

CHROM. 5766

NACHWEIS UND BESTIMMUNG VON 2,3,7,8-TETRACHLOR-DIBENZO-*p*-DIOXIN IN CHLORSUBSTITUIERTEN PHENOXYALKANSÄUREN

K. S. BRENNER, K. MÜLLER, P. SATTEL

Untersuchungslaboratorium der Badischen Anilin- und Soda-Fabrik AG,
67 Ludwigshafen/Rhein (B.R.D.)

(Eingegangen am 19. August 1971)

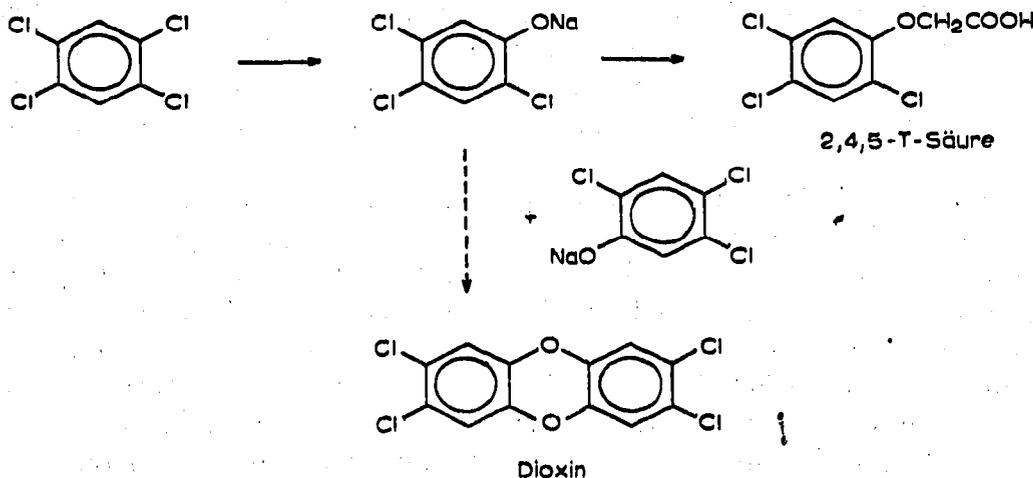
SUMMARY

Detection and determination of 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-p-dioxin in chloro-substituted phenoxyalkane acids

2,3,7,8-Tetrachloro-dibenzo-*p*-dioxin (Dioxin) may be separated from the herbicide phenoxyalkane acids by extractive distillation of the potassium salts with *n*-hexane in the BLEIDNER apparatus. The relatively specific detection and quantitative determination of dioxin in the hexane extracts is performed by gas chromatography using a 60-m stainless-steel capillary coated with [®]Dexsil 300.

EINLEITUNG

2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure (2,4,5-T-Säure) und andere chlorsubstituierte Phenoxyalkansäuren [z.B. 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D) und -propionsäure (2,4-DP), 2-Methyl-4-chlorphenoxypropionsäure (MCP), 2-Methyl-4-chlorphenoxyessigsäure (MCPA)] und deren Derivative (Salze, Ester) sind weit verbreitete Herbizide. Zur Herstellung der technischen 2,4,5-T-Säure dient 2,4,5-Trichlorphenol, das wiederum aus 1,2,4,5-Tetrachlorbenzol durch partielle Hydrolyse gewonnen wird. Bei dieser Reaktion kann 2,3,7,8-Tetrachlor-dibenzo-*p*-dioxin in Spuren als Nebenprodukt entstehen und in die 2,4,5-T-Säure in p.p.m.- und p.p.b.-Mengen eingeschleppt werden:



2,3,7,8-Tetrachlor-dibenzo-*p*-dioxin (TCDD, Dioxin) hat bereits in geringen Konzentrationen toxische Wirkungen, (es verursacht z.B. Chlorakne oder Leberschädigungen bei Kaninchen¹⁻⁴) und ist neben anderen Dioxinen ein Bestandteil des "chick edema"-Faktors, der bei Hühnern Hydropericardium erzeugt⁵.

Der Nachweis und die Bestimmung von Dioxin in 2,4,5-T-Säure und anderen chlorierten Phenoxyalkansäuren ist zu einem wichtigen Problem der Pestizidanalytik geworden. Die Dioxinbestimmung in diesen Säuren ist deswegen schwierig, da Dioxin höchstens in p.p.m.- oder p.p.b.-Mengen in den technischen Produkten anwesend ist und da andererseits die technischen Säuren eine Vielzahl anderer Verbindungen in diesen Konzentrationsbereichen enthalten können. Es kommt noch hinzu, dass technische Produkte verschiedener Provenienz auch wechselnde Verunreinigungen enthalten. Methoden zur Bestimmung von Dioxin in technischen Produkten müssen deshalb Anreicherungs- und Reinigungsschritte und eine möglichst spezifische Endbestimmung umfassen. Die bisher allgemein zugängliche Literatur befasst sich mit dem Nachweis und der Bestimmung des "chick edema"-Faktors, der aus Polychlor-dibenzo-*p*-dioxinen besteht⁶⁻¹⁰. Die Endbestimmung der Dioxine des "chick edema"-Faktors erfolgt durch Gas-Chromatographie (GC) mit ECD an gepackten Glassäulen mit Silicongummi auf Trägermaterial nach vorheriger Anreicherung durch Extraktion und clean-up durch Säulenchromatographie. Die von uns entwickelte Methode beruht auf dem Prinzip einer Abtrennung und partiellen Reinigung des Dioxins durch extraktive Destillation und der Identifizierung und Bestimmung durch GC an einer mit [®]Dexsil 300¹¹⁻¹³ belegten Kapillarsäule¹⁴.

EXPERIMENTELLER TEIL

(1) *Anreicherung durch extraktive Destillation*

In der Rückstandsanalytik¹⁵ hat sich eine von BLEIDNER *et al.*¹⁶ vorgeschlagene Apparatur zur Abtrennung von Pflanzenschutzmittelrückständen bewährt. GEISS-BÜHLER *et al.*¹⁷ benutzen z.B. die von W. HEIZLER modifizierte BLEIDNER-Apparatur (Fig. 1) zur Abtrennung von Chlorphenamidin aus Rückständen in Pflanzen und Bodenmaterial. Die gleiche Apparatur verwenden auch wir zur Abtrennung des Dioxins; als Extraktionsmittel dient GC-reines *n*-Hexan (anstelle von Isooctan). In der BLEIDNER-Apparatur wird das Kaliumsalz der zu untersuchenden Säure in wässriger Lösung im "Wasserkolben" erhitzt. Der übergehende Dampf mischt sich im Gleichstrom mit dem im "Hexankolben" entwickelten Hexandampf, kondensiert gemeinsam mit diesem und das entstehende Lösungsmittelgemisch trennt sich im unteren Teil der Apparatur in zwei Schichten. Die das Dioxin enthaltende Hexanschicht fließt in den "Hexankolben" zurück, die Wasserschicht in den "Wasserkolben".

Durch die intensive Mischung bei der gemeinsamen Kondensation der Dämpfe wird eine wirkungsvolle Extraktion des Wasserdampfdestillats, welches das gesamte Dioxin enthält, erreicht. Nach vorsichtigem Abdestillieren der Hauptmenge des Hexans im Rotationsverdampfer wird ein Extrakt erhalten, in dem Dioxin durch GC identifiziert und bestimmt wird.

Grundsätzlich können für die extraktive Destillation auch die freien Säuren verwendet werden. Gegen die Verwendung der freien Säuren spricht jedoch, dass diese schwer löslich sind, Dioxin einschließen können und teilweise wasserdampflich

sind. Die Verwendung von wasserlöslichen Salzen schaltet die durch die genannten Eigenschaften der Säuren bedingten Fehlermöglichkeiten und Komplikationen aus. Alkalisalze sind wiederum Aminalsalzen vorzuziehen, bei denen die Gefahr besteht, dass flüchtige Aminalsalze das Dioxin enthaltende Destillat zusätzlich verunreinigen. Die Kalium-Salze eignen sich wegen ihrer Löslichkeit besser als Natrium-Salze. Bei Verwendung eines 500-ml-„Wasserkolbens“ können bis zu 50 g Säureprobe eingesetzt werden; im allgemeinen werden 10 g Säureprobe angewandt.

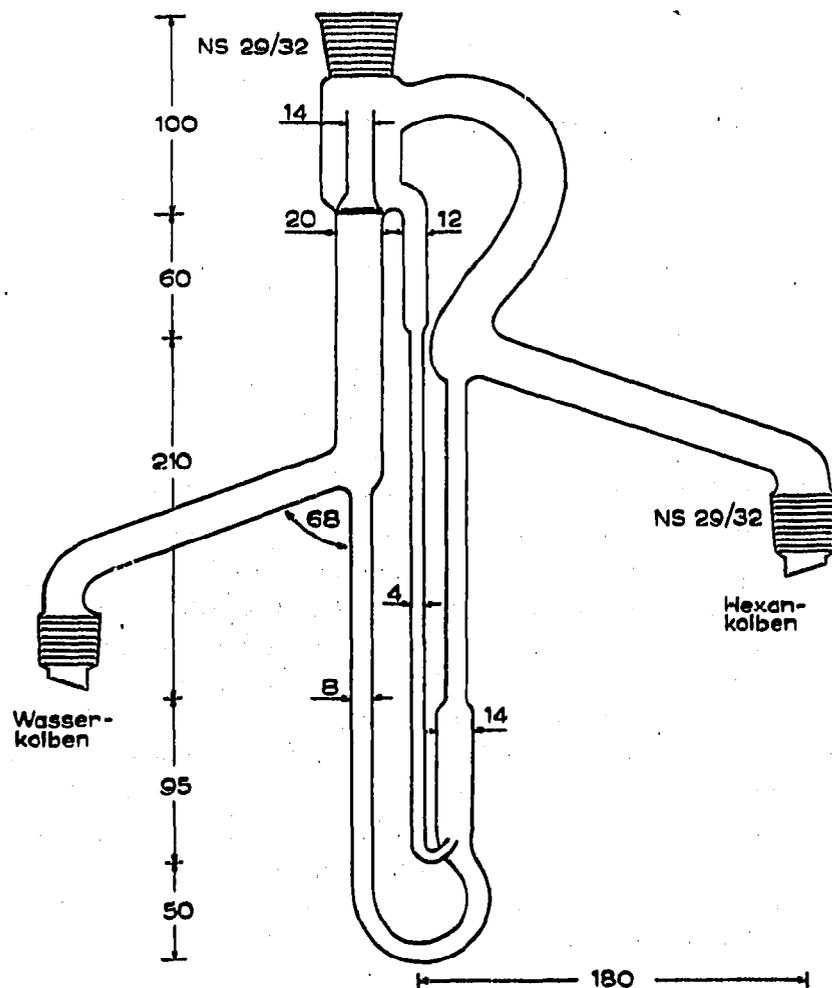


Fig. 1. Die BLEIDNER-Apparatur modifiziert von W. HEIZLER.

Recovery-Versuche mit bekannten Dioxinmengen zeigten, dass unter den Versuchsbedingungen eine in Erwägung gezogene teilweise Zersetzung des Dioxins nicht stattfindet. Zu dioxinfreien chlorierten Phenoxyalkansäuren zugesetztes Dioxin wurde innerhalb der Versuchsfehler unter den Bedingungen einer 4-h Destillation in der BLEIDNER-Apparatur und den unten beschriebenen GC-Bedingungen (siehe Tabelle I) praktisch quantitativ wiedergefunden.

(a) *Reagenzien.* 2N-KOH, wässrig; *n*-Hexan, GC-rein; Chloroform, GC-rein.

(b) *Geräte.* Apparatur nach BLEIDNER, modifiziert von W. HEIZLER (Fig. 1); Rotationsverdampfer.

(c) *Ausführung.* Ca. 10 g Säure werden in einem 500-ml Zweihalskolben mit ca. 200 ml Wasser versetzt und mit 2N KOH nach Aufsetzen eines Rückflusskühlers

TABELLE I

Probe	Zuges. Dioxin (p.p.m.)	Gef. Dioxin (p.p.m.)
2,4-Dichlorphenoxyessigsäure	1.03	0.97
2,4-Dichlorphenoxypropionsäure	1.03	1.06; 0.93
2-Methyl-4-chlorphenoxypropionsäure	1.03	0.97
2,4,5-T-Säure	1.03	1.0

gegen Phenolphthalein unter Erwärmen neutralisiert. Der Kolben ("Wasserkolben") wird an die BLEIDNER-Apparatur angeschlossen; in den zweiten Kolben (250 ml) der BLEIDNER-Apparatur werden 50 ml *n*-Hexan gegeben. Dann werden unter Durchleiten von N₂ durch die Probelösung beide Kolbeninhalte 4 h lang zum Sieden erhitzt. Nach beendeter Destillation wird das Hexan aus dem "Hexankolben" im Rotationsverdampfer abdestilliert. Der Destillationsrückstand wird in 1 ml Chloroform gelöst. Diese Lösung dient zur GC-Bestimmung.

2. Gas-Chromatographie

Bei der Anreicherung des Dioxins durch extractive Destillation oder auch andere Anreicherungs- und Reinigungsschritte (Extraktion, DC, SC) wird ein Extrakt erhalten, der immer noch eine Anzahl Komponenten neben dem Dioxin enthält. Es erscheint durchaus möglich und wurde auch in einem Beispiel (s.u.) bestätigt, dass bei ungenügend trennenden Säulen die Anwesenheit von Dioxin durch eine dieser Komponenten vorgetäuscht werden kann. Eine möglichst hohe Trennleistung der Säule ist deshalb Voraussetzung für eine optimale Erfassung des Dioxins. Die vor kurzem zugänglich gewordene Trennphase [®]Dexsil 300, ein Carboran-Siloxan, dessen Konstitution Fig. 2 zeigt, eröffnete neue Möglichkeiten für die Dioxinanalytik. [®]Dexsil 300 mit der Formel $[-\text{Si}(\text{CH}_3)_2 \cdot \text{CB}_{10}\text{H}_{10}\text{C} \cdot (\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{O})_n]_m$ hat einen Schmelzpunkt von 30–38°, einen Zersetzungspunkt von > 600° und noch bei 500° einen sehr niedrigen Dampfdruck. Durch den niedrigen Schmelzpunkt ist schon eine Temperatur von 50° als Arbeitstemperatur für die GC möglich, so dass ein Temperaturbereich von 450° zur Verfügung steht. Bei temperaturprogrammierter Arbeitsweise bis 300° ist daher kein "bleeding" der Säule zu erkennen. Diese Eigenschaften des [®]Dexsils sind für die Kapillar-GC aus folgenden Gründen vorteilhaft: Die Säule behält ihre Trennleistung über einen längeren Zeitraum; die hochsiedenden Komponenten in den Extrakten lassen sich nahezu restlos desorbieren; auch bei Temperatur-

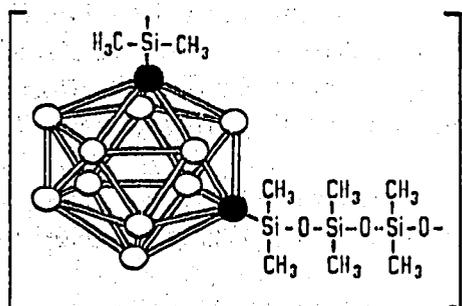


Fig. 2. Konstitution des Carboran-Siloxans [®]Dexsil 300.

programmierung können wegen des geringen "bleedings" sehr geringe Substanzmengen erfasst werden (z.B. Dioxinmengen von 0.1 p.p.m.).

Es gelang, in einer speziell entwickelten Apparatur¹⁸ eine 60-m SS-Kapillarsäule mit [®]Dexsil 300 zu belegen. Diese Kapillarsäule ermöglicht die Trennung von 80–100 Einzelkomponenten in einem Extrakt.

Die vergleichende GC-Analyse von zwei chromatographisch vorgereinigten 2,4,5-T-Säuren verschiedener Provenienz (Probe A und B) an einer gepackten 2-m SE-30 (Silicongummi)-Glassäule und an der [®]Dexsil-Kapillarsäule, hatte folgendes Ergebnis: An der gepackten Säule (bei 225° isotherm) war die Auftrennung bei Extrakt aus Probe A nicht ausreichend. Bei der Retentionszeit für Dioxin trat im Gas-Chromatogramm ein relativ breiter peak auf (Fig. 3); nach Zusatz von Dioxin war

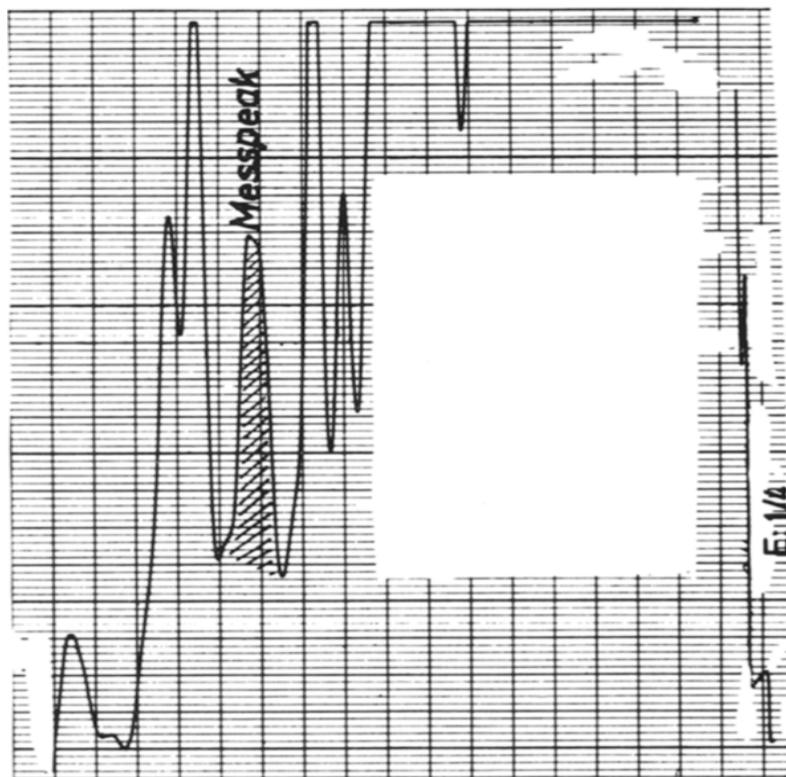


Fig. 3. Gas-Chromatogramm der vorgereinigten Probe A Bedingungen: 2-m-Glassäule mit 5% SE-30 auf Chromosorb A-AW-DMCS, 80–100 mesh, 225° isotherm; Trägergas: He, 60 ml/min; Detektor: FID; Detektortemperatur: 250°; Temperatur des Einspritzblocks: 270°; angewandte Menge: 5 μ l Chloroformlösung.

zusätzlich eine Schulter angedeutet (Fig. 4). An der Kapillarsäule wurde der oben erwähnte breite peak aufgetrennt; der peak des Dioxins lag dicht daneben und entsprach nur einer Konzentration von < 0.1 p.p.m. (Fig. 5). Im Gegensatz zur gepackten Säule erhält man nach Dioxinzusatz einen isolierten peak (Fig. 6).

Bei einer weniger kontaminierten Säureprobe B konnte auch an der gepackten Säule ein brauchbares Ergebnis erzielt werden, wenn auch die Kapillarsäule wegen der besseren Auftrennung vorzuziehen ist (Fig. 7 und 8). In zweifelhaften Fällen ist, wie die Probe A zeigt, die Kapillarsäule auf jeden Fall überlegen. Die Retentionszeit für Dioxin sollte bei jeder Probenserie mit Dioxin-Standard überprüft werden.

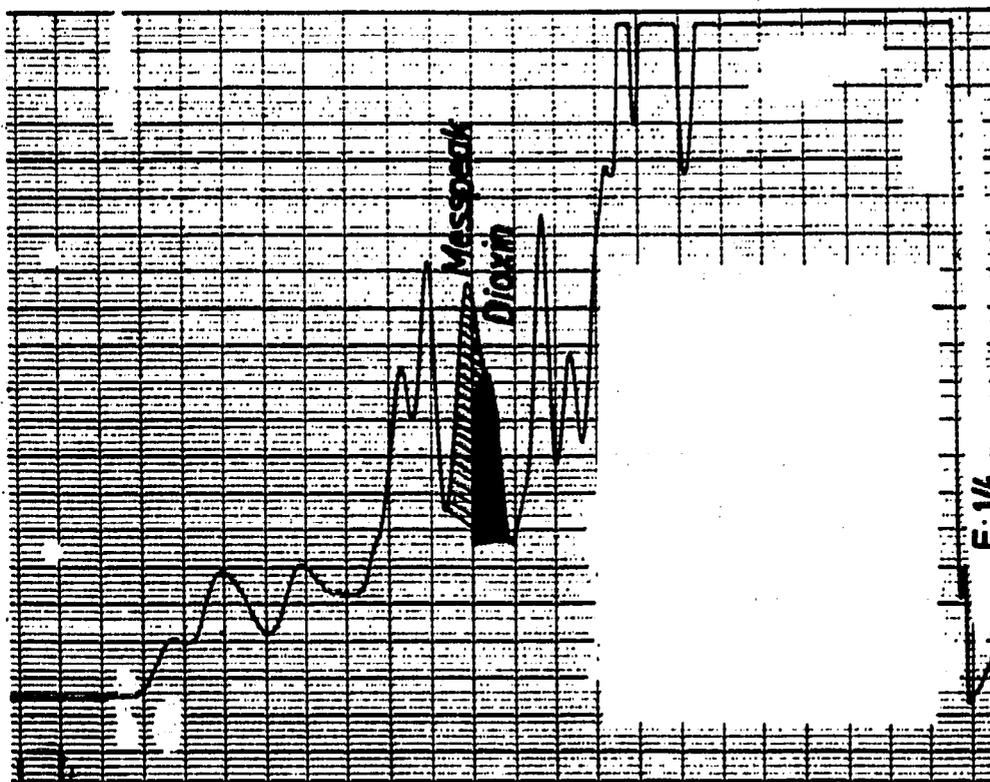


Fig. 4. Gas-Chromatogramm der vorgereinigten Probe A mit Zusatz von 0.5 p.p.m. Dioxin. Bedingungen: siehe die Unterschrift der Fig. 3.

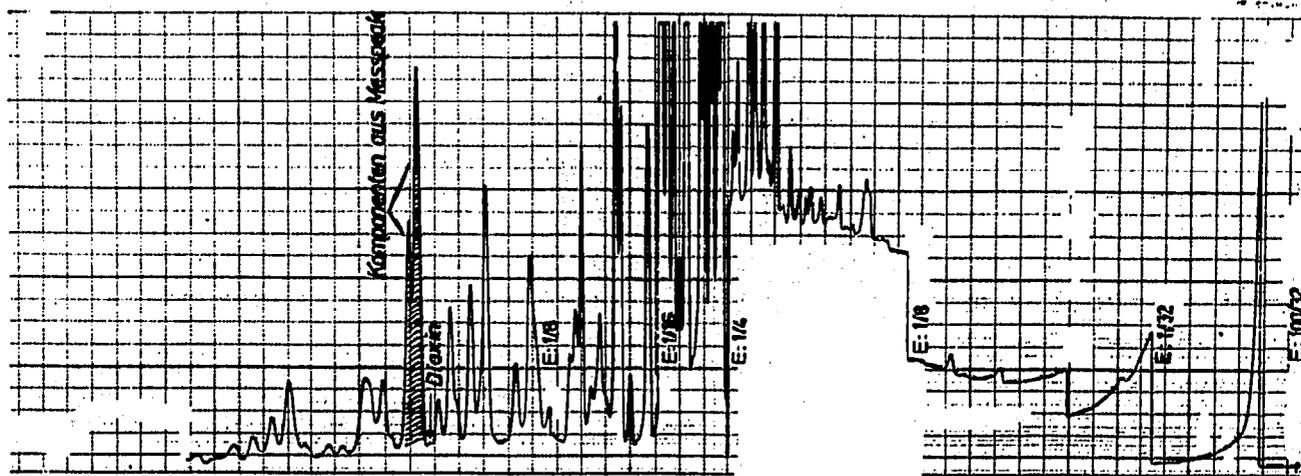


Fig. 5. Gas-Chromatogramm der vorgereinigten Probe A unter Verwendung der [®]DEXSIL-Kapillarsäule. Bedingungen: siehe S. 42.

Bei Abtrennung des Dioxins mit Hilfe der BLEIDNER-Apparatur werden sämtliche wasserdampf-flüchtigen, mit Hexan extrahierbaren Verunreinigungen im Extrakt erhalten. Ohne Vorreinigung eines solchen Extraktes kann die Vielzahl der Komponenten nur durch die Kapillarsäule befriedigend aufgetrennt werden (Fig. 9 und 10).

Durch die beschriebene Arbeitstechnik können unter Verwendung eines empfindlichen FID bei einer Einwaage von ca. 10 g noch Dioxingehalte in der Grössen-

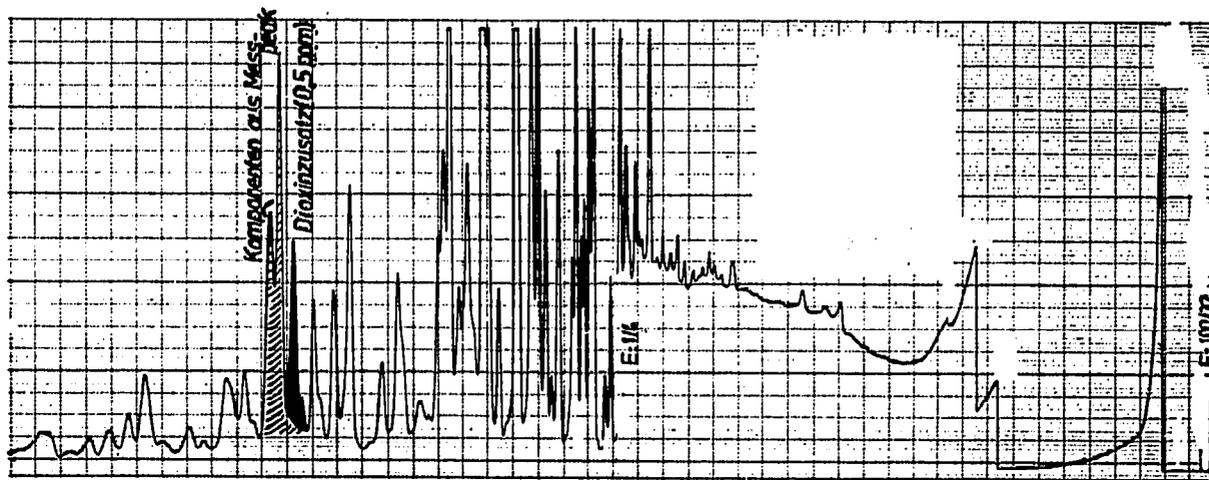


Fig. 6. Gas-Chromatogramm der vorgereinigten Probe A mit Zusatz von 0.5 p.p.m. Dioxin unter Verwendung der [®]Dexsil-Kapillarsäule. Bedingungen: siehe S. 42.

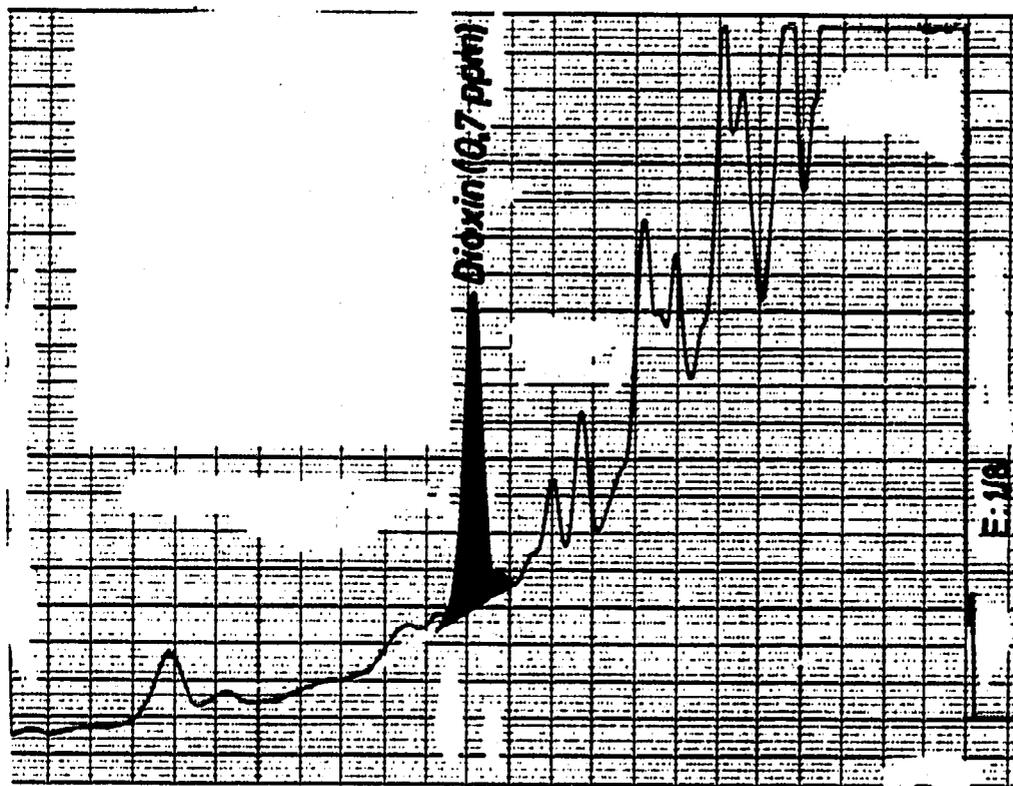


Fig. 7. Gas-Chromatogramm der vorgereinigten Probe B. Bedingungen: siehe die Unterschrift der Fig. 3.

ordnung von 0.1 p.p.m. nachgewiesen und bestimmt werden. Der entscheidende Vorteil der Verwendung der [®]Dexsil-Kapillarsäule liegt darin, dass Versuchsergebnisse, die mit Hilfe einer gepackten Silicongummisäule gewonnen wurden, überprüft und gegebenenfalls berichtigt werden können.

Weiterhin gelang es, unter Verwendung der [®]Dexsil-Kapillarsäule eine weitere Methode zur Bestimmung von Dioxin in chlorierten Phenoxyalkansäuren zu ver-

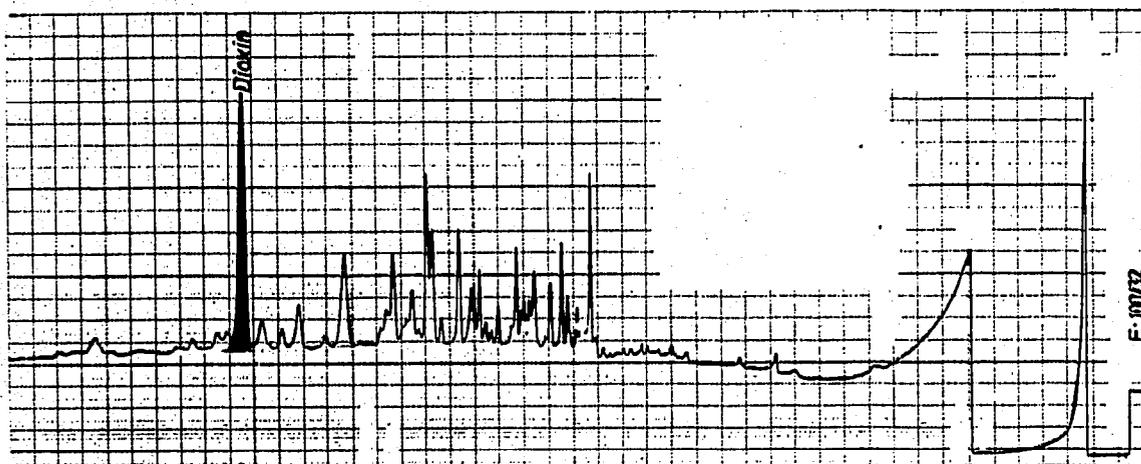


Fig. 8. Gas-Chromatogramm der vorgereinigten Probe B unter Verwendung der [®]Dexsil-Kapillarsäule. Bedingungen: siehe S. 42.

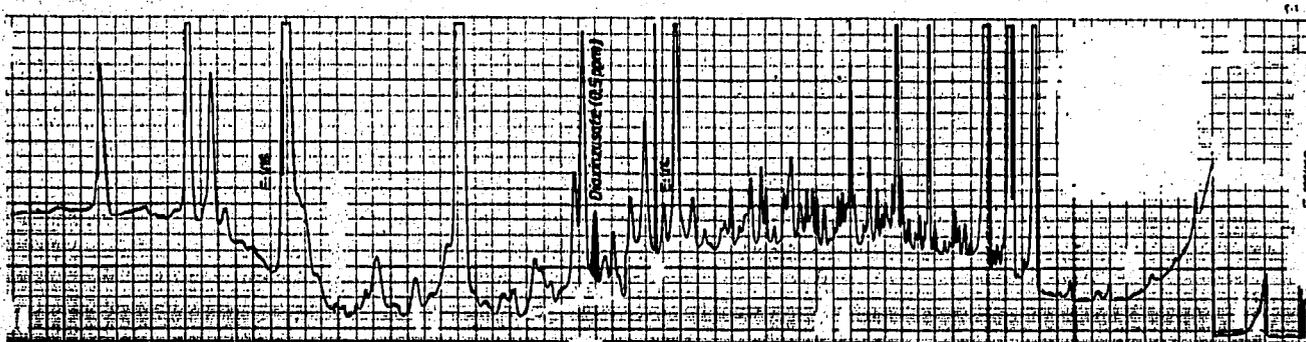


Fig. 9. Gas-Chromatogramm des Hexanextraktes (BLEIDNER-Apparatur) mit Zusatz von 0.5 p.p.m. Dioxin zu einer dioxinfreien Probe unter Verwendung der [®]Dexsil-Kapillarsäule. Bedingungen: siehe S. 42.

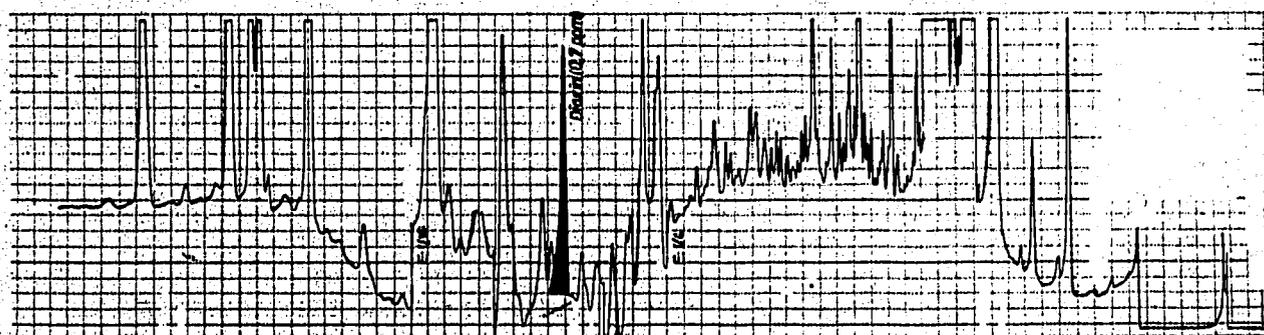


Fig. 10. Gas-Chromatogramm des Hexanextraktes (BLEIDNER-Apparatur) von Probe B (ohne Dioxinzusatz) unter Verwendung der [®]Dexsil-Kapillarsäule. Bedingungen: siehe S. 42.

wirklichen. Die Methode beruht darauf, dass die Säuren in ihre Methylester übergeführt und die Methylester der Kapillarsäulen-GC unterworfen werden. Die Methode kann als Schnellmethode eingesetzt werden, da sie keine vorherige Reinigung und Anreicherung des Dioxins erfordert. Die Nachweisgrenze beträgt zur Zeit bei einer Einwaage von 0.5 g ca. 1 p.p.m. Durch Einsatz eines EC-Detektors versprechen wir uns eine Erhöhung der Empfindlichkeit.

(a) *Herstellung der Kapillarsäule**. 60-m SS-Kapillarrohr (innerer Durchmesser, 0.5–0.7 mm) werden wie üblich auf ein Trägerrohr (Durchmesser, 70 mm; Länge, 200 mm) gewickelt. Das Kapillarrohr wird unter Druck (10 atm) mit je ca. 500 ml Benzol (von ca. 70°), Methylenchlorid und Aceton durchgespült. Anschliessend wird die Kapillare unter Durchspülen von reinem Stickstoff (3 h, 200°) getrocknet.

Die Belegung mit [®]Dexsil 300** erfolgt in einer speziell konstruierten Apparatur¹⁷. Ein Lösungspfropfen von ca. 4 m Länge, bestehend aus einer 10%igen Lösung von [®]Dexsil 300 GC in Methylenchlorid, wird mit einer Geschwindigkeit von ca. 8 mm/sec durch die Kapillare gedrückt. Nachdem die restliche Imprägnierungslösung aus der Kapillare herausgedrückt worden ist, wird bei Raumtemperatur 15 h lang reinster Stickstoff mit derselben Strömungsgeschwindigkeit durchgeleitet.

Die Konditionierung der Kapillarsäule erfolgt in einem Gas-Chromatographen unter Temperaturprogrammierung (1°/min von 20–240°) und einer Strömungsgeschwindigkeit von 20 ml He pro min.

Die Testung der Kapillarsäule erfolgt mit einem Substanzgemisch, das u.a. Acrylester, Xylole und Styrol enthält. Die theoretische Bodenzahl, berechnet für Styrol, beträgt ca. 10 000.

(b) *Gas-chromatographische Bedingungen*. Gerät: Becker-Multigraph, Typ 409 mit FID und WA-Verstärker; Säule: 60 m [®]Dexsil 300-Kapillarsäule (2a); Temperatur des Einspritzblocks: 270°; Ofentemperatur: 150°, 10 min isotherm, dann programmiert bis 215°, 10°/min; Trägergas: He; Strömungsgeschwindigkeit: 14 ml/min; angewandte Menge: 5 µl Chloroformlösung (1c).

(c) *Auswertung*. Die Auswertung erfolgt planimetrisch mit Dioxin als äusserem Standard. 5 µl einer Lösung von 1.03 mg Dioxin in 100 ml Chloroform ergaben in Versuchen über mehrere Tage hinweg folgende Flächeneinheiten: 109, 109, 104, 109 und 107.

BEMERKUNG

Beim Arbeiten mit dem hochtoxischen Dioxin sind extreme Sicherheitsbedingungen einzuhalten.

ZUSAMMENFASSUNG

Durch extractive Destillation der wässrigen Lösung der Kaliumsalze von chlorierten Phenoxyalkansäuren mit *n*-Hexan in der sog. Bleidner-Apparatur gelingt es, 2,3,7,8-Tetrachlor-dibenzo-*p*-dioxin (Dioxin) von diesen, als Herbizid eingesetzten Säuren, abzutrennen. Der weitgehend spezifische Nachweis und die quantitative Bestimmung von Dioxin durch Gas-Chromatographie des Hexanextraktes gelingt durch Verwendung einer mit [®]Dexsil 300 belegten 60 m-SS-Kapillarsäule.

LITERATUR

- 1 J. KIMMIG UND K. H. SCHULZ, *Naturwissenschaften*, 44 (1957) 337.
- 2 J. KIMMIG UND K. H. SCHULZ, *Dermatologica*, 115 (1957) 540.
- 3 H. BAUER, K. H. SCHULZ UND U. SPIEGELBERG, *Arch. Gewerbepathol. Gewerbehyg.*, 18 (1961) 538.

* Die Herstellung der Stahlkapillarsäule erfolgt mit Genehmigung der Fa. Bodenseewerk Perkin-Elmer & Co. GmbH, Überlingen.

** [®]Dexsil 300 wird von der Fa. Supelco Inc., Bellefonte, Pa. 16823, U.S.A., geliefert.

- 4 A. P. POLAND, D. SMITH, G. METTER AND P. POSSICK, *Arch. Environ Health*, 22 (1971) 316.
- 5 G. R. HIGGINBOTHAM, A. HUANG, D. FIRESTONE, J. VERRETT, J. ROSS AND A. D. CAMPBELL, *Nature*, 220 (1968) 702.
- 6 G. R. HIGGINBOTHAM, D. FIRESTONE, L. CHAVEZ AND A. D. CAMPBELL, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 50 (1967) 874.
- 7 G. R. HIGGINBOTHAM, J. RESS AND D. FIRESTONE, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 50 (1967) 884.
- 8 P. NEAL, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 50 (1967) 1338.
- 9 G. R. HIGGINBOTHAM, J. RESS AND D. FIRESTONE, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 51 (1968) 940.
- 10 G. R. HIGGINBOTHAM, J. RESS AND D. FIRESTONE, *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 53 (1970) 628.
- 11 Firmenschrift der Fa. Analabs, *Research Notes*, Vol. 10, Nr. (July 1970).
- 12 *Chem. Eng. News*, 49 (1971) 46.
- 13 *Nachr. Chem. Techn.*, 19, 1971, No. 9.
- 14 D. A. ELVIDGE, *Analyst (London)*, 96 (1971) 721.
- 15 *Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln – Methoden VI*, Kommission für Pflanzenschutz-, Pflanzenbehandlungs- und Vorratsschutzmittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Weinheim, 1969.
- 16 W. E. BLEIDNER, H. M. BAKER, M. LEVITSKY AND W. K. LOWEN, *J. Agr. Food Chem.*, 2 (1954) 476.
- 17 H. GEISSBÜHLER, K. KOSSMANN, I. BAUNOK AND V. F. BOYD, *J. Agr. Food Chem.*, 19 (1971) 365.
- 18 K. S. BRENNER, unveröffentlichte Versuche (1970).

J. Chromatogr., 64 (1972) 39–48