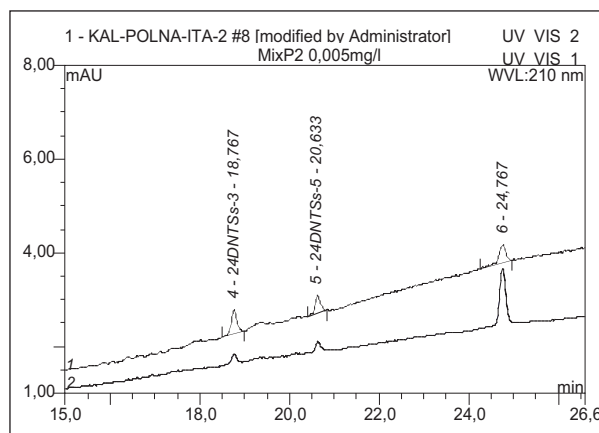


Bild 5: Gegenüberstellung der Peaks von 24DNTSs-3 und 24DNTSs-5 bei Detektion mit 210 nm (1) und 230 nm (2). Stoffmasse: 0,5 ng in 100µl

4 Validierung der Methode

4.1 Trennbedingungen

Wie aus den dargelegten Sachverhalten folgt, war die chromatographische Trennung der polaren nitroaromatischen Verbindungen unter folgenden Bedingungen optimal:

Säule: UltraSep ES Phenol-1, 250 × 3 mm, 5 µm
 Laufmittel : A – Reinstwasser, pH = 3,6 mit H₃PO₄
 B – Acetonitril
 UV-Detektion: Kanal 1 – 210 nm
 Kanal 2 – 230 nm
 Injektionsvolumen: variabel, 20–200 µl

Messbedingungen A:
 Fluss: 0,5 ml/min
 Gradient : 0–50 % B – 35 min
 50–85 % B – 40 min
 100 % B – 40–50min
 Säulentemperatur: 40 °C

Die Bestimmung von 35DNPh in Anwesenheit von 135TNB wurde mit folgendem Trennprogramm durchgeführt:

Messbedingungen B:
 Fluss: 0,4 ml/min
 Gradient : 30–50 % B – 26 min
 50–100 % B – 30 min
 Säulentemperatur: 30 °C

4.2 Reproduzierbarkeit und Robustheit

Mit Hilfe von zehn nacheinander folgenden Injektionen einer Standardlösung wurden Variationskoeffizienten für die Retentionszeiten und Flächenwerte ermittelt. Für die untersuchten Stoffe lagen die Werte unter 1,1 %. Die Robustheit der Methode wurde im Laufe von vier Monaten geprüft. Im untersuchten Zeitraum wurde ein Variationskoeffizient der Retentionszeit von 2,5 % für den Peak der 24DNTSs-5 ermittelt.

4.3 Linearität und Bestimmungsgrenzen

Der Messbereich einer HPLC-Methode ist durch die Säulenkapazität und den linearen Bereich des Detektors begrenzt. Durch das variable Injektionsvolumen war es möglich, verschiedene Messbereiche abzudecken. Um den Arbeitsbereich zu präzisieren, wurde die Stoffmenge als Kriterium zum Errechnen von Nachweis- und Bestimmungsgrenzen genommen. Die Methode wurde im Bereich von 0,5 ng bis 50 ng Stoffmenge validiert. In Konzentration ausgedrückt, ergibt sich ein Bereich von 5 µg/l (5 ng/100 µl Injektionsvolumen) bis 2,5 mg/l (50 ng/20 µl Injektionsvolumen). Eine Ausnahme ist die 4A26DNBs. Die Stoffmenge von 20 ng bringt bei dem pH-Wert des Eluenten von 3,6 einen unsymmetrischen Schulter-Peak. Eine Änderung des pH-Wertes (z. B. auf 2,75) führt zu einer guten Peakform. Wir sind bei dem ausgewählten pH-Wert der mobilen Phase geblieben, da, zusätzlich zur optimalen Matrix-Abtrennung, die 4A26DNBs in sehr niedrigen Konzentrationen vorkommt (< 5 µg/l).

Nr.	Verbindung	Korrelationskoeffizient	Relative Verfahrensstandardabweichung [%]	Instrumentelle Nachweisgrenze [ng]	Instrumentelle Bestimmungsgrenze [ng]	Instrumentelle Bestimmungsgrenze (Injektionsvolumen 100 µl) [µg/l]
	230 nm					
1	4A26-DNBs	0,99998	0,67	0,08	0,28	2,8
2	246-TNBs	0,99993	1,15	0,16	0,56	5,6
3	24-DNBs	0,99989	1,40	0,21	0,76	7,6
4	2A46-DNBs	0,99986	1,60	0,16	0,57	5,7
5	24-DNTSs-3	0,99969	2,40	0,37	1,31	13,1
6	24-DNTSs-5	0,99986	1,60	0,18	0,66	6,6
7	246-TNPh	0,99978	1,44	0,16	0,55	5,5
8	4-NBs	0,99967	1,92	0,24	0,81	8,1
9	3-NPh	0,99975	1,71	0,21	0,72	7,2
10	4-NPh	0,999915	0,63	0,09	0,32	3,2
11	35-DNPh	0,99996	0,70	0,09	0,31	3,1
	210 nm					
5	24-DNTSs-3	0,99970	2,33	0,36	1,27	12,7
6	24-DNTSs-5	0,99989	1,41	0,16	0,57	5,7

Tabelle 2: Statistische Kenndaten für die Bestimmung der polaren Nitroaromaten mit $P = 99\%$ (P – statistische Sicherheit)

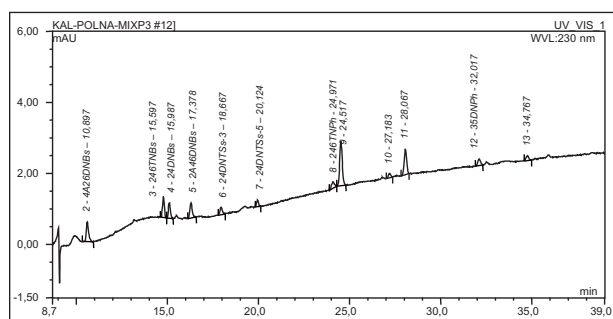


Bild 6: Chromatogramm des Standardgemisches mit einer Stoffmenge von 0,5 ng für jede Verbindung

Mittels der Kalibriergeradenmethode nach DIN 32645 wurden die Korrelationskoeffizienten, die Verfahrensstandardabweichungen sowie die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen ermittelt (Tabelle 2). Die Korrelationskoeffizienten widerspiegeln die hervorragende Linearität beider Detektionskanäle. Die relative Verfahrensstandardabweichung liegt unter 2,4 %. Die Bestimmungsgrenzen der polaren Nitroaromaten liegen im Bereich von 3,0 µg/l bis 13,0 µg/l (Injektionsvolumen: 100 µl). Die Bestimmungsgrenzen fallen für Benzoesäuren bei 230 nm und für Sulfonsäuren bei 210 nm besser aus (Tabelle 2). Bild 6 illustriert eine Messung des Standardgemisches im Bereich der Bestimmungsgrenzen bei einer Stoffmenge von 0,5 ng pro Komponente (5 µg/l mit 100µl Injektionsvolumen).

5 Beispielmessungen an realen Wasserproben

Die beschriebene Methode wurde zur analytischen Begleitung von Prozessuntersuchungen zum Transportverhalten von STV im Grundwasser angewendet. Die Grundwasserproben des untersuchten Beispielstandortes wiesen eine Kontamination mit unpolaren STV (Mono-, Dinitro- und Trinitrotoluole sowie -benzole) und polaren Nitroaromaten (Dinitro-, Trinitrobenzoesäuren, Dinitrotoluolsulfonsäuren) auf.

Als Beispiel sind die Chromatogramme von nativen Grundwasserproben in den Bildern 7a und b zu sehen. Es ist ersichtlich, dass eine Trennung der polaren und unpolaren Analyten mit der vorgestellten Methode auch in einer natürlichen Matrix ohne vorherige Abtrennung erreicht wird. Die hier abgebildeten Proben enthalten kein 1,3,5-TNB, das die Bestimmung von 3,5-DNPh stören könnte.

Anhand der nächsten Probe wird gezeigt, wie sich beide Stoffe in einer Probe mit zwei Läufen bestimmen lassen. Das im Bild 8a dargestellte Chromatogramm wurde unter dem Gradienten A aufgenommen. Es enthält einen Peak bei 32,1 Minuten, der durch Untersuchung des Spektrums als Mischpeak aus 135TNB und 35DNPh qualifiziert wurde. Die gleiche Probe wurde im nächsten Lauf unter dem Gradienten B chromatographiert (Bild 8b). Unter diesem Regime wurden zwei vollkommen getrennte Peaks von 3,5DNPh (19,7 Minuten) und 135TNB (21,7 Minuten) mit eindeutigen und sauberen Substanzspektren erzielt.

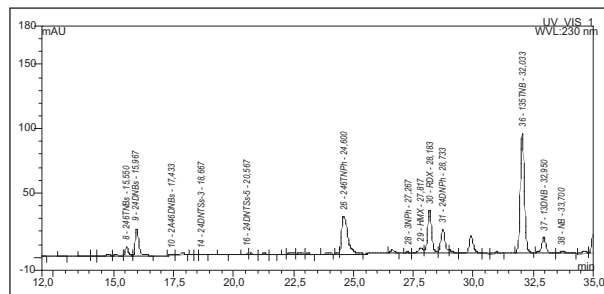
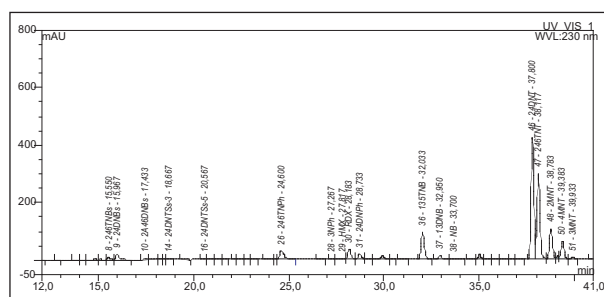


Bild 7: a) Chromatogramm einer Grundwasserprobe vom Standort Elsnig-Torgau; b) Vergrößerung des ersten Abschnittes des Chromatogrammes von Bild 7a

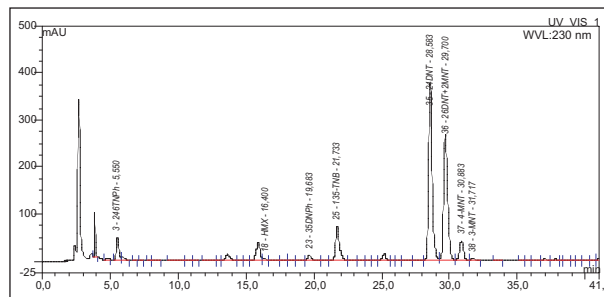
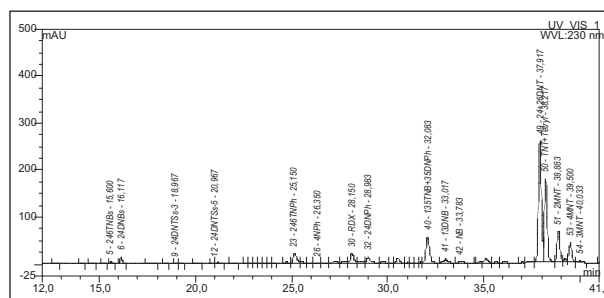


Bild 8: Chromatogramm einer realen Wasserprobe mit 135TNB- und 35DNPh-Kontamination. Messbedingungen: a) Gradient A; b) Gradient B

Bei der analytischen Begleitung eines Laborversuches, in dem extreme pH-Werte auftraten, wurde eine Verschiebung der Retentionszeit beobachtet. Durch den Einsatz eines Phosphat-Carbonat-Puffers wurde die Pufferkapazität des Laufmittels vergrößert, und somit wurden die Retentionszeiten der Analyten konstant gehalten.

6 Schlussbetrachtung

Die analytische Bestimmung der polaren Nitroaromaten ist wegen ihrer umwelttoxischen Wirkung bei der Sanierung von ehemaligen Rüstungsproduktionsstätte von großem Interesse. Die entwickelte HPLC-Methode ermöglicht das Monitoring der polaren Nitroaromaten an Rüstungsaltsstandorten sowie die analytische Begleitung von Prozessuntersuchungen zur Altlastenerkundung bis zu Konzentrationen von 3–13 µg/l ohne Aufkonzentrierung mittels der Ionensuppressionchromatographie und laborüblicher Detektoren. Durch Einsatz eines geeigneten Trägermaterials kann eine aufwändige Probenvorbereitung zur Abtrennung der begleitenden störenden unpolaren Nitroaromaten entfallen.

Dank

Die hier vorgestellte Arbeit wurde am Dresdner Grundwasserforschungszentrum e. V. durchgeführt und im Rahmen des Forschungs- und Entwicklungsvorhabens „Überprüfung von Selbstreinigungspotentialen in STV-kontaminierten Grundwasserleitern insbesondere unter Berücksichtigung von Milieubedingungen am Standortbeispiel Torgau/Elsnig“ (FKZ: 0330509) vom Bundesministerium für Bildung und Forschung finanziert. Prof. Dr. Günter J. Eppert (Berlin) und Dr. Neumann danken wir für ihre freundliche Unterstützung bei der Fertigstellung dieses Artikels.

Literatur

- [1] Umweltbundesamt (Hrsg.): *Leitfaden Biologische Verfahren zur Bodensanierung*, PT AWAS, FKZ: 1491064, 2001
- [2] Petersmann, M.: *Untersuchung von Wasserproben aus dem Bereich einer Rüstungsaltslast auf polare aromatische Amine mit Hilfe der HPLC nach Extraktion an Festphasen*, GWV-Verlag, Band 112, Dissertation, Marburg, 1996
- [3] Drews, F.: *Untersuchung polarer Nitroaromaten aus dem Bereich einer Rüstungsaltslast*, GWV-Verlag, Band 54, Dissertation, Marburg, 1995
- [4] Schmidt, T. C., Steinbach, K. u. Buetehorn, U.: Nitroaromatics, Environmental Analysis of, in: R. A. Meyers (Hrsg.), *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, S. 2946–2966, Wiley, 2000
- [5] Bruns-Nagel, D., Steinbach, K., Gemsa, D., von Löw, E.: Composting (Humification) of Nitroaromatic Compounds, in: J. C. Spain et al. (Hrsg.), *Biodegradation of nitroaromatic compounds and explosives*, CRC Press, S. 357–393, Boca Raton, 2000
- [6] Spain, J.: Bacterial Degradation of Nitroaromatic Compounds under aerobic conditions, in J. C. Spain (Hrsg.), *Biodegradation of Nitroaromatic Compounds*, Plenum Press, New York, 1995
- [7] Haas, R., Kreysig, D., Möschwitzer, G.: Photolytischer Abbau von Explosivstoffen in ausgewählten Wasserproben, *gwf Wasser, Abwasser* 1996, 137, Nr. 8, S. 418–421
- [8] Rosenblatt, D. H., Burrows, E. P., Mitchell, W. R., Parmer, D. L.: Organic Explosives and Related Compounds, in O. Hutzinger (Hrsg.), *The Handbook of Environmental Chemistry 3 (G)*, S. 195–234, Springer, Berlin, 1991
- [9] Dillert, R., Brandt, M., Fornefett, I., et al.: Photocatalytic Degradation of Trinitrotoluene and other Nitroaromatic compounds, *Chemosphere* 1995, 30, Nr. 12, 2333–2341
- [10] Rippen, G.: *Handbuch Umweltchemikalien, Stoffdaten – Prüfverfahren – Vorschriften*, Loseblattsammlung, 24. Ausgabe, eco-med, Landsberg/Lech, 1994
- [11] Böhme, C., Schmidt, T. C., von Löw, E., Stork, G.: Solid-phase extraction of aminobenzoic acids and aminotoluenesulfonic acids with graphitized carbon black, *Fresenius J. Anal. Chem* 1998, 360, 805–807
- [12] Godejohann M., Preiß, A., Levsen, K., Wollin, K.-M., Mügge, C.: Determination of Polar Organic Pollutants in Aqueous Samples of Former Ammunition Sites in Lower Saxony by Means of HPLC/Photodiode Array Detection (HPLC/PDA) and Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (¹H-NMR), *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 1998, 26, Nr. 6, 330–337
- [13] Schmidt, T. C., Steinbach, K., von Löw, E., Stork, G.: Highly Polar Metabolites of Nitroaromatic Compounds in Ammunition Wastewater, *Chemosphere* 1998, 37, Nr. 6, 1079–1090
- [14] Bruns-Nagel, D., Schmidt, T. C., Drzyzga, O., von Löw, E., Steinbach, K.: Identification of Oxidized TNT Metabolites in Soil Samples of a Former Ammunition Plant, *Environ. Sci. & Pollut. Res.* 1999, 6, Nr. 1, 7–10
- [15] Couch, D. B., Abernethy, D. J., Allen, P. F.: The effect of biotransformation of 2,4-dinitrotoluene on its mutagenic potential, *Mutagenesis* 1987, 2, 415–418
- [16] Voß, J.-U., Schneider, K.: *Toxikologische Bewertung von Sulfonsäure- und Benzoesäure-Derivaten von nitroaromatischen Sprengstoffverbindungen*, FoBiG-Bericht, Freiburg, 1998
- [17] Schmidt, T. C., Leß, M., Haas, R., v. Löw, E., Steinbach, K.: Determination of Aromatic Amines in Ground and Waste Water by Two New Derivatization Methods, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 1999, 74, Nr. 1–4, 25–41
- [18] Schmidt, T. C., Leß, M., Haas, R., v. Löw, E., Steinbach, K., Stork, G.: Gas Chromatographic Determination of Aromatic Amines in Water Samples after Solid-Phase Extraction and Derivatization with Iodine, *J. Chromatogr. A* 1998, 810, 161–172
- [19] Haas, R., Schmidt, T. C., Steinbach, K., von Löw, E.: Derivatization of Aromatic Amines for Analysis in Ammunition Wastewater, *Fresenius J. Anal. Chem.* 1997, 356, 497–501
- [20] Piangerelli, V., Nerini, F., Cavalli, S.: Determination of Aromatic Amines and Phenols in Environmental Samples by SPE Elution and HPLC with Amperometric Detection, *Annali di Chimica* 1997, 87, 571–582
- [21] Preiß, A., Lewin, L., Wennrich, L., Findeisen, M., Efer, J.: Analysis of nitrophenols and other polar nitroaromatic compounds in ammunition wastewater by high-field proton nuclear

magnetic resonance ($^1\text{H-NMR}$) spectroscopy and chromatographic methods, *Fresenius J. Anal. Chem.* **1997**, 375, 676–683

[22] Godejohann, M., Preiß, A., Levsen, K., Wünsch, G.: Determination of Nitrophenols, Nitrobenzoic Acids and Polar Explosives by HPLC-Dioden Array Detection in Ground Water Samples of Former Ammunition Plants, *Chromatographia* **1996**, 43, Nr. 11/12, 612–618

[23] Schmidt, T. C., Petersmann, M., Kaminski, L., v. Löw, E., Stork, G.: Analysis of Aminobenzoic Acids in Waste Water from a Former Ammunition Plant with HPLC and Combined Diode Array and Fluorescence Detection, *Fresenius J. Anal. Chem.* **1997**, 357, 121–126

[24] Schullerer, S., Brauch, H.-J., Frimmel, F.: Determination of Aromatic Sulfonic Acides in Water by Ion-Pair-Chromatography, *Vom Wasser* **75**, 83–97, **1990**

[25] Altenbach, B., Giger, W.: Determination of Benzene- and Naphthalenesulfonates in Wastewater by Solid-Phase Extraction with Graphitized Carbon Black and Ion-Pair Liquid Chromatography with UV Detection, *Anal. Chem.* **1995**, 67, 2325–2333

[26] Godejohann, M., Preiß, A.: Application of On-Line HPLC- $^1\text{H NMR}$ to Environmental Samples: Analysis of Groundwater near Former Ammunition Plants, *Anal. Chem.* **1997**, 69, 3832–3837

[27] Godejohann, M., Astratov, M., Preiß, A., Levsen, K.: Application of Continuous-Flow HPLC-Proton-Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and HPLC-Thermospray-Mass Spectroscopy for the Structural Elucidation of Phototransformation Products of 2,4,6-Trinitrotoluene, *Anal. Chem.* **1998**, 70, 4104–4110

[28] Levsen, K., Mussmann, P., Preiss, A., Volmer, D. A.: Analysis of Nitroaromatics and Nitramines in Ammunition Waste Water and in Aqueous Samples from former Ammunition Plants and other Military Sites, *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* **1993**, 3, 153–165

[29] Eppert, G. J.: *Flüssigchromatographie*, Vieweg, Braunschweig/Wiesbaden, **1997**