

Bestimmung von Carbonsäuren aus wäßriger Lösung mittels Kapillar-Gas-Chromatographie

R. Gloor / H. Leidner

Eidg. Anstalt für Wasserversorgung, Abwasserreinigung und Gewässerschutz (EAWAG), CH-8600 Dübendorf – Zürich, Schweiz

Summary

• Determination of Carboxylic Acids in Aqueous Solution by Capillary Gas Chromatography

A method is presented for the determination of carboxylic acids at low concentrations (ppb-range, C_1 – C_{24} carboxylic acids) in aqueous solution by capillary gas chromatography. Practical examples are given by the analysis of a phenyl-carboxylic acid mixture and samples of waste water and digested sludge water.

Zusammenfassung

Es wird eine Vorschrift für die Bestimmung niedriger Carbonsäurekonzentration (ppb*-Bereich, C_1 – C_{24} Carbonsäuren) aus wäßrigem Milieu mittels Kapillar-Gas-Chromatographie gegeben. Die praktische Anwendung wird an einer Phenylcarbonsäuremischung, einer Abwasser- und Faulschlammwasserprobe gezeigt.

1. Einleitung

Die gas-chromatographische Bestimmung organischer Säuren aus wäßriger Lösung läßt sich je nach Fragestellung und Säurenspektrum auf verschiedene Arten durchführen:

- a) Direkte Applikation der wäßrigen Lösung [1, 2].
- b) Isolieren der Säuren aus der wäßrigen Lösung, Herstellung flüchtiger Derivate und anschließende gas-chromatographische Analyse.

Krupčik et al. [3] beschreiben zwar die direkte kapillar-gas-chromatographische Analyse der C_2 – C_6 -Säuren und ihrer Isomeren (Säule: Ucon-LB-550-X + Phosphorsäure), jedoch ist unseres Wissens bis jetzt die Anwendung wäßriger Lösungen nur auf gepackten Säulen möglich und auf die Bestimmung der niedermolekularen Glieder dieser Verbindungsklasse von C_1 bis C_6 beschränkt.

Um ein breiteres Carbonsäurenspektrum erfassen zu können und die Vorteile der Kapillar-Gas-Chromatographie

(hohe Auflösung, größere Empfindlichkeit [4]) auszunutzen, ist eine Überführung in leichtflüchtige Derivate – im allgemeinen Ester – notwendig. Die klassischen Veresterungsmethoden mit überschüssigem Alkohol und einer Säure (HCl, H_2SO_4 , BF_3) als Katalysator [4, 5] sind im Mikromaßstab schwierig durchzuführen und ohne weitere Aufbereitung für anschließende Kapillar-Gas-Chromatographie auch ungeeignet.

Huwyler [7] beschreibt eine Veresterungsmethode, nach der ng-Mengen Carbonsäure mit Diazomethan in ihre Methylester überführt werden können. Gemäß Angaben ist dieses Verfahren jedoch nur für die Veresterung der Carbonsäuren C_6 – C_{12} geeignet.

Ebenfalls für die gas-chromatographische Analyse geeignete Carbonsäurederivate sind die Trimethylsilylester, besonders wenn eine massenspektrometrische Identifikation erforderlich ist. Da das Silylierungsreagenz jedoch nicht selektiv mit der Carboxylgruppe reagiert (Hydroxylgruppen werden miterfaßt), ist meist eine Vortrennung notwendig [8]. Außerdem sind die Trimethylsilylester extrem feuchtigkeitsempfindlich, was ihre Handhabung zusätzlich erschwert.

Gehrke und Goerlitz [9] beschreiben ein einfaches Verfahren für die Bestimmung von Fettsäuren in biologischem Material. Dabei werden die Fettsäuren über die Silbersalze mit Alkylhalogenid in ihre Ester überführt.

Wir entschieden uns aus folgenden Gründen für diese Methode und entwickelten sie für die Anwendung im μ g-Bereich:

1. Das Trocknen der Probe geschieht verlustlos über die Silbersalze der Säuren.
2. Die Veresterung kann in Pentan durchgeführt werden (ideales Lösungsmittel für die Kapillar-Gas-Chromatographie).
3. Die Carboxylgruppen werden selektiv erfaßt.

Die analytische Zuverlässigkeit der Methode prüften wir an den C_1 – C_{24} -Carbonsäuren.

2. Methoden

Arbeitsvorschrift

5 cm³ wäßrige Probe werden in einem 100 cm³ Rundkolben (mit Sovirelverschluß) mit 1 n KOH auf pH = 10–11 eingestellt. Anschließend werden mit 1 m $AgNO_3$ -Lösung ($AgNO_3$ p.a., Merck) die Silbersalze der Carbonsäuren ausgefällt und ein Überschuß $AgNO_3$ -Lösung bis

* 1 ppb = 1 μ g in 1 dm³

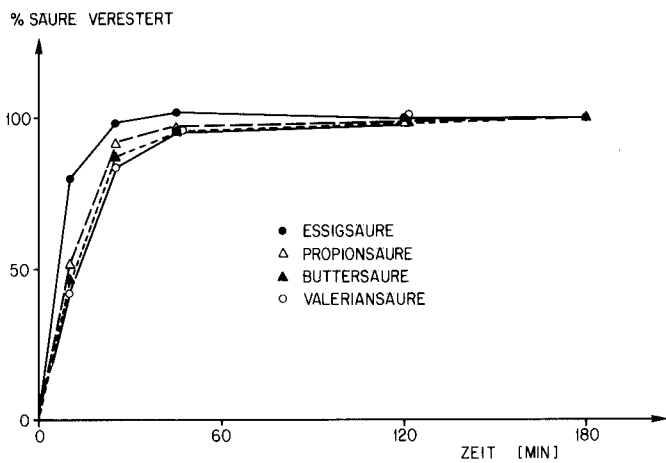


Fig. 1

- Kinetik der Veresterungsreaktion von Carbonsäuresilbersalzen mit Äthyljodid.
- Kinetics of esterification with ethyl iodide of silver salts of carboxylic acids.

zu einer freien Ag^+ -Konzentration von 10^{-3} bis 10^{-2} Mol/dm³ zugefügt. Dieser Wert wurde empirisch ermittelt und kann mittels Potentialmessung (Silber gegen Kalomel + 410 mV) reproduzierbar eingestellt werden. Gemäß experimentellen Befunden muß der Ag^+ -Endkonzentration sorgfältige Beachtung zukommen, da bei geringerer Ag^+ -Konzentration die Veresterung im nachfolgenden Schritt unvollständig verläuft, während höhere Ag^+ -Konzentrationen vermehrt zu Nebenreaktionen führen. Nach Zugabe von etwas geglühtem Quarzsand (Rührhilfe bei der Veresterungsreaktion) wird gefriergetrocknet oder am Rotationsverdampfer zur Trockene eingedunstet. Der Gefrier-trocknung ist jedoch der Vorzug zu geben, da bei diesem Verfahren eine Krustenbildung vermieden wird.

Der Trockenrückstand wird zur Veresterung mit 2,5 cm³ Pentan – enthaltend 5 ppm n-Tridecan als internen Standard – und 5–10 mm³ Äthyljodid (Äthyljodid puriss. p.a. Fluka, 2mal destilliert) in dicht verschlossenem Kolben während 3 Stunden im Dunkeln bei $\sim 10^\circ\text{C}$ kräftig geschüttelt (Proben ständig im Dunkeln aufbewahren). Die Pentanlösung kann direkt gas-chromatographisch analysiert werden.

Kinetische Untersuchungen der Veresterungsgeschwindigkeit von Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure und Valeriansäure (Fig. 1) ergaben, daß für diese Komponenten bereits nach 60 Minuten Kontaktzeit der Endwert erreicht ist. Für Proben unbekannter Zusammensetzung sollten jedoch aus Sicherheitsgründen 3 Stunden Reaktionsdauer eingehalten werden.

Aus praktischen Gründen sowie analytischen Überlegungen (Beschränkung von Störeinflüssen auf ein Minimum, z. B. von Fremdsalz) gelten 5–20 cm³ Proben-volumen als geeignet. Für die präparative und analytische Weiterverarbeitung der gefriergetrockneten Probe sollten wenigstens 1–10 µg je Säurekomponente vorliegen. Das bedeutet, daß Proben mit einer Säurekonzentration

von 0,1 ppm direkt gemäß Vorschrift verarbeitet werden können, bei geringeren Konzentrationen jedoch eine Anreicherung erforderlich ist.

Gas-Chromatographie

Die gas-chromatographischen Analysen wurden mit einem Fractovap Mod. GJ (Fa. Carlo Erba, Mailand) mit Injektor-teil nach Grob [4] und FI-Detektor auf Glaskapillarsäulen (Bezugsquelle H. und G. Jaeggi, CH-9043 Trogen) durchgeführt.

Als geeignete Trennkapillaren erwiesen sich eine Ucon-HB 5100-Säule (50 m, 0,31 mm i-Ø) für die C₁–C₁₃-Carbonsäure-Äthylester (Fig. 2) und eine weniger polare, höher heizbare SE 54-Säule (20 m, 0,38 mm i-Ø) für die C₄–C₂₄-Carbonsäure-Äthylester (Fig. 3).

Die Identifikation der Peaks wurde mit Reinsubstanzen und Massenspektrometrie durchgeführt, und die Auswertung der Chromatogramme erfolgte mit einem elektronischen Integrator (Mod. CRS 100 A, Infotronics).

Wiederholbarkeit und Richtigkeit der Methode

Von einer wäßrigen Stammlösung folgender Carbonsäuren: Essigsäure (19.6 ppm), Propionsäure (20.8 ppm), Isobuttersäure (17.0 ppm), Buttersäure (22.0 ppm), 2-Methylbuttersäure (22.2 ppm), Valeriansäure (16.4 ppm) wurden in 4 Versuchsansätzen je 5 cm³ nach der oben gegebenen Veresterungsvorschrift verarbeitet und mittels Gas-Chromatographie quantitativ [11] bestimmt (Tab. I). Die aus den 4 Versuchen erhaltenen Werte weisen eine gute Übereinstimmung auf, und ihr Mittelwert liegt im Vergleich mit dem theoretischen Wert durchaus im Rahmen der mittels Gas-Chromatographie erreichbaren Richtigkeit.

3. Praktische Anwendung

a) Kommunales Abwasser

Aufgrund von Voruntersuchungen und Literaturangaben [12, 13] sind die Carbonsäuren in häuslichem Abwasser im Bereich von wenigen ppb* bis zu einigen ppm zu erwarten. Um auch die Glieder mit geringer Konzentration erfassen zu können, ist zunächst eine Anreicherung erforderlich.

250 cm³ eines kommunalen, mechanisch vorgeklärten Abwassers (Stadt Zürich) werden nach Zentrifugation (30000 g/15 min) und Filtration über ein Membranfilter (0,45 µm Porenweite) mit KOH bis pH 11 versetzt und nach 30 Minuten Kochen am Rückfluß gefriergetrocknet. Nach Extraktion des Trockenrückstandes mit Methylchlorid (Entfernung störender Begleitstoffe) werden die Carbonsäuren unter Eiskühlung mit salzsaurem Äther vom anorganischen Rückstand abgetrennt, durch Zugabe von KOH in wäßrige Phase übergeführt und nach Vorschrift verestert (Fig. 4a, 4b und Tab. II). Gemäß Untersuchungen zur Wiederholbarkeit (5 Versuche) des für Abwasser beschriebenen Aufbereitungsverfahrens ergab sich bei folgenden geprüften Säuren (Ameisen-, Essig-, Propion-,

* 1 ppb = 1 µg in 1 dm³

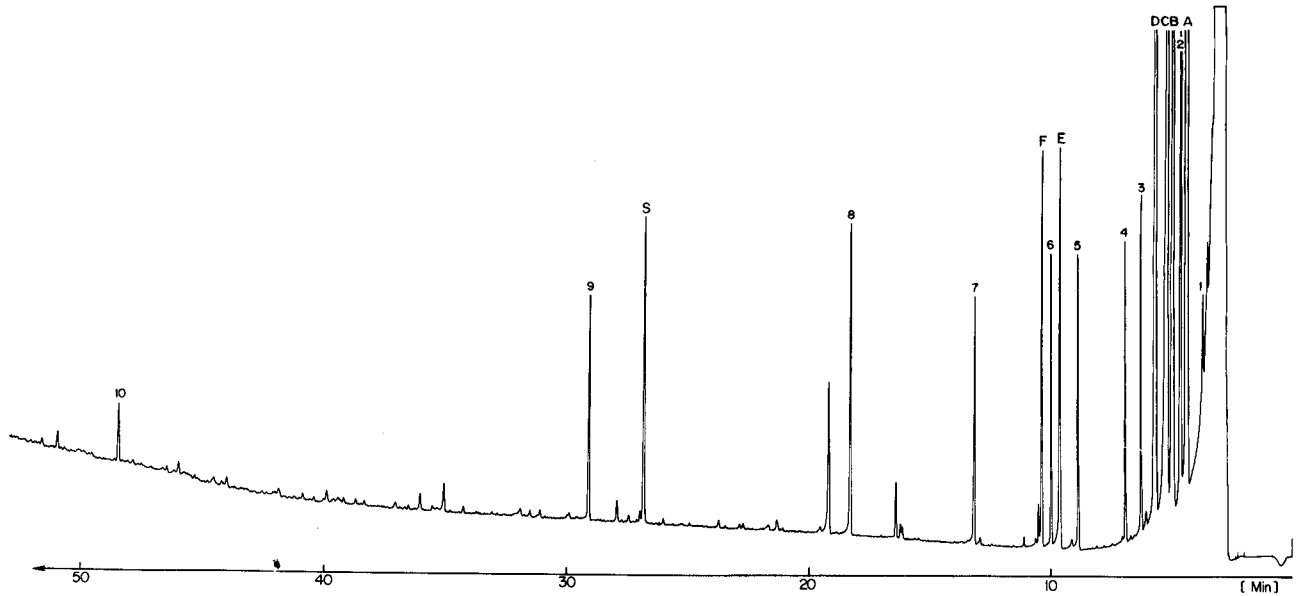


Fig. 2

- Gas-Chromatogramm eines mit Äthyljodid veresterten Standardsäuregemischs (5–50 μg je Säure verestert):
 (1) Ameisen-, (2) Essig-, (3) Propion-, (4) Isobutter-, (5) Butter-, (6) 2-Methylbutter-, (7) Valerian-, (8) Capron-, (9) Capryl-, (10) Laurinsäure; S = interner Standard, n-Tridecan.
 Säule Ucon HB 5100, 50 m \times 0.31 mm i- ϕ , Injektion: 0.5 mm³ splitlos/10 s, Temp.-Progr.: 30–180 °C, 3 °C min⁻¹, FID, Trägergas H₂, 3 cm³ min⁻¹. A–D Blindpeaks aus Reagenz und Nebenreaktionen (A = Äthyljodid, B = Äthanol).
- Gas chromatogram of carboxylic acids esterified with ethyl iodide (5–50 μg per acid esterified):
 (1) formic, (2) acetic, (3) propionic, (4) isobutyric, (5) butyric, (6) 2-methylbutyric, (7) valeric, (8) capronic, (9) caprylic, (10) lauric acid. S = internal standard, n-tridecane.
 Column Ucon HB 5100, 50 m \times 0.31 m id, injection: 0.5 mm³ splitless/10 s, temp. program: 30–180 °C, 3 °C min⁻¹, FI-detector, carrier gas H₂, 3 cm³ min⁻¹. A–D = blanks of reagent and products of side reactions (A = ethyl iodide, B = ethanol).

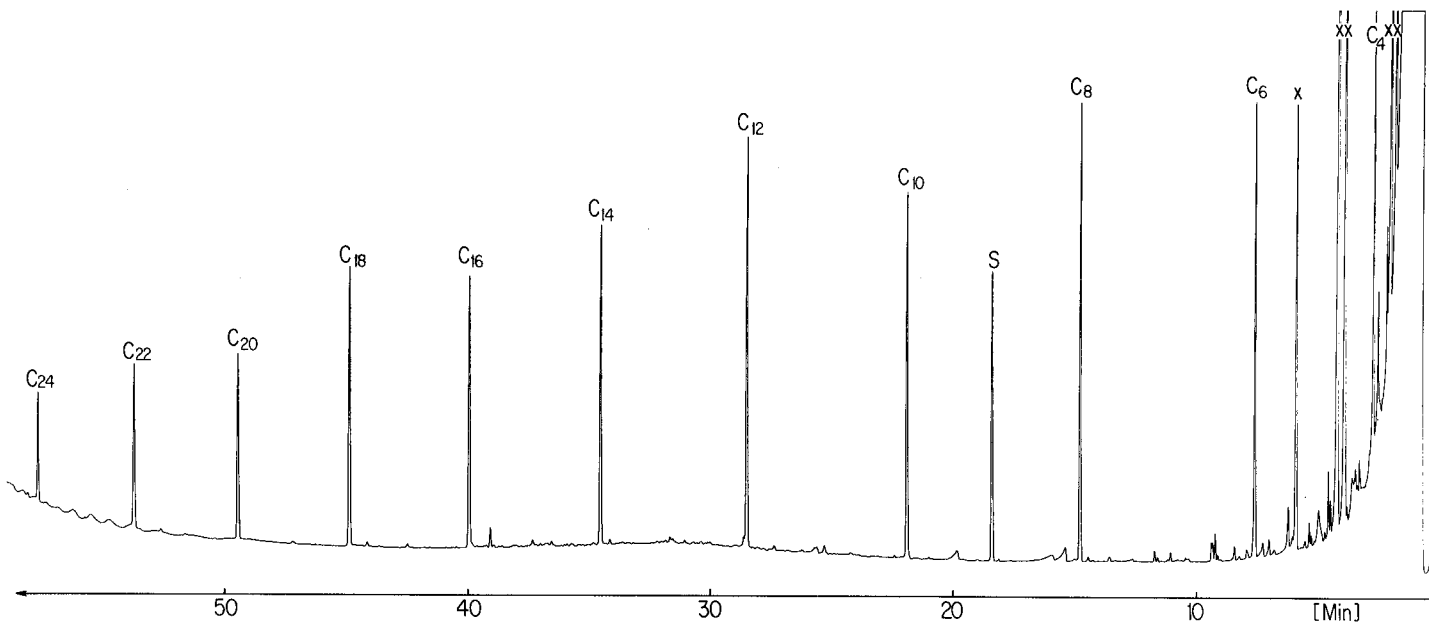


Fig. 3

- Gas-Chromatogramm eines mit Äthyljodid veresterten Standardgemischs der n-Monocarbonsäuren mit gerader C-Zahl zwischen C₄–C₂₄ (10–50 μg je Säure verestert):
 Säule SE 54, 20 m \times 0.38 mm i- ϕ , Injektion: 1 mm³ splitlos/30 s, Temp.-Progr.: 30–230 °C, 4 °C min⁻¹, FID, Trägergas H₂, 4.5 cm³ min⁻¹, x = Blindpeaks aus Reagenz und Nebenreaktionen, S = interner Standard, n-Tridecan.
- Gas chromatogram of even numbered (C₄–C₂₄) n-monocarboxylic acids esterified with ethyl iodide (10–50 μg per acid esterified):
 Column SE 54, 20 m \times 0.38 mm id, injection: 1 mm³ splitless/30 s, temp. program: 30–230 °C, 4 °C min⁻¹, FI-detector, carrier gas H₂, 4.5 cm³ min⁻¹, x = blanks of reagent and products of side reactions, S = internal standard, n-tridecane.

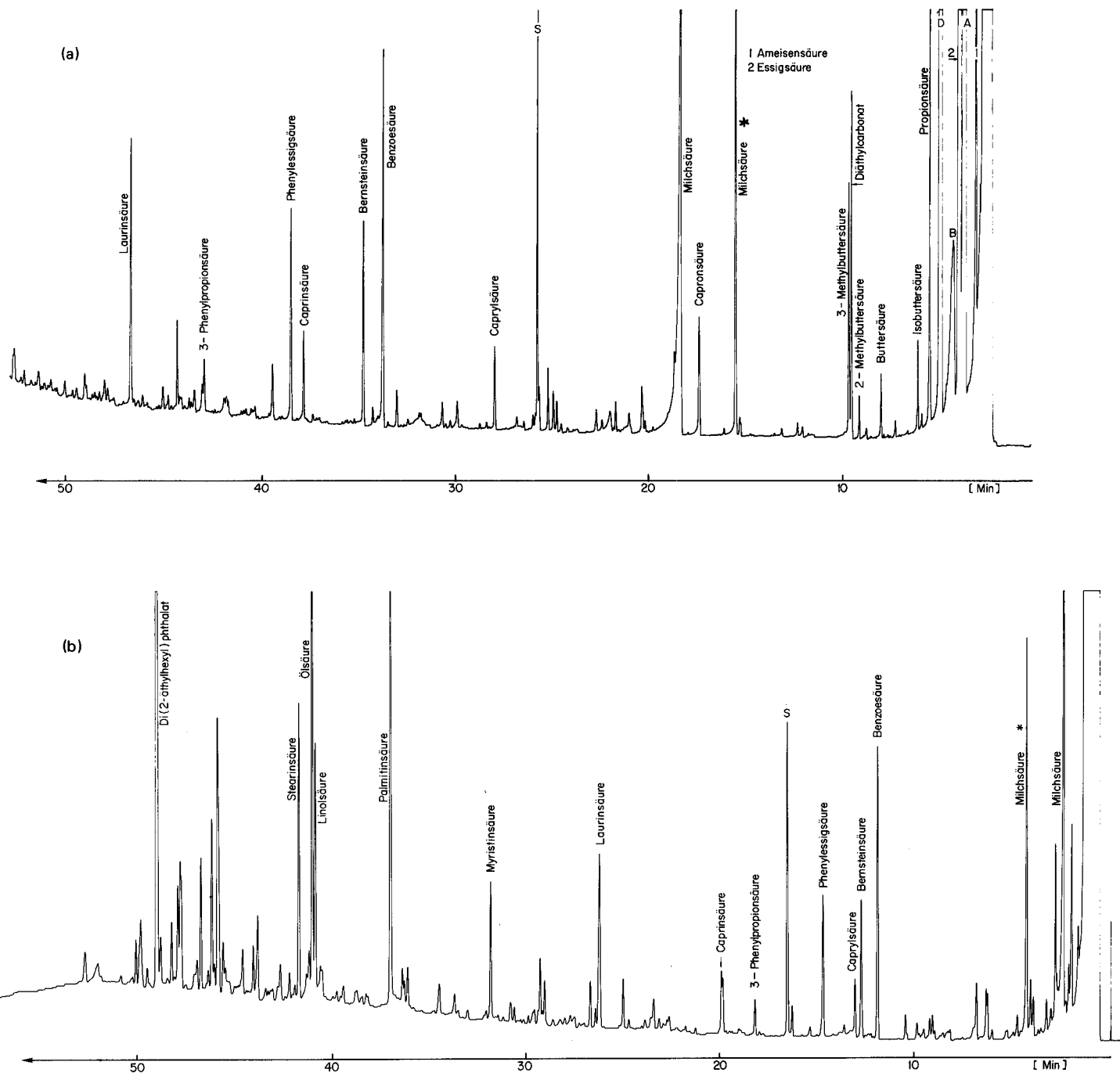


Fig. 4

● Gas-Chromatogramme der Carbonsäureäthylester einer kommunalen Abwasserprobe (mechanisch vorgeklärtes Abwasser der ARA Werdhölzli der Stadt Zürich).

(a) auf einer Ucon HB 5100-Säule, 50 m × 0.31 mm i-Ø, Injektion: 0.5 mm³ splitlos/10 s, FID, Temp.-Progr.: 30–180 °C, 3 °C min⁻¹, Trägergas H₂, 3 cm³ min⁻¹, S = interner Standard, n-Tridecan. A, B, D = Blindpeaks aus Reagenz und Nebenreaktionen (A = Äthyljodid, B = Äthanol). Diäthylcarbonat infolge Reaktion des Äthyljodids mit Kohlensäure.

(b) auf einer SE 54-Säule, 20 m × 0.38 mm i-Ø, Injektion: 1 mm³ splitlos/30 s, FID, Temp.-Progr.: 30–230 °C, 4 °C min⁻¹, Trägergas H₂, 4.5 cm³ min⁻¹, S = interner Standard, n-Tridecan. Nicht beschriftete Peaks sind nicht identifiziert. Milchsäure* = α-Äthoxy-äthylpropionat.

● Gas chromatogram of ethyl esters of carboxylic acids in settled sewage (sewage treatment plant Werdhölzli, City of Zürich).

(a) Column Ucon HB 5100, 50 m × 0.31 mm id, injection: 0.5 mm³ splitless/10 s, FI-detector, temp. program: 30–180 °C, 3 °C min⁻¹, carrier gas H₂, 3 cm³ min⁻¹, S = internal standard, n-tridecane. A, B, D = blanks of reagent and products of side reactions (A = ethyl iodide, B = ethanol). Diethyl carbonate by reaction of ethyl iodide with carbonic acid.

(b) Column SE 54, 20 m × 0.38 mm id, injection: 1 mm³ splitless/30 s, FI-detector, temp. program: 30–230 °C, 4 °C min⁻¹, carrier gas H₂, 4.5 cm³ min⁻¹, S = internal standard, n-tridecane. Unnamed peaks not identified. Milchsäure* = α-ethoxy ethyl propionate.

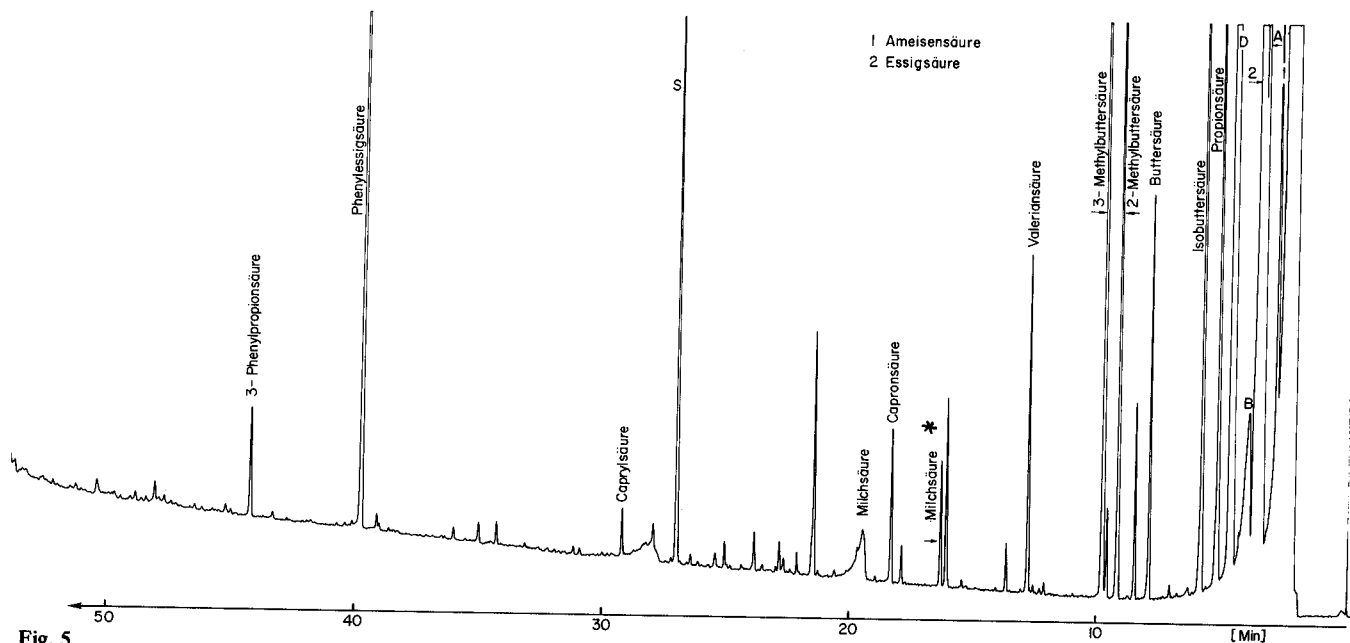


Fig. 5

- Gas-Chromatogramm der Carbonsäureäthylester eines Faulschlammwassers (aus Faulturm der ARA Opfikon, Zürich). Ucon HB 5100-Säule, 50 m × 0.31 mm i-φ, Injektion: 0.5 mm³ splitlos/10 s, FID, Temp.-Progr.: 30–180 °C, 3 °C min⁻¹, Trägergas H₂, 3 cm³ min⁻¹, A–F = Blindpeaks aus Reagenz und Nebenreaktionen, S = interner Standard, n-Tridecan. Nicht beschriftete Peaks sind nicht identifiziert. Milchsäure* = α-Äthoxy-äthylpropionat (s. Beispiel „a“).
- Gas chromatogram of ethyl esters of carboxylic acids in the filtrate of digested sludge (sewage treatment plant Opfikon, Zürich). Column Ucon HB 5100, 50 m × 0.31 mm id, injection: 0.5 mm³ splitless/10 s, FI-detector, temp. program: 30–180 °C, 3 °C min⁻¹, carrier gas H₂, 3 cm³ min⁻¹. A–F = blanks of reagent and side reactions, S = internal standard, n-tridecane. Unnamed peaks not identified. Milchsäure* = α-ethoxy ethyl propionate (cf. example “a”).

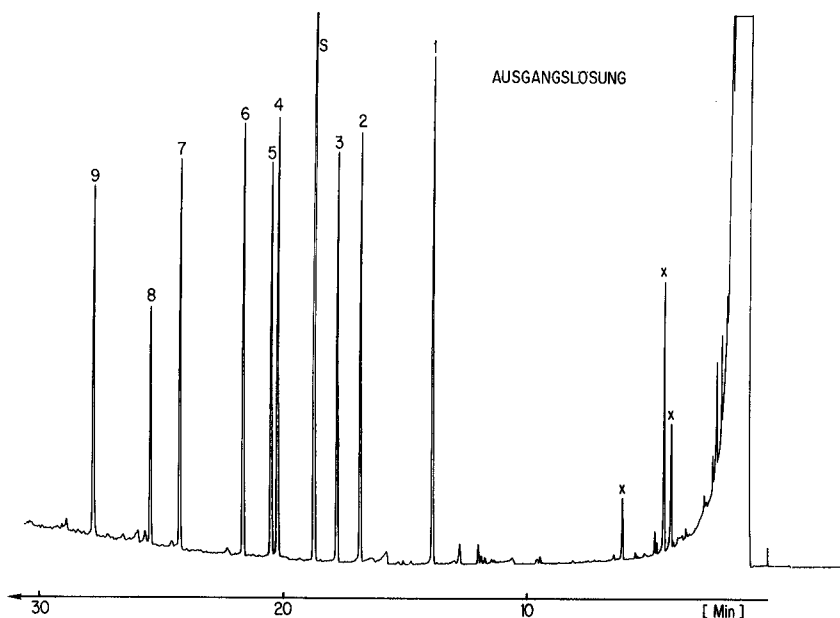


Fig. 6

- Gas-Chromatogramm einer mit Äthyljodid veresterten Phenylcarbonsäuremischung (0.25–0.75 µg je Säure verestert): (1) Benzoe-, (2) Phenyllessig-, (3) 2-Phenylpropion-, (4) 2-Phenylbutter-, (5) 3-Phenylpropion-, (6) 3-Phenylbutter-, (7) 4-Phenylbutter-, (8) 4-Phenylvalerian-, (9) 5-Phenylvaleriansäure. Säule SE 54, 20 m × 0.38 mm i-φ, Injektion: 1.5 mm³ splitlos/30 s, Temp.-Progr.: 30–150 °C, 4 °C min⁻¹, FID, Trägergas H₂, 4.5 cm³ min⁻¹. S = interner Standard, n-Tridecan, x = Blindpeaks aus Reagenz und Nebenreaktionen.
- Gas chromatogram of phenyl carboxylic acids esterified with ethyl iodide (2.5 to 7.5 µg per acid esterified): (1) benzoic, (2) phenyl acetic, (3) 2-phenyl propionic, (4) 2-phenyl butyric, (5) 3-phenyl propionic, (6) 3-phenyl butyric, (7) 4-phenyl butyric, (8) 4-phenyl valeric, (9) 5-phenyl valeric acid. Column SE 54, 20 m × 0.38 mm id, injection: 1.5 mm³ splitless/30 s, temp. program: 30–150 °C, 4 °C min⁻¹, FI-detector, carrier gas H₂, 4.5 cm³ min⁻¹, S = internal standard, n-tridecane, x = blanks of reagent and products of side reactions.

Tabelle I. Wiederholbarkeit und Richtigkeit der Veresterungsmethode (Prüfung an einem Standardsäuregemisch)

Versuchs-Nr.	μg Säure gefunden					μg Säure theoretisch
	1	2	3	4	MW	
Essigsäure	103	102	99	102	102	98
Propionsäure	110	108	106	105	107	104
Isobuttersäure	93	95	95	92	94	85
Buttersäure	115	113	113	112	113	110
2-Methylbuttersäure	103	107	107	105	106	111
Valeriansäure	82	81	82	80	81	82

Tabelle II. Carbon-Säuren im Abwasser der Stadt Zürich (Schöpfprobe vom 25.5.1976)

Säure	$\mu\text{g}/\text{dm}^3$	Säure	$\mu\text{g}/\text{dm}^3$
Ameisensäure	538	Benzoesäure	170
Essigsäure	4490	Bernsteinsäure	79
Propionsäure	230	Caprinsäure	34
Isobuttersäure	29	Phenyllessigsäure	91
Buttersäure	24	2-Phenylpropionsäure	21
2-Methylvaleriansäure	20	Laurinsäure	110
3-Methylvaleriansäure	109	Myristinsäure	91
Valeriansäure	—	Palmitinsäure	354
Milchsäure	839	Linolsäure	174
		Ölsäure	432
Capronsäure	62	Stearinsäure	188
Caprylsäure	36		

Tabelle III. Carbonsäuren im Faulschlammfiltrat

Säure	mg/dm^3
Phenyllessigsäure	7,9
2-Phenylpropionsäure	0,9
Ameisensäure	11,5
Essigsäure	73,3
Propionsäure	16,6
Isobuttersäure	15,3
Buttersäure	2,3
2-Methylbuttersäure	9,1
3-Methylbuttersäure	12,7
Valeriansäure	2,0
Milchsäure	2,1
Capronsäure	1,0
Caprylsäure	0,4

Butter-, Capron-, Capryl-, Benzoe- und Laurinsäure) eine relative Standardabweichung von 15–20 %. Der Variationskoeffizient für Milchsäure und Bernsteinsäure betrug hingegen ~ 50 %. Die große Streuung der Werte für diese beiden Säuren erklären wir mit der unvollständigen Bildung der entsprechenden Silbersalze im alkalischen Milieu. Als gas-chromatographische Information erhält man für Milchsäure zwei Signale, da die Reaktion des Äthyljodids mit ihrem Silbersalz sowohl zum Ester (im Chromatogramm mit Milchsäure bezeichnet) als auch unter gleichzeitiger Reaktion mit der Hydroxylgruppe zum α -Äthoxy-äthylpropionat (im Chromatogramm als Milchsäure* bezeichnet) führen kann. Für die Peakgruppe zwischen Stearinsäure und Di-(2-äthylhexyl)phthalat weisen massenspektroskopische Untersuchungen auf Steroide hin. Die Anwesenheit von Di-(2-äthylhexyl)phthalat (einem Weichmacher für synthetische Polymere) überrascht nicht

und ist sicher auf die verbreitete Verwendung von Plastikmaterial in Haushalt, Labor und Industrie zurückzuführen. Alkylphthalate wurden bereits schon von *Grob* [16] sowohl in Trink(!)-, Oberflächen- und kontaminiertem Grundwasser nachgewiesen.

b) Faulschlamm-Filtrat

Fig. 5 zeigt das Gas-Chromatogramm eines Faulschlammfiltrates (aus Faulturn der ARA Opfikon, ZH) von welchem 10 cm^3 gemäß dem für kommunales Abwasser beschriebenen Vorgehen aufgearbeitet wurden.

Dominant ist Essigsäure mit $73 \text{ mg}/\text{dm}^3$. Ameisen-, Propion-, Isobutter-, Butter-, 2-Methylbutter-, 3-Methylbutter-, Valerian-, Milch- und Phenyllessigsäure liegen im Bereich von 2–16 ppm. Capron-, Capryl- und 2-Phenylpropionsäure wurden in Konzentrationen zwischen 0,4 und 1 ppm nachgewiesen (Tab. III).

c) Phenylcarbonsäuren

Eine weitere Anwendung fand die Methode im Rahmen abbaukinetischer Untersuchungen [14] an Phenylcarbonsäuren unter den Bedingungen des OECD-Screening-Tests [15]. Fig. 6 zeigt das Gas-chromatogramm des Testsubstrates bei Versuchsbeginn.

Dank

Herrn Dr. K. Banholzer, Chef der Abteilung „Organische Chemie und Schmiermittel“, EMPA, Dübendorf, danken wir für das zur Verfügung gestellte Massenspektrometer und Herrn Dr. J. S. Dolezal und Frl. E. Guyer für die Massenspektrometrischen Untersuchungen.

Literatur

- [1] A. Ziiolecki, E. Kwiatkoska, J. Chromatog. 80, 250 (1973).
- [2] D. M. Ottenstein, D. A. Bartley, Analyt. Chem. 43, 952 (1971).
- [3] J. Krupčík, J. Hrivňák, J. Janák, J. Chromatogr. Sci. 14, 4 (1976).
- [4] K. Grob, G. Grob, Chromatographia 5, 3 (1972), ibd. 382 (1972).
- [5] H. Schuchmann, Kontakte 2/75, 34 (1975).
- [6] L. D. Metcalfe, A. A. Schmitz, R. J. Pelha, Analyt. Chem. 38, 514 (1966).
- [7] S. Huwlyer, Experientia 29, 735 (1973).
- [8] J. A. Thompson, S. P. Markey, Analyt. Chem. 47, 1313 (1975).
- [9] C. W. Gehrke, D. F. Goerlitz, Analyt. Chem. 35, 76 (1963).
- [10] J. P. Riley, D. Taylor, Anal. Chim. Acta 46, 307 (1969).
- [11] R. Kaiser, Chromatographie in der Gasphase. Band III, S. 133. Bibliographisches Institut, Mannheim (1961).
- [12] H. A. Painter, M. Viney, J. of Biochemical and Microbiological Technol. and Engin. 1, 143 (1959).
- [13] H. A. Painter, Chemistry and Industry 818 (1973).
- [14] Untersuchung Biolog. Abteilung EAWAG.
- [15] OECD: Pollution by detergents. Determination of the biodegradability of anionic synthetic surface active agents. Paris, 1971, S. 18.
- [16] K. Grob et al., J. Chromatogr. 106, 299 (1975).

Received: Sept. 1, 1976
Accepted: Sept. 17, 1976