

Charakterisierung von Huminstoffen durch  
Fraktionierung und Metallgehaltsbestimmung mittels  
eines gekoppelten Systems Kapillarelektrophorese –  
induktiv gekoppeltes Plasma Massenspektrometer

**Dissertation**

zur Erlangung des Doktorgrades  
des Fachbereichs Chemie der  
Universität Hamburg

**Dirk Eifler**  
aus Hamburg

**Hamburg 2005**

- 
1. Gutachter: Prof. Dr. A. Knöchel
  2. Gutachter: Prof. Dr. D. Rehder

Tag der letzten mündlichen Prüfung: 30. Juni 2005

---

---

*Für  
meine Familie*

---

---

---

---

## Danksagung

*Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom März 2000 bis März 2005 im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. A. Knöchel am Institut für Anorganische und Angewandte Chemie der Universität Hamburg angefertigt.*

*Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. A. Knöchel bin ich sehr dankbar für die Überlassung des interessanten Themas, die vielen anregenden Diskussionen und die wohlwollende und stetige Unterstützung und Förderung der Arbeiten.*

*Herrn Dr. Klaus Pranzas danke ich für die guten Gespräche bereits zu Beginn der Arbeit, und später bei unseren Treffen im GKSS-Forschungszentrum.*

*Besonders danke ich meinen Mitstreitern Frau Dr. Birgit Runge, Herrn Dipl.-Chem. Frank Miller, Herrn Dipl.-Chem. Jochen Feuerborn und Herrn Dr. Thomas Kinzel für die vielen Diskussionen und die schöne Atmosphäre in der Zeit der praktischen Arbeiten sowie für die Gespräche beim anschließenden Zusammenschreiben. Ebenso danke ich den Arbeitskreismitgliedern, die ihre Arbeiten bereits früher beendeten, Frau Dr. Anne-Katrin Meyer, Herrn Dr. Bert Anders, Herrn Dr. Gundolf Weseloh, Herrn Dr. Kai Behrens, Herrn Dr. Markus Cichon, Frau Dr. Susanne Staub und Herrn Dr. Yoshi Tambo. Die gemeinsame Zeit im Arbeitskreis und insbesondere die zahlreichen gemeinsamen Probennahmen im Rahmen des Internationalen Oder-Projekts werden mir intensiv in Erinnerung bleiben. Natürlich danke ich auch Frau Dipl.-Chem. Birgit Peschel und Herrn Dipl.-Chem. York Zimmermann für die gute gemeinsame Arbeitsatmosphäre.*

*Herrn Prof. Dr. A. Prange bin ich besonders dankbar. Er gab mir die Möglichkeit, die hochwertigen Geräte seiner Abteilung in einer Reihe von mehrwöchigen Messzeiten am GKSS-Forschungszentrum zu nutzen. In seiner Abteilung bin ich freundlich aufgenommen worden; insbesondere möchte ich mich bei Herrn Dr. D. Schaumlöffel, Herrn Dr. Daniel Pröfrock, Herrn Dr. Peter Leonhardt, Herrn Dr. Sven Bonsack, Herrn Dipl.-Ing. Burckard Erbslöh, Frau Dipl.-Ing. Simone Griesel, Herrn Dr. U. Reus sowie bei Herrn Dipl.-Ing. Armando Caba für die geführten Gespräche und ihre Unterstützung bedanken.*

*Herrn Prof. Dr. W. Michaelis und Herrn Dr. Thomas Pape danke ich sehr für die freundliche Unterstützung bei den DOC-Messungen.*

*Herrn Dr. Wilhelm Herdering danke ich insbesondere für die zur Verfügung gestellten synthetisierten Huminstoffmodelle, aber ebenso für unsere zahlreichen Diskussionen.*

*Herrn Dr. Frank Meyberg bin ich sehr dankbar für die geführten fachlichen Diskussionen und die freundschaftlichen Gespräche.*

---

---

*Herrn Heinz Graeske, Frau Gabi Graeske, Frau U. Gralla und Frau M. Hefter danke ich für die freundliche Unterstützung bei der Chemikalienversorgung, der CHN-Analytik und den IR- bzw. UV-VIS-Messungen.*

*Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. M. Spiteller von der Universität Dortmund für die geführten Gespräche und die apparative Unterstützung, Herrn Dr. P. Burba vom ISAS Dortmund, Herrn PD Dr. Ph. Schmitt-Kopplin von der GSF-Forschungseinrichtung, sowie Herrn Dr. Markus Martin von der Uni-Saarbrücken für ihre freundliche Unterstützung und die geführten Diskussionen.*

*Herrn Heinrich Schelhas danke ich für ausgedehnte Diskussionen über Computer-Programme und den Aufbau verschiedener Dateien.*

*Der herzlichste Dank gilt meiner Familie: meinen Großeltern Liselotte und Erich Schneider, meinem Bruder Lars, meiner Schwägerin Frauke und meinem Neffen Tjark, sowie natürlich meiner Freundin Olga und unserer süßen Aleksandra.*

*Tief dankbar bin ich meinen Eltern für ihre große Unterstützung in der verschiedensten Hinsicht während des Studiums und der Promotion.*

---

---

## Kurzzusammenfassung

In den letzten Jahren hat die Elementspeziationsanalytik in den Umwelt- und Lebenswissenschaften mit der Fragestellung nach der Art des Vorliegens bestimmter Elemente und den damit in Zusammenhang stehenden Wirkungsmechanismen zunehmend an Bedeutung gewonnen. Auch in aquatischen Systemen stellt sich besonders die Frage, in welchem Ausmaß bestimmte Schwermetalle durch Huminstoffe komplexiert und damit mobilisiert und in ihrem Transportverhalten verändert werden. Um diese Fragestellung detailliert untersuchen zu können, ist in dieser Arbeit unter Nutzung der Kapillarelektrophorese mit UV-Detektion und online gekoppelter ICP-MS-Detektion (CE-UV-ICP-MS) eine Methode entwickelt und optimiert worden, die die Charakterisierung von Huminstoffen ermöglicht, einschließlich der Untersuchung von Schwermetallen, die an verschiedene Huminstoff-Grobfractionen gebunden sind. Notwendig waren „Spezies-Informationen“ durch die zu entwickelnde Methode: Sowohl der fraktionierte Huminstoff, als auch die gewünschten Schwermetallionen mussten gut detektiert werden können. Dabei war auch die Separation der detektierten Schwermetalle in „frei“ vorliegende Kationen bzw. huminstoffkomplexierte Kationen ein vorrangiges Ziel.

Nach der Methodenentwicklung und -optimierung wurde die Eignung des Verfahrens prototypisch an fünf unterschiedlichen Huminstoffproben, sowohl natürlichen, über das XAD-8- bzw. Tangentialfluss-Ultrafiltrations-Verfahren angereicherten, als auch synthetischen Modellen von Huminstoffen demonstriert. Sie wurden in ihrem Komplexierungsverhalten gegenüber verschiedenen umweltrelevanten Schwermetallionen unter den Bedingungen des Fließgleichgewichtes der Kapillarelektrophorese charakterisiert. Untersucht wurde auch die Beladbarkeit der unterschiedlichen Huminstoffproben – also die relative Komplexierungskapazität – bezüglich der Schwermetallkationen  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$ , sowie die Abhängigkeit des Komplexierungsverhaltens von der Art des Huminstoffs, des komplexierten Metallions und des zeitlichen Einflusses bei der Komplexierung. Dabei zeigte sich die Möglichkeit der feinen Differenzierung der Signalverläufe verschiedener Metallionen als großer Vorzug der CE-UV-ICP-MS. Eine Validierung und ein Vergleich der Ergebnisse, sowie der Erhalt absoluter Informationen über die Molekulargewichtsverteilung, erfolgte durch Ultrafiltration mit DOC- und TRFA-Detektion (offline). Bezüglich der verschiedenen, simultan dotierten Schwermetallionen ergab sich folgende Reihenfolge der Stärke der Komplexierung:  $\text{Cu}^{2+} \approx \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+} \approx \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+} \gg \text{Cs}^+$ . Die Komplexierung der dotierten Metallionen durch die Huminstoffproben führte zu einer Verringerung der effektiven negativen Ladungen bzw. zu einer Vergrößerung der Huminstoffmoleküle durch Verbrückung oder Aggregation. Mit der entwickelten Methode für die CE-UV-ICP-MS besteht damit eine neue und umfassende Möglichkeit der Charakterisierung der metallionenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen.

---

---

---



---

## Abstract

In the last years element species analysis has become of great interest in environmental and life sciences. The form in which different elements occur and their varying mechanisms of action are studied. Also in aquatic systems the question is of particular interest to which extent heavy metal ions are complexed by humic substances and thus mobilized and changed in their transport behaviour.

For a detailed investigation of these questions a method has been developed and optimised in this work, which uses capillary electrophoresis with UV- and ICP-MS-detection (CE-UV-ICP-MS) in order to characterize humic substances, including the examination of heavy metal ions bound to different main fractions of the humic substances. Obtaining “ionic species information” by this method has been of interest: Both the fractionated humic substances and the requested heavy metal ions had to be detected. A major aim was the separation of the detected heavy metal ions into “free” ions and ions complexed to humic substances.

After optimisation, the suitability of the method was then prototypically demonstrated through the characterization of five humic substance samples, both natural ones (isolated via XAD-8-method or tangential flow ultrafiltration) and synthetic models. Using the flow equilibrium in capillary electrophoresis, the complexing properties of these samples with different heavy metal ions of environmental importance were characterized. The metal ion loading properties of the different humic substance samples and their relative complex capacity with the heavy metal cations  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  and  $\text{Pb}^{2+}$  were examined as well as the dependency of the complexing behaviour on the type of the humic substance, the complexed metal ion and the influence of time.

The CE-UV-ICP-MS shows great potential, due to the possibility of differentiating metal ion signals. Using ultrafiltration with offline UV- and TXRF-detection the obtained results were compared and validated and information on the absolute molecular weight distribution was gained. Regarding the different simultaneously dotted metal ions the following ranking of binding was established:  $\text{Cu}^{2+} \approx \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+} \approx \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+} \gg \text{Cs}^+$ . The complexation of added metal ions by humic substances led to a reduction of the effective negative charges and/or an extension of humic substance molecules by metal ion bridges or aggregation. The developed method for the CE-UV-ICP-MS is a new comprehensive tool for the characterisation of the metal ion binding properties of humic substances.

---

---

---

---

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b><i>Einleitung und Problemstellung</i></b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b><i>Huminstoffe in aquatischen Systemen – Grundlagen und Analytik</i></b>	<b>5</b>
<b>2.1</b>	<b>Huminstoffe und ihre ökologische Bedeutung</b>	<b>6</b>
2.1.1	Genese und Vorkommen	6
2.1.2	Zusammensetzung, Struktur und Eigenschaften	8
2.1.3	Komplexierung von Metallionen	13
2.1.4	Anreicherung und Isolierung von Huminstoffen	17
2.1.5	Modellsubstanzen für Huminstoffe	21
<b>2.2</b>	<b>Basischarakterisierung von Huminstoffen</b>	<b>23</b>
<b>2.3</b>	<b>Fraktionierungsverfahren und gekoppelte Systeme zur Charakterisierung des Metallbindungsverhaltens von Huminstoffen</b>	<b>26</b>
2.3.1	Ultrafiltration (UF) mit DOC- und TRFA-Detektion (offline)	30
2.3.2	Flüssigkeits-Chromatographie (LC) und ICP-MS-gekoppelte Systeme	31
2.3.3	Feld-Fluss-Fraktionierung (FFF) und FFF-ICP-MS	33
2.3.4	Kapillarelektrophorese (CE) und CE-ICP-MS	36
<b>3</b>	<b><i>Entwicklung eines Analyseverfahrens zur Charakterisierung von Huminstoffen auf Basis der CE-ICP-MS</i></b>	<b>45</b>
<b>3.1</b>	<b>Entwicklung einer Methode zur Charakterisierung von Huminstoffen mit dem gekoppelten System Kapillarelektrophorese mit UV- und ICP-MS- Detektion (CE-UV-ICP-MS)</b>	<b>48</b>
3.1.1	Kapillarelektrophorese mit UV-Detektion (CE-UV)	51
3.1.1.1	Auswahl, Konzentration und pH-Wert des Puffersystems bzw. Hintergrundelektrolyten	51
3.1.1.2	Wandadsorptionseffekte und Entwicklung einer Postkonditionierung der Kapillare	56
3.1.1.3	Optimierung von Apparateparametern	58
3.1.1.4	UV-Detektion: Evaluation geeigneter Wellenlängen	63
3.1.1.5	UV-Detektion mit einer ‚High Sensitivity Detection Cell‘	65
3.1.1.6	Zwischenbilanz	67
3.1.2	Kapillarelektrophorese mit ICP-MS-Detektion (CE-ICP-MS)	68

3.1.2.1	Auswahl von Elementen und Massen _____	68
3.1.2.2	Reduzierung von Kontaminationen _____	71
3.1.2.3	Kontrolle der Zerstäubung und Korrektur der transienten CE-ICP-MS-Signale _____	72
3.1.2.4	Trennung verschiedener Spezies eines Elements _____	76
3.1.2.5	Separate Charakterisierung von Huminstoffen mit der CE-UV bzw. CE-ICP-MS beim bisherigen Stand der Methodenentwicklung _____	77
3.1.2.6	Einsatz eines sauren Hintergrundelektrolyten _____	80
3.1.2.7	Einfluss ansteigender pH-Werte des Hintergrundelektrolyten auf das Migrationsverhalten und die Signalform von Metallionen _____	82
3.1.2.8	Zwischenbilanz _____	85
3.1.3	Kapillarelektrophorese mit simultaner UV- und ICP-MS-Detektion (CE-UV-ICP-MS) _____	86
3.1.3.1	Anlegen von zusätzlichem Druck zur Trennung _____	86
3.1.3.2	Detektion von DOC mit der ICP-MS _____	90
3.1.3.3	Weitere Optimierung der Mess-Strategie _____	92
3.1.3.4	Kontrolle des EOF über das UV- und ICP-MS-Signal _____	96
3.1.3.5	Absicherung des Arbeitsbereichs zu hohen Konzentrationen _____	98
3.1.3.6	Graphische Darstellung der mit der CE-UV-ICP-MS erhaltenen Informationen _____	99
3.1.3.7	Zusammenfassung der Optimierungsergebnisse _____	103
<b>3.2</b>	<b>Charakterisierung von Huminstoffen mit der CE-UV-ICP-MS _____</b>	<b>105</b>
3.2.1	Auswahl der Huminstoffproben und Basis-Charakterisierung über DOC, Elementaranalyse, UV-VIS- und IR-Spektroskopie, sowie Metallgehalts-Bestimmung _____	107
3.2.2	Charakterisierung der Huminstoffproben mit der CE-UV-ICP-MS _____	119
3.2.2.1	HOFA13 _____	120
3.2.2.2	OR02RM _____	122
3.2.2.3	FS-001 _____	126
3.2.2.4	FS-023 _____	128
3.2.2.5	FS-018 _____	130
3.2.2.6	Zwischenfazit _____	130
3.2.3	Charakterisierung von Huminstoffen durch Dotierung mit einzelnen Metallionen (Cu <sup>2+</sup> bzw. Cd <sup>2+</sup> ) _____	132
3.2.3.1	HOFA13, Dotierung mit Cu <sup>2+</sup> - bzw. Cd <sup>2+</sup> -Ionen _____	134
3.2.3.2	OR02RM, Dotierung mit Cu <sup>2+</sup> -Ionen _____	140
3.2.3.3	FS-001, Dotierung mit Cu <sup>2+</sup> -, Cd <sup>2+</sup> - bzw. Ni <sup>2+</sup> -Ionen _____	142
3.2.3.4	FS-023, Dotierung mit Cu <sup>2+</sup> - bzw. Cd <sup>2+</sup> -Ionen _____	149
3.2.3.5	FS-018, Dotierung mit Cd <sup>2+</sup> -Ionen _____	155

---

3.2.4	Charakterisierung von Huminstoffen durch gemeinsame Dotierung mit den Metallionen $\text{Ni}^{2+}$ , $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Cs}^+$ und $\text{Pb}^{2+}$	158
3.2.4.1	HOFA13	159
3.2.4.2	OR02RM	166
3.2.4.3	FS-001	172
3.2.4.4	FS-023	180
3.2.4.5	FS-018	187
3.2.5	Untersuchungen zur Kinetik bei der Beladung von Huminstoffen mit Metallionen	194
3.2.5.1	Minimale Kontaktzeit: Reaktionen von Huminstoffen mit einer Metallionen-Standardlösung in der Kapillare	194
3.2.5.2	Situation bei ansteigenden Kontaktzeiten	200
<b>3.3</b>	<b>Fraktionierung von Huminstoffen durch Ultrafiltration (UF) mit offline DOC- und TRFA-Detektion</b>	<b>203</b>
3.3.1	Charakterisierung der Probe HOFA13 nach Dotierung mit $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen	206
3.3.2	Charakterisierung der Probe HOFA13 nach gemeinsamer Dotierung mit $\text{Ni}^{2+}$ , $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Cs}^+$ und $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen	209
<b>4</b>	<b>Diskussion der Ergebnisse</b>	<b>215</b>
<b>4.1</b>	<b>Das Analysensystem CE-UV-ICP-MS</b>	<b>215</b>
<b>4.2</b>	<b>Charakterisierung von Huminstoffen durch Studium ihres Fraktionierungs- und Komplexierungsverhaltens</b>	<b>229</b>
4.2.1	Metallionen-Bindungsverhalten unter den Bedingungen der Fließgleichgewichte der Kapillarelektrophorese	229
4.2.1.1	Einfluss zunehmender Metallionenmengen auf das Fraktionierungsverhalten von Huminstoffen	231
4.2.1.2	Komplexierungsverhalten von Huminstoffen gegenüber zunehmenden Mengen verschiedener Metallionen	235
4.2.1.3	Einfluss der Zeit auf die Komplexierung von Metallionen durch Huminstoffe	237
4.2.1.4	Fazit	237
4.2.1.5	Vergleichende Huminstoffcharakterisierung mit der Ultrafiltration	238
4.2.2	Abschätzung und Vergleich von Komplexierungskapazitäten	242
4.2.3	Vergleich des Komplexierungsverhaltens von Huminstoffen mit variierenden Gehalten an Stickstoff bzw. Schwefel	246
<b>4.3</b>	<b>Ausblick</b>	<b>249</b>

---

<b>5</b>	<b><i>Experimenteller Teil</i></b>	<b>251</b>
<b>5.1</b>	<b>Materialien</b>	<b>251</b>
5.1.1	Geräte	251
5.1.2	Verbrauchsmaterialien	253
<b>5.2</b>	<b>Chemikalien und Gefahrenhinweise</b>	<b>254</b>
<b>5.3</b>	<b>Arbeitstechniken</b>	<b>259</b>
5.3.1	Reinigung von Gefäßen	259
5.3.2	Probennahme und Anreicherung aquatischer Huminstoffe	260
5.3.3	Ansetzen von Puffern und Lösungen	260
5.3.4	Basis-Charakterisierung der Huminstoffproben	262
5.3.5	Fraktionierung von Huminstoffen mit UF-Membranen	263
<b>5.4</b>	<b>Bedienung des Systems CE-UV-ICP-MS</b>	<b>263</b>
5.4.1	Starten des Systems CE-UV-ICP-MS	264
5.4.2	Einstellen der Betriebsparameter der CE	266
5.4.3	Tunen der ICP-MS und gemessene Elemente	267
5.4.4	Lösungen für Tuning und Betrieb der CE-UV-ICP-MS	269
5.4.5	Präparation von Kapillaren	271
5.4.6	Probenaufgabe	271
5.4.7	Postkonditionierung der Kapillare	272
<b>6</b>	<b><i>Zusammenfassung</i></b>	<b>273</b>
<b>7</b>	<b><i>Literatur</i></b>	<b>277</b>

## Verwendete Abkürzungen

Abs.	Absorption; die Absorption von UV-Spektren wird in Arbitrary Units [AU] bzw. [mAU] angegeben
AEM	Average Electrophoretic Mobility, mittlere elektrophoretische Mobilität
AF <sup>4</sup>	Asymmetrische Fluss Feld-Fluss Fraktionierung
AK	Arbeitskreis
[AU]	Arbitrary Units; die Absorption der transienten UV-Signale CE-fraktionierter Huminstoffproben wird in der Einheit [AU] bzw. [mAU] angegeben
BGE	Background Electrolyte, Hintergrundelektrolyt
CE	Capillary Electrophoresis, Kapillarelektrophorese
CE – ICP-MS	Online gekoppeltes System von CE und ICP-MS
[cps]	Counts per second, Impulse pro Sekunde; Einheit der transienten ICP-MS-Signale
CZE	Capillary Zone Electrophoresis, Kapillarzonenelektrophorese
DCTASV	Direct Current Tast Anodic Stripping Voltammetry
DOC	Dissolved Organic Carbon, gelöster organischer Kohlenstoff
DOM	Dissolved Organic Matter
E <sub>4</sub> /E <sub>6</sub>	Verhältnis der UV-Absorptionen bei 465 nm und 665 nm
EOF	Elektroosmotischer Fluss
ESI-MS	Elektrospray-Ionisations-Massenspektrometrie
FA	Fulvic Acid, Fulvinsäure
FFF	Field Flow Fractionation, Feld-Fluss Fraktionierung
FFFF	Flow Field Flow Fractionation, Fluss Feld-Fluss Fraktionierung
FTIR	Fourier-Transformations-Infrarot (-Spektroskopie)
GC	Gas Chromatographie
GPC	Gel-Permeations-Chromatographie
HA	Humic Acid, Huminsäure
HPCE	High Performance Capillary Electrophoresis
HPLC	High Performance Liquid Chromatography, Hochdruckflüssigkeitschromatographie
HS	Humic Substances, Huminstoff
ICP	Induktiv gekoppeltes Plasma
ICP-MS	Induktiv gekoppeltes Plasma Massenspektrometer
IHSS	International Humic Substances Society
Int.	Intensität; die Intensität der transienten ICP-MS-Signale wird in counts per second [cps] angegeben
IR	Infrarot
ISE	Ionen-Selektive-Elektrode
KK	Komplexierungs-Kapazität
LC	Liquid Chromatography, Flüssigkeits-Chromatographie
LIBD, LIBS	Laser Induced Breakdown Detection/ Spectrometry
LM	Lösungsmittel
MS	Massenspektrometrie, Massenspektrometer
MW	Molecular Weight, Molekülgewicht
NG	Nachweisgrenze
NMR	Nuclear-Magnetic-Resonance (spectroscopy), Kernresonanzspektroskopie
NMWCO	Nominal Molecular Weight Cut Off
NOM	Natural Organic Matter
PN	Probennahme
QMS	Quadrupol-Massenspektrometer
ROS	Refraktäre Organische Säuren
ROSE	Refractory Organic Substances in the Environment
ROSIG	Refraktäre organische Säuren in Gewässern
RT	Raumtemperatur

SAK	Spektraler Absorptionskoeffizient
SEC	Size Exclusion Chromatographie, Größenausschluss Chromatographie
TF-UF	Tangentialfluss-Ultrafiltration
TOF-MS	Time-of-Flight Mass Spectrometry, Flugzeit-Massenspektrometrie
TXRF, TRFA	Total Reflections X-Ray Fluorescence, Totalreflexions-Röntgenfluoreszenz-Analyse
UF	Ultrafiltration
UV-VIS	Ultravioletter und sichtbarer Wellenlängenbereich
XAD	Typ nicht-ionischer makroporöser Harze (Austauscherharz, das zur Isolierung von Huminstoffen eingesetzt wird)



# 1 Einleitung und Problemstellung

Huminstoffe sind Abbauprodukte biologischer Materie. Sie stellen in aquatischen und terrestrischen Umweltkompartimenten ein wichtiges Reservoir für organischen Kohlenstoff dar; in Oberflächengewässern wird etwa 50 % des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC) den Huminstoffen zugerechnet. Das Interesse an Zusammensetzung und Struktur dieser chemisch heterogenen, polydispersen und polyelektrolytischen Stoffe mit Molekulargewichten von wenigen hundert bis mehreren hunderttausend begründet sich besonders aus ihrer Eigenschaft, durch die hohe Anzahl an Donorstellen (hauptsächlich Carboxyl- und Phenolgruppen) mit vielen natürlichen und anthropogenen Chemikalien Verbindungen einzugehen, wie in Komplexierungsreaktionen mit Metallionen. Huminstoffe spielen daher in Fließgewässern und Flusssystemen eine wichtige Rolle beim Transport, aber auch der Toxizität und Bioverfügbarkeit von Metallionen, wobei die Mobilität von ihren Molekulargewichten abhängig ist. Die in der Natur auftretenden Wechselwirkungen und Gleichgewichte, die sich zwischen Schwermetallionen in der gelösten Phase und der kolloidalen Phase der Huminstoffe abspielen, sind komplex, da es sich um Fließgleichgewichte handelt.

Die Charakterisierung von Huminstoffen hinsichtlich ihrer Zusammensetzung und Struktur ist schwierig, da es sich um eine polydisperse Substanzklasse handelt und Konformationen sowie Komplexierungseigenschaften von Parametern wie dem pH-Wert, dem Eh-Wert und der Ionenstärke abhängen. In der Vergangenheit sind Huminstoffe mit einer Vielzahl analytischer Methoden mit unterschiedlichem Erfolg fraktioniert und untersucht worden. In der letzten Zeit wurden sensitive analytische Instrumente entwickelt, um zu einem besseren Verständnis von Schicksal und Transportverhalten von Spurenelementen sowie toxischen Metallionen zu gelangen, die durch Makromoleküle verschiedener molekularer Größen komplexiert werden.

Sehr aktuelle Ansätze befassen sich mit der Charakterisierung der metallionenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen unter Nutzung von analytischen Instrumentarien, die in der Elementspezies-Analytik eingesetzt werden, wie der Ultrafiltration mit DOC- und ICP-MS bzw. TRFA-Detektion, der Größenausschluss-Chromatographie mit online gekoppelter ICP-MS-Detektion (SEC-ICP-MS) oder der Feldfluss-Fraktionierung mit gekoppelter ICP-MS-Detektion (FFF-ICP-MS). Die bei diesen Systemen (online) auf die Fraktionierung folgende elementspezifische Detektion führt zu probenspezifischen Elementverteilungs-Mustern. Diese Methoden ermöglichen bereits weitreichende Aussagen über Huminstoff-Metallionen-Systeme. Sie haben jedoch methodenimmanente Grenzen, wie z.B. irreversible Wechselwirkungen mit stationären Phasen oder Schwierigkeiten bei der Differenzierung

zwischen frei vorliegenden und huminstoffkomplexierten Metallionen. Daher ist eine Ergänzung der Möglichkeiten und Vorzüge verschiedener Methoden zum Erhalt maximaler Informationen über ein vorliegendes Huminstoff-Metallionen-System nötig.

Die Kapillarelektrophorese wird seit etwa zehn Jahren sehr erfolgreich zur Trennung von Molekülen über einen weiten Molekulargewichtsbereich von anorganischen Ionen bis zu Biomolekülen wie Aminosäuren, Peptiden, Proteinen und Nucleinsäuren eingesetzt. Sie hat sich auch als geeignet erwiesen, Huminstoffe als Polyelektrolyte zu charakterisieren. Hinsichtlich der Charakterisierung der Wechselwirkung der Huminstoffe mit Metallionen sind aber erst wenige Untersuchungen erfolgt. Besonders der Einsatz des neuen gekoppelten Systems der Kapillarelektrophorese mit der ICP-MS (CE-ICP-MS) verspricht interessante Ergebnisse, da in der Kapillare Fließgleichgewichte ohne teilweise irreversible Wechselwirkungen an einer stationären Phase vorliegen und die Kapillarelektrophorese theoretisch die Möglichkeit bietet, in einem Lauf Kationen (wie z.B. freie Metallionen) von neutralen Molekülen sowie von Anionen (wie den Huminstoffmolekülen mitsamt den komplexiert vorliegenden Metallionen) zu trennen. Die Fraktionierung erfolgt dabei allein aufgrund der Molekülgröße und -ladung.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist daher die Entwicklung einer Methode, die unter Nutzung des CE-ICP-MS-Systems eine weiterreichende Charakterisierung von Huminstoffen und ihren metallionenbindenden Eigenschaften ermöglicht. Notwendig sind „Spezies-Informationen“ durch die zu entwickelnde Methode: Sowohl der fraktionierte Huminstoff, als auch die gewünschten Schwermetallionen müssen gut detektiert werden können. Dabei ist auch die Separation der detektierten Schwermetalle in „frei“ vorliegende Kationen bzw. huminstoffkomplexierte Kationen ein vorrangiges Ziel. Insbesondere gilt es, CE-Betriebsbedingungen zu finden, die

- eine Fraktionierung von Huminstoffproben und den komplexiert vorliegenden Metallkationen mit UV- sowie ICP-MS-Detektion ermöglichen, sowie nach Möglichkeit auch eine Trennung der in der Probe ‚frei‘ vorliegenden Metallionen
- bei hoher Auflösung der CE-fraktionierten Huminstoffproben eine Zuordnung komplexierter Metallionen zu bestimmten Huminstoff-Fractionen möglich machen
- es ermöglichen, durch Dotierung von Huminstoffproben mit ansteigenden Mengen an Metallionen die Grenzen der Komplexierungskapazitäten verschiedener Proben durch das Auftreten frei vorliegender Metallionen sichtbar zu machen.

Mit einer derartig entwickelten CE-ICP-MS-Methode sollen Huminstoffe verschiedener Herkunft und unterschiedlicher Elementzusammensetzung in ihren metallionenbindenden Eigenschaften studiert und ihr Komplexierungsverhalten gegenüber ausgewählten umweltrelevanten Schwermetallionen unter den Bedingungen des Fließgleichgewichtes der Kapillarelektrophorese charakterisiert werden. Dabei soll neben einem Vergleich von

natürlichen mit synthetischen Huminstoffen auch der strukturelle Einfluss von funktionellen Gruppen auf die metallionenbindenden Eigenschaften abgeklärt werden.



## 2 Huminstoffe in aquatischen Systemen – Grundlagen und Analytik

Huminstoffe sind in aquatischen Systemen von entscheidender Bedeutung, sie beeinflussen grundlegend Transportpfade und Metabolismus von Nähr- und Schadstoffen [1] [2] [3] [4] [5]. Huminstoffe gehören ihrer Größe nach zu den Kolloiden und liegen damit in einem Größenbereich, der sich zwischen Molekülen und Partikeln bewegt (Abbildung 1). Oft wird die Substanzklasse auch mit den übergeordneten Begriffen Gelöste Organische Materie (DOM) oder Refraktäre Organische Säuren (ROS) bezeichnet.

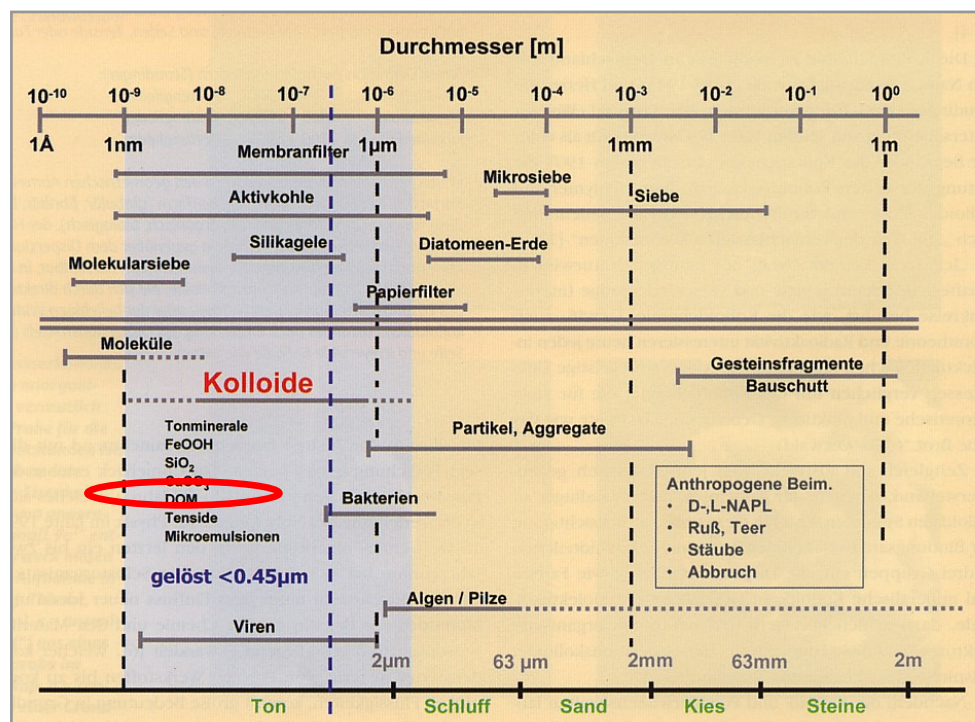


Abbildung 1: Kolloide im Größenspektrum [6]

Für den Stoffhaushalt von Gewässern ist die Komplexbildung von Metallionen durch Huminstoffe von besonderer Bedeutung. Zum Verständnis der bei den Huminstoffen vorkommenden Wechselwirkungen mit Metallionen wird zunächst auf die Zusammensetzung und die Eigenschaften dieser Substanzklasse und im folgenden dann auf die Charakterisierung der Wechselwirkungen von Huminstoffen mit Metallionen eingegangen.

## 2.1 Huminstoffe und ihre ökologische Bedeutung

Huminstoffe sind natürliche, biogene, heterogene, hochmolekulare organische Substanzen mit einer gelben bis schwarzen Farbe, deren Umwandlungs- bzw. Abbaugeschwindigkeit im Ökosystem relativ gering ist. Durch diese refraktären Eigenschaften besitzen Huminstoffe eine hohe Verweil- oder Lebensdauer in der Umwelt [7] [8] [9]. Huminstoffe sind polyfunktional und ubiquitär in Böden, Sedimenten und Gewässern verteilt und bilden den größten Teil des gesamten organischen Reservoirs dieser Kompartimente [10] [11] [12] [13] [14]. Sie bestehen zu etwa fünfzig Gewichtsprozent aus Kohlenstoff und haben trotz ihres polydispersen Charakters typische physikalische und chemische Eigenschaften, die sie als Stoffgruppe ausweisen. Allerdings fallen sie nicht in irgendeine diskrete Klasse von Verbindungen wie Proteine, Polysaccharide oder Polynucleotide, sondern sind operationell definiert (s. Abschnitt 2.1.2) und in Anlehnung an den Begriff Humus benannt.

Im terrestrischen wie aquatischen Bereich ist der überwiegende Teil des organisch gebundenen Kohlenstoffs in den Huminstoffen festgelegt. So bestehen etwa 50 % des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC) in farblosen Oberflächengewässern aus Huminstoffen, wobei die durchschnittliche DOC-Konzentration 2,2 mg/L beträgt [15]. In gefärbten Oberflächengewässern ist der DOC-Wert stärker variabel und bewegt sich typischerweise zwischen 5 und 50 mg/L. Hier können die Huminstoffe mit bis zu 80 % einen höheren Anteil am gelösten Kohlenstoff ausmachen.

Aus der für das Leben essentiellen Depotfunktion leitet sich ein grundsätzliches Interesse an der Struktur und Funktionalität dieser Substanzklasse sowie an ihrer Bedeutung für Ökosysteme ab. Darüber hinaus sind die Huminstoffe im Bereich der Trinkwasserversorgung und Abwasserbehandlung wegen der Vehikelfunktion für Schadstoffe und als Präkursoren für toxikologisch relevante Substanzen technologisch bedeutsam. Die Wechselwirkungen mit Xenobiotika und Schwermetallionen sind für Transportvorgänge in Gewässern und aus umweltschutztechnologischen Aspekten besonders wichtig [16].

### 2.1.1 Genese und Vorkommen

Huminstoffe entstehen über den Weg der Zersetzung von abgestorbenen Organismen und einen nachfolgenden Humifizierungsprozess. Dabei werden HS über unterschiedliche chemische und biochemische Pfade unter verschiedenen natürlichen Bedingungen gebildet, weshalb keine verbindlichen Genesepfade und Reaktionsmechanismen angegeben werden können [15] [17] [18].

Böden sind der primäre Bildungs- und Wirkungsort für Huminstoffe. Durch partielle mikrobielle Zersetzung abgestorbener Pflanzenteile und Tierrückstände sowie Exkremente der Bodentiere entstehen unter dem Einfluss von Enzymen aus hochpolymeren Verbindungen aliphatische und aromatische Einzelbausteine, die die Ausgangsstoffe für Huminstoffe sind. Die Umwandlung der organischen Substanz in Huminstoffe wird als Humifizierung bezeichnet. Aus den aromatischen Fragmenten werden über radikalische Zwischenstufen in der sogenannten Radikalphase die Huminstoff-Vorstufen (HsV) gebildet, bei deren Umsetzung auch andere, im Boden vorhandene anorganische und organische Verbindungen in das Huminstoffsystem eingebaut werden [19]. Auf diese Weise entsteht ein System uneinheitlicher, aber stabilisierter Naturstoffe. Das in Abbildung 2 gezeigte Modell betont das besondere Reaktionsvermögen bestimmter Zwischenstufen bei der Huminstoffgenese.

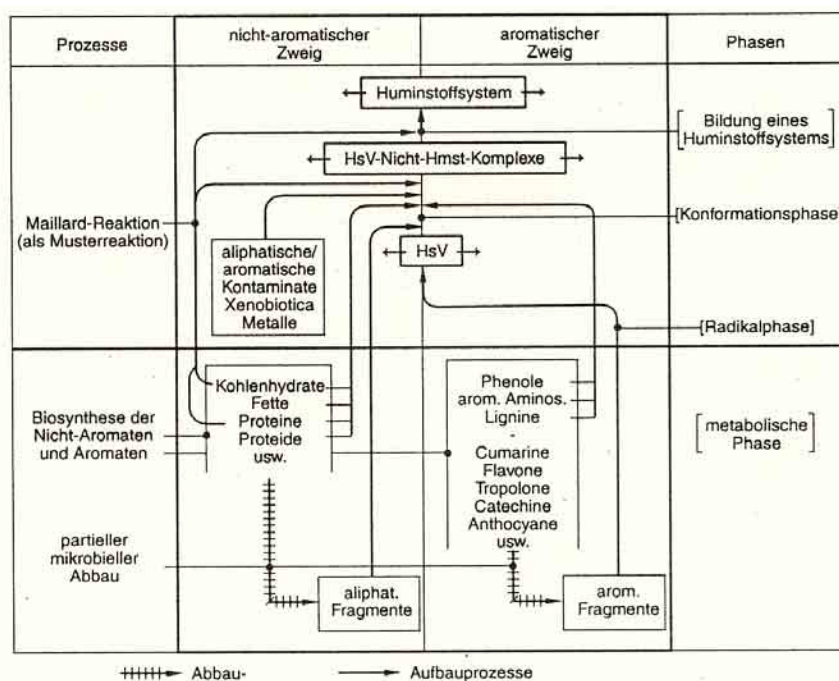


Abbildung 2: Zur Genese von Huminstoffen [17] (HsV: Huminsäure-Vorstufen, Hmst: Huminstoff)

Jedes Partikel kann mit jedem anderen reagieren, weshalb als Folge zufälliger Ereignisse weder ein linearer Reaktionsverlauf noch eine definierte chemische Konstitution der Endprodukte zu erwarten ist.

Durch Auswaschungseffekte gelangen die pedogenen Huminstoffe in Grund- und Oberflächengewässer. Aquagene Huminstoffe entstehen dagegen primär durch Abbau und Ausscheidungen von Plankton [20]. Die im Wasser kolloidal gelösten Huminstoffe sind als aquatische Huminstoffe Gegenstand dieser Arbeit.

## 2.1.2 Zusammensetzung, Struktur und Eigenschaften

Die Zusammensetzung, Strukturen und Eigenschaften von Huminstoffen variieren aufgrund der verschiedenartigen Bildungswege stark und sind von den Bedingungen der Umgebung abhängig, in der sie gebildet wurden. Tabelle 1 beschreibt typische Eigenschaften.

**Tabelle 1: Typische Eigenschaften von Huminstoffen**

<i>Eigenschaften von Huminstoffen</i>			
<i>Stichwort</i>	<i>Eigenschaft</i>		
<b>Molekulargewicht</b>	Hochmolekulare Strukturen; einige 100 – mehrere 100.000 g/mol		
<b>Elementgehalte</b>	<i>Element</i>	<i>Mittlerer Wert [%]</i>	<i>Schwankung [%]</i>
	<b>C</b>	54	± 10
	<b>O</b>	33	± 8
	<b>H</b>	4,5	± 3
	<b>N</b>	2,7	± 2,6
	<b>S</b>	≤ 2	-
<b>P</b>	< 1	-	
<b>Grundbausteine</b>	Aromatische und aliphatische Strukturelemente, phenolische Hydroxygruppen und Etherbrücken		
<b>Säure</b>	Säurecharakter durch –COOH und phenolische Gruppen, Fähigkeit zum Kationenaustausch		
<b>Polyelektrolyte</b>	HS sind Polyelektrolyte		
<b>Komplexbildner</b>	Aufgrund von verschiedenen Donorfunktionen Komplexbildner für Metallionen; Spuren von reversibel oder irreversibel gebundenen Metallionen sind in HS immer vorhanden		
	Organische Schadstoffe werden von HS über Wasserstoffbrücken bzw. C-C-Verknüpfungen gebunden		
<b>Agglomerate</b>	In Lösung Bildung reversibler Agglomerate, in Abhängigkeit von den Faktoren im Milieu in dynamischem Gleichgewicht		
<b>Oberfl.-Aktivität</b>	Oberflächenaktivität durch hydrophile und hydrophobe Bestandteile		
<b>Spektroskopische Eigenschaften</b>	Ähnliche spektroskopische Eigenschaften; UV-Spektren fallen monoton ab; IR-Spektren haben breite, wenig charakteristische Banden; <sup>1</sup> H- und <sup>13</sup> C-NMR-Spektren weisen breite Signale auf		



Huminstoffe bestehen aus verschiedenen Bausteinen, vor allem Lignin, Polysacchariden, Proteinen, OH-haltigen aromatischen (Poly-) Carbonsäuren, Chinonen, Zuckerbruchstücken, sauerstoff- und stickstoffhaltigen Heterocyclen und verschiedenen Aminosäuren. Die Moleküleinheiten sind durch verschiedene Brücken (-O-, =NH, =CH<sub>2</sub>, -N=, =C=O, -S-, auch längere Kohlenwasserstoffketten) in unterschiedlichen Mengenverhältnissen miteinander verknüpft [21]. Huminstoffe besitzen trotz ihres polydispersen Charakters typische chemische und physikalische Eigenschaften, die sie als Stoffgruppe auszeichnen [19] [22] (s. Tabelle 1).

Die Eigenschaften von Huminstoffen hängen eng mit Art und Menge der enthaltenen funktionellen Gruppen zusammen. Einige funktionelle Gruppen sind mit ihrer wichtigsten Herkunft und Wirkung auf die Eigenschaften von Huminstoffen in Tabelle 2 aufgeführt.

**Tabelle 2: Funktionelle Gruppen von Huminstoffen: Herkunft und Wirkung [21]**

<i>Wichtige funktionelle Gruppen von HS und ihre Wirkungen</i>		
<i>Funktionelle Gr.</i>	<i>Wichtigste Herkunft</i>	<i>Wirkung</i>
<b>-OH</b> Hydroxyl (Phenol)	Phenole, Lignin	Säure
<b>-OH</b> Hydroxyl (Alkohol)	Alkohole, Coniferylalkohol (Stoffwechselprodukte)	Komplexbildung, H-Brückenbildung
<b>-COOH</b> Carboxyl	Carbonsäure, Aminosäuren, (meist Oxidationsprodukte von Kohlenhydraten und ähnl. Verbindungen)	Säure
<b>=C=O</b> Carbonyl (Chinon)	Oxidation von Phenolen	Komplexbildung, H-Brückenbildung
<b>R-O-R</b> Ether	Kohlenhydrate, Lignine	
<b>-OCH<sub>3</sub></b> Methoxyl	Lignine	
<b>-NH<sub>2</sub></b> Amino	Aminosäuren, Aminosucker, Proteine	Komplexbildung, Base, H-Brückenbildung
Heterocyclischer N	Heterocyclen, Melanine	Komplexbildung, Base, H-Brückenbildung

Huminstoffe können aufgrund ihrer heterogenen Zusammensetzung nicht nach strukturchemischen Gesichtspunkten unterteilt werden. Die Substanzklasse wird stattdessen auf der Basis einer alkalischen Extraktion in die Fraktionen Fulvinsäure, Huminsäure und Humine eingeteilt. Die Huminstoff-Fraktionen und ihre operationellen Definitionen sind in Tabelle 3 aufgeführt [17] [21] [23].

**Tabelle 3: Operationelle Definitionen von Huminstoff-Fraktionen**

<i>Operationelle Definitionen von Huminstoff-Fraktionen</i>	
<i>Fraktion</i>	<i>Definition</i>
<b>Huminsäuren</b>	Organische Stoffe, die aus einem alkalischen Huminstoff-Extrakt durch Zusatz von Säure bei einem pH-Wert von $\leq 2$ ausgefällt werden.
<b>Fulvinsäuren</b>	Organische Substanz, die aus einem alkalischen Huminstoff-Extrakt nach Zusatz von Säure bei einem pH-Wert von $\leq 2$ nicht ausgefällt wird.
<b>Humine</b>	Unlöslicher Anteil der Huminstoffe in Natronlauge.

Die Fulvinsäuren unterscheiden sich von den Huminsäuren einer Probe im wesentlichen durch ihr niedrigeres Molekulargewicht, durch den im Mittel höheren Sauerstoff-, geringeren Kohlenstoff- und Stickstoffanteil und durch den meist höheren Gehalt an funktionellen Gruppen. Der Anteil an Polysaccharid-Bausteinen kann bei Fulvinsäuren bis zu 30 % betragen, aromatische Komponenten sind kaum vorhanden. Fulvinsäuren sind ebenso wie ihre Salze, die Fulvate, wasserlöslich und vermögen Mangan(IV)- und Eisen(III)-oxide unter Reduktion zu lösen und Metallionen komplex zu binden.

Die Huminsäuren besitzen ein höheres Molekulargewicht, enthalten mehr aromatische Anteile und Methylengruppen, aber weniger Polysaccharidfragmente als die Fulvinsäuren. Huminsäuren sind in Wasser schwerlöslich und bilden auch mit mehrwertigen Kationen (Calcium, Magnesium, Eisen und Aluminium) schwerlösliche Verbindungen, die sogenannten Humate. Die höhere Löslichkeit in Natronlauge beruht neben der Wirkung des Natriumkations darauf, dass durch Dissoziation von schwach sauren Gruppen die pH-abhängige Ladung der Huminsäuren erhöht und damit die Hydratisierung erleichtert wird. Ferner werden durch die pH-Erhöhung bestehende Bindungen zu anderen Humaten gelöst. Der Säurecharakter der Huminsäuren und damit auch die Fähigkeit zum Kationenaustausch beruht wie bei den Fulvinsäuren vorwiegend auf der Anwesenheit von Carboxyl- und phenolischen OH-Gruppen.

Tabelle 4 fasst allgemeine Eigenschaften der Huminstoff-Fractionen in Form von generellen Tendenzen zusammen.

**Tabelle 4: Allgemeine Eigenschaften von Huminstoff-Fractionen [21]**

<i>Huminstoff-Fractionen und ihre Eigenschaften</i>			
<i>Merkmal</i>	<i>Huminstoff-Fraktion</i>		
	<i>Fulvinsäuren</i>	<i>Huminsäuren</i>	<i>Humine</i>
<b>Farbe</b>	Gelb/ Gelbbraun	Braun/ Tiefbraun	Schwarz
<b>C-Gehalt [%]</b>	43 - 52	50 - 62	> 60
<b>N-Gehalt [%]</b>	0,5 - 2	3 - 8	Unterschiedlich
<b>Molekulargewicht</b>	800 - 9000	Zunehmend bis $10^5$	Unterschiedlich
<b>Molekülbausteine</b>	Mehr Polysaccharide	Mehr Aromaten	Unterschiedlich (teilw. wenig zersetzte Tier- und Pflanzenreste)
<b>Innere Vernetzg.</b>	Zunehmend von Fulvinsäuren über Huminsäuren zu Huminen		
<b>Löslichkeit</b>	Abnehmend von Fulvinsäuren über Huminsäuren zu Huminen		
<b>Funktionelle Gr.</b>	Abnehmend von Fulvinsäuren über Huminsäuren zu Huminen		
<b>O-Gehalt</b>	Abnehmend von Fulvinsäuren über Huminsäuren zu Huminen		
<b>Säurestärke</b>	Abnehmend von Fulvinsäuren über Huminsäuren zu Huminen		

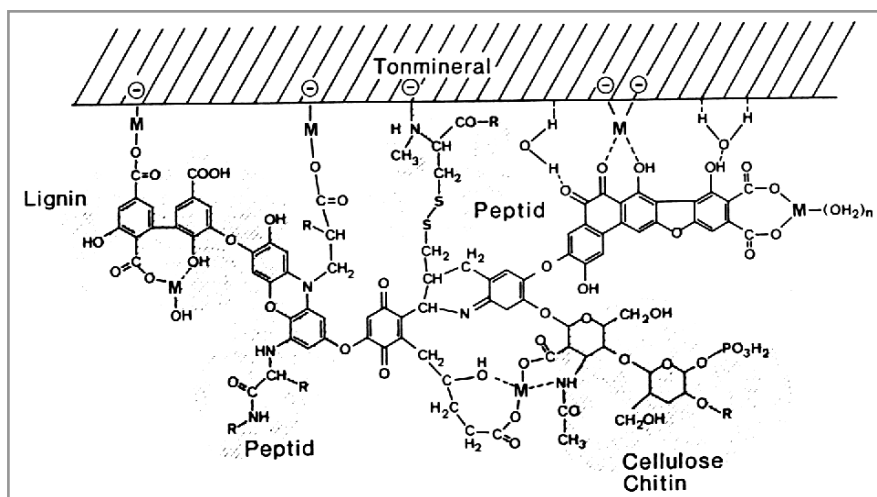
In aquatischen Systemen machen Fulvinsäuren aufgrund ihrer Löslichkeit den größten Anteil der Huminstoffe aus. Typischerweise bestehen 90 % des gelösten Huminstoffmaterials in natürlichen Gewässern aus Fulvinsäuren und die restlichen 10 % aus Huminsäuren [15]. Daher wird den Fulvinsäuren in der vorliegenden Arbeit besondere Aufmerksamkeit zgedacht.

Die große Zahl möglicher Ausgangsstoffe, die komplexe Genese und das Fehlen von reaktionssteuernden Mechanismen sind der Grund dafür, dass Huminstoffe keine einheitliche Strukturformel besitzen. Es wird davon ausgegangen, dass zumindest für Huminstoffe mit höherer Molmasse in einer Probe keine zwei identischen Moleküle existieren [17] [24]. Selbst wenn es gelänge, die Struktur eines Huminstoffpartikels aufzuklären, wäre das Ergebnis nicht von großem Nutzen, da die weiteren in einer Probe vorliegenden Moleküle andere Strukturen

besitzen. Die von außen beobachteten Eigenschaften von Huminstoffen sind also als Summe vieler verschiedener Einzeleigenschaften zu verstehen; dies zeigt sich auch bei der Charakterisierung von Huminstoffen: mit verschiedenen Methoden werden breite Misch-Signale erhalten.

Durch Fraktionierungen von Huminstoffen kann generell der Grad der Polydispersität reduziert werden. Die Tatsache, dass Huminstoffe aus einer komplexen und heterogenen Mischung von Verbindungen bestehen, zeigt sich an den fehlgeschlagenen Versuchen, diese Materialien in Fraktionen diskreter Verbindungen aufzutrennen. Mit den verschiedensten Trennmethoden konnten lediglich Fraktionierungen erreicht werden, die in der Lage waren, den Grad der Heterogenität der Proben zu ermitteln und zu reduzieren [25], aber keine konnte auch nur annähernd ein Material isolieren, das als *reiner Huminstoff* („rein“ im klassischen Sinne wie „reine Chemikalie“ oder „reine Gruppe von Chemikalien“) zu bezeichnen wäre. In dieser Hinsicht repräsentieren Huminstoffe eine einzigartige Kategorie von Naturstoffen, die wesentlich durch ihre Heterogenität gekennzeichnet ist [15].

Dennoch ist es für die Beschreibung und das Verständnis der Charakteristika von Huminstoffen nützlich, Strukturmodelle zu kennen, wenn man sich ihrer Schwächen, vor allem der Tatsache, dass sie nicht die Realität darstellen, bewusst ist. Ein mögliches Molekülmodell, das die wichtigsten der bisher nachgewiesenen Atomgruppierungen und ihre ungefähren Mengenverhältnisse widerspiegelt, ist in Abbildung 3 aufgeführt. Es ist aus den Ergebnissen verschiedener Untersuchungsmethoden entwickelt worden.



**Abbildung 3: Strukturschema eines Huminstoffmoleküls und seiner Bindung an die Oberfläche eines Tonminerals [21]**

*Einzelne Reststücke größerer Moleküle sind erkennbar. M sind Metallkationen*

Das Strukturschema zeigt Reststücke größerer Moleküle, die Verteilung von Heteroatomen wie N und S und die Komplexbildung von Metallkationen durch funktionelle

Gruppen. Neben aromatischen und aliphatischen Funktionen findet man in der Struktur Nicht-Huminstoffe (Peptide, Zucker, Metallionen) wieder. Die Bindung an Tonminerale erfolgt durch Komplexbindung, kovalente Bindung oder Wasserstoffbrückenbindung.

Ein weiterer Strukturvorschlag (Abbildung 4) betont in besonderem Maße den Einbau von Metall- und Schwermetallkationen durch Komplexierung in das Huminstoffmolekül. Dabei sind Liganden sehr unterschiedlicher Art berücksichtigt. Ferner sind Funktionalitäten wie Carboxyl- und Phenolgruppen zu erkennen, welche wesentlich zur Wasserlöslichkeit von Huminstoffen beitragen.

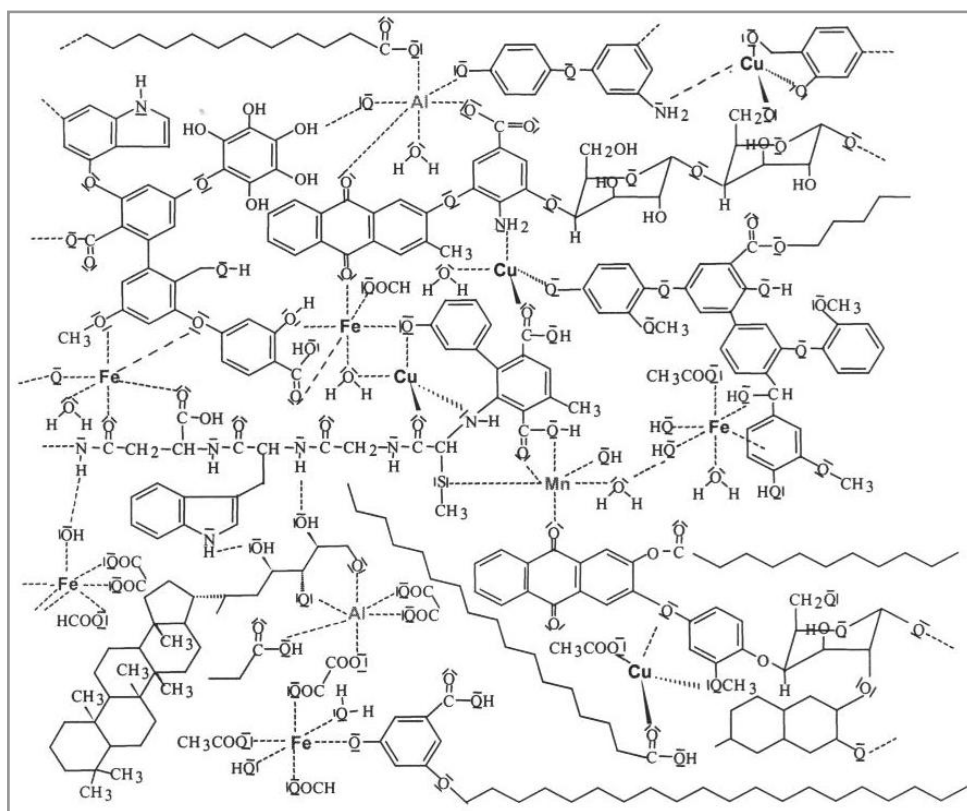


Abbildung 4: Huminstoff-Strukturmodell nach Kleinhempel [26]

### 2.1.3 Komplexierung von Metallionen

Huminstoffe haben durch ihre verschiedenen funktionellen Gruppen, die als Donator und Akzeptor für Protonen und Metallkationen wirksam sind, ein vielschichtiges Komplexierungs- und Koagulationsverhalten. Sie binden anorganische und organische Schadstoffe sowohl adsorptiv als auch kovalent. Hierdurch können im Boden Verbindungen, die in Wasser schwerlöslich sind, wie z.B. polyzyklische Biphenyle oder auch Schwermetallionen, mobilisiert werden und in Grund- und Oberflächenwässer gelangen [27].

Die Bindung organischer Schadstoffe an Huminstoffe ist in der Fachliteratur [28] [29] [30] [31] [32] [33] [34] eingehend beschrieben.

Schwermetallionen können in Huminstoffmoleküle eingebaut werden. Die gebildeten Schwermetallkomplexe sind in der Regel weniger toxisch als die freien Kationen. Der Schadstoff kann jedoch unter Veränderung des Milieus wieder freigesetzt werden [35]. Ausführliche Abhandlungen über die kationenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen sind in [36] [37] [38] [39] [40] [41] zu finden, weitere und stärker konkretisierte Aspekte der Komplexierung von Schwermetallionen werden in [42] [43] [44] [45] [46] [47] [48] [49] dargestellt.

Das Komplexierungsverhalten von Huminstoffen in Gewässern hängt von verschiedenen Faktoren wie Ionenstärke, Konzentration von Humin- und Schadstoff, pH-Wert und Redoxpotential ab [17]. Das Schema in Abbildung 5 verdeutlicht verschiedene Aspekte der Metallionenbindung in aquatischen Huminstoffen, die bei einer analytischen Charakterisierung („Speziation“) zu berücksichtigen sind [40].

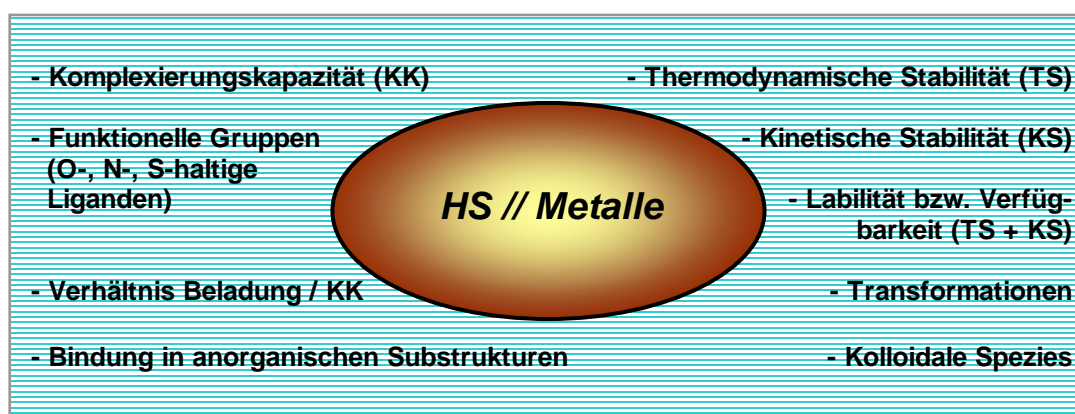


Abbildung 5: Metallbindung in aquatischen HS: wichtige Einflussgrößen [40]

Die Bindung der Metallionen an organische Komplexbildner findet durch funktionelle Gruppen mit Donoreigenschaften statt (vgl. Abschnitt 2.1.2). Dabei kann die Bindung durch elektrostatische Kräfte zwischen den positiv geladenen Metallionen und negativ geladenen funktionellen Gruppen und/oder durch kovalente Bindung mit Elektronenpaaren der funktionellen Gruppen erfolgen. Die Bindung der Metallionen an die organischen Liganden erfolgt bei COOH-Gruppen und z.T. auch bei phenolischen OH-Gruppen unter Abgabe von Protonen. Wenn ein Metallion durch zwei oder mehrere funktionelle Gruppen der Komplexbildner unter Bildung von 5- oder 6gliedrigen Ringen eingeschlossen wird, entstehen Komplexe hoher Stabilität, die als Chelate bezeichnet werden [21].

In Abhängigkeit von den Eigenschaften und der Konzentration der jeweiligen Metallionen und Komplexbildner entstehen lösliche metallorganische Komplexe sehr unterschiedlicher

Art und Stabilität, die meist negativ geladen sind [21]. Dadurch wird die Löslichkeit der Metallionen vor allem bei pH-Werten oberhalb 5 bis 6 im Vergleich zu rein anorganischen Lösungsgleichgewichten beträchtlich erhöht. Bei pH-Werten um oder über 7 liegen viele Schwermetallionen fast hundertprozentig komplexiert vor [50] [51]. Bei pH-Werten unterhalb von 3 - 4 werden schwächere Komplexe durch die erhöhte Protonenkonzentration wieder aufgespalten und die gebundenen Metallionen freigesetzt.

Die Löslichkeit metallorganischer Komplexe wird in starkem Maße vom Molverhältnis zwischen Komplexbildner und Metallion bestimmt. Bei einem Überschuss von Fulvinsäuren können Verbindungen hoher Löslichkeit mit einem Molverhältnis von Komplexbildner zu Metallion von 2:1 bei zweiwertigen Kationen gebildet werden. Mit zunehmendem Metallionenangebot entstehen Komplexe mit einem Molverhältnis von 1:1 und schließlich unlösliche Komplexe mit einem Molverhältnis von  $< 1$  [52]. Neben Chelaten können bei höherem Metallionenangebot auch einfache Komplexe zwischen Metallionen (M) und Carboxylgruppen, z.B. des Typs  $-\text{COOM}(\text{OH})$ , gebildet werden.

Als Maß für die Stabilität metallorganischer Komplexe werden oft Stabilitätskonstanten verwendet, denen nach dem Massenwirkungsgesetz die folgende Gleichung zugrunde liegt:

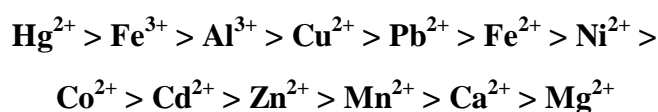
$$K = \frac{[M_a L_b]}{[M]^a [L]^b}$$

mit  $M$ : Metallion,  $L$ : Ligand (organischer Komplexbildner),  $a$  und  $b$ : stöchiometrische Zahlen

Die Höhe der Stabilitätskonstanten  $K$  hängt dabei weitgehend von der Stöchiometrie der Komplexe und damit von der Zahl der Mole  $a$  und  $b$  ab. Da diese bei Huminstoffen in der Regel nicht bekannt ist, werden die Komplexstabilitäten meist für einen hypothetischen 1:1-Komplex der Zusammensetzung  $ML$  angegeben [53] [54].

Für metallorganische Komplexe in Böden und aquatischen Systemen ist die Ermittlung von Stabilitätskonstanten sehr schwierig, da mit den Huminstoffen eine Vielzahl sehr verschiedener Komplexbildner nebeneinander vorliegt. In der Literatur angegebene Stabilitätskonstanten für Fulvin- und Huminsäure-Metallkomplexe sind damit stark von den vorherrschenden Reaktionsbedingungen und Auswerteverfahren abhängig und werden deshalb als ‚konditionelle‘ Stabilitätskonstanten bezeichnet. Oft werden die Werte für einen pH-Bereich von 5 - 5,5 angegeben.

Im allgemeinen nimmt die Stabilität der Komplexe in folgender Reihenfolge ab [52] [55]:



Die **Komplexierungskapazität** (KK) eines aquatischen Huminstoffs bezeichnet die maximal erzielbare Beladung mit Metallionen, die in gelöstem Zustand noch gebunden

werden kann [40]. Dabei wird die Gesamtheit aller metallionenbindenden Liganden in Huminstoffen unter dem summarischen Parameter Komplexierungskapazität in mmol/g Huminstoff bzw. mmol/g DOC des gelösten Huminstoffs zusammengefasst, ähnlich wie bei den funktionellen Gruppen eines chelatbildenden Ionenaustauschers. Die Komplexierungskapazität ist von der Art der gebundenen Metallionen abhängig: Je stärker bestimmte Metallionen, z.B.  $\text{Cu}^{2+}$  im Vergleich zu  $\text{Ca}^{2+}$ , vom Huminstoff komplexiert werden, desto höher liegt seine Komplexierungskapazität gegenüber diesen Ionen. Das Metallionenbindungsvermögen eines Huminstoffs wird operationell fast ausschließlich als  $\text{KK}_{\text{Cu(II)}}$  charakterisiert, da  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen besonders fest von Huminstoffen gebunden werden und dieser Beladungsvorgang analytisch relativ einfach und nachweisstark verfolgt werden kann. Komplexierungskapazitäten können mit elektrochemischen Methoden, Cu(II)-sensitiven Elektroden (ISE), Fluoreszenz-Spektrometrie oder Ultrafiltration, gekoppelt mit Atomspektrometrie bestimmt werden.  $\text{KK}_{\text{Cu(II)}}$ -Werte für aquatische Huminstoffe bewegen sich meist im Bereich von 1 bis 2,5 mmol Cu(II)/g DOC [40].

Huminstoffmoleküle haben keine feste Größe, sondern weisen ein Koagulationsverhalten auf, das von der Huminstoffkonzentration und dem Redoxpotential beeinflusst wird. Die kolloidal gelösten Huminstoffpartikel können durch Aggregation oder Ausflockung in sedimentierende oder filtrierbare Festformen übergehen. Ein Aggregationsprozess kann durch Adsorption entgegengesetzt geladener Ionen, wie im Falle der Komplexierung von Schwermetallkationen, oder durch eine hohe Elektrolytkonzentration hervorgerufen werden [56]. Im aquatischen Ökosystem finden etliche Transport- und Koagulationsprozesse statt, an denen physikalische, chemische und biologische Reaktionen beteiligt sind. So kann, wie in Abbildung 6 schematisch gezeigt ist, ein Übergang von der gelösten über die suspendierte in die Sediment-Phase stattfinden.

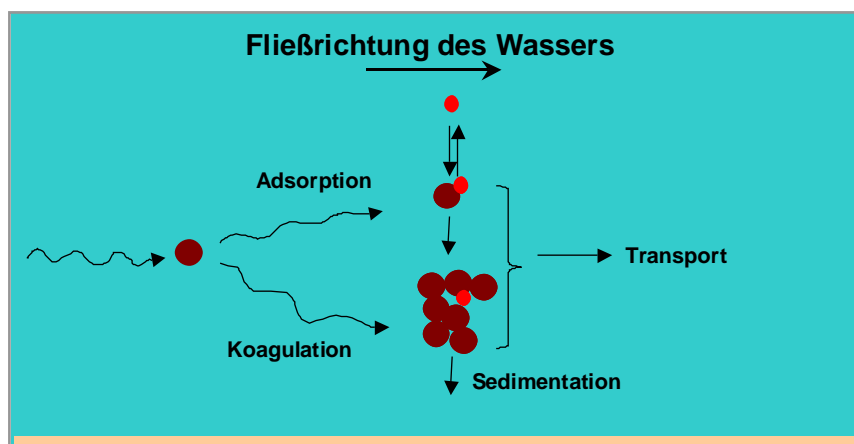


Abbildung 6: Schematische Darstellung des Transports essentieller und toxischer Verbindungen (kleine rote Kreise) durch kolloidale Träger (große braune Kreise) in Oberflächengewässern (nach Buffle [1])



## 2.1.4 Anreicherung und Isolierung von Huminstoffen

Oberflächengewässer weisen einen Gehalt an gelöstem organischen Kohlenstoff von etwa 1 bis 50 mg/L auf [57]. Zwischen 50 und 80 % hiervon sind den Huminstoffen zuzuordnen [58]. Für viele Untersuchungen ist es notwendig, die Huminstoffe von der unbekannt Matrix des natürlichen aquatischen Systems abzutrennen und sie in eine Lösung mit definierten Bedingungen zu überführen. Bei einem Großteil der Analysemethoden kommt hinzu, dass die natürliche Huminstoffkonzentration zu niedrig ist, so dass Anreicherungs- und Isolierungsmethoden notwendig sind. In Tabelle 5 sind gängige Methoden aufgeführt.

**Tabelle 5: Gängige Methoden zur Isolierung und Aufkonzentrierung aquatischer organischer Substanzen [59] [60] [61] [62]**

<i>Methoden zur Anreicherung/ Isolierung aquatischer organischer Substanzen</i>		
<i> Methode</i>	<i> Bewertung der Methode</i>	
	<i> Vorteile</i>	<i> Nachteile</i>
<b>Gefriertrocknung</b>	Geringe Denaturierung Hohe Aufkonzentrierung	Langsame Prozedur Anorganische Ionen verbleiben in der Probe
<b>Eindampfen</b>	Geringe Denaturierung bei niedriger Temperatur	Anorganische Ionen verbleiben in der Probe
<b>LM-Extraktion</b>	Fraktionierung der Organik	Limitierte Löslichkeit, je nach Polarität
<b>Reverse Osmose</b>	Großer Volumendurchsatz möglich Schnelle Prozedur Keine Artefaktbildung	Membranalterung Gemeinsame Aufkonzentrierung der meisten gelösten Stoffe
<b>Ultrafiltration</b>	Schnelle Prozedur Fraktionierung möglich Keine Artefaktbildung	Membranalterung Wenig definierte Fraktionierung, je nach Größe und Ladung
<b>Sorption/ Desorption</b>	Leicht kontrollierbar Großer Volumendurchsatz Harze können regeneriert werden	Ausbluten des Harzes Irreversible Sorption Artefaktbildung durch hohen pH-Gradienten
Möglichkeiten der Extraktion von HS aus Böden und Sedimenten sind in [63] [64] [65] [66] [67] beschrieben		

Jeder Eingriff in das aquatische System führt zu einer Veränderung der Huminstoffstruktur. Daher muss die Art der Anreicherung von Huminstoffen auf das Untersuchungsziel abgestimmt sein, denn jede Methode liefert verfahrensspezifische Produkte. Eine wünschenswerte Analytik in situ, also an der Original-Wasserprobe ohne Aufkonzentrierung, ist mit vielen Analysemethoden nicht möglich. Von der Vielzahl der eingesetzten Anreicherungsverfahren sind die XAD-Methode und die Ultrafiltration die gängigsten.

Bei der **XAD-Methode** wird ein Adsorberharz zur Anreicherung der Huminstoffe aus dem Wasser verwendet. Von der *International Humic Substances Society* (IHSS) wurde eine Standardmethode ausgearbeitet [68] [69], bei der das Adsorberharz XAD-2, ein unpolares Polystyroldivinylbenzol, verwendet wird. Statt des XAD-2 wird oft auch das stärker polare Polyacrylsäure-Harz XAD-8 mit größeren Porenvolumina verwendet [70] [71] [72] [73].

Abbildung 7 zeigt schematisch die Isolierungsprozedur nach der XAD-Methode.

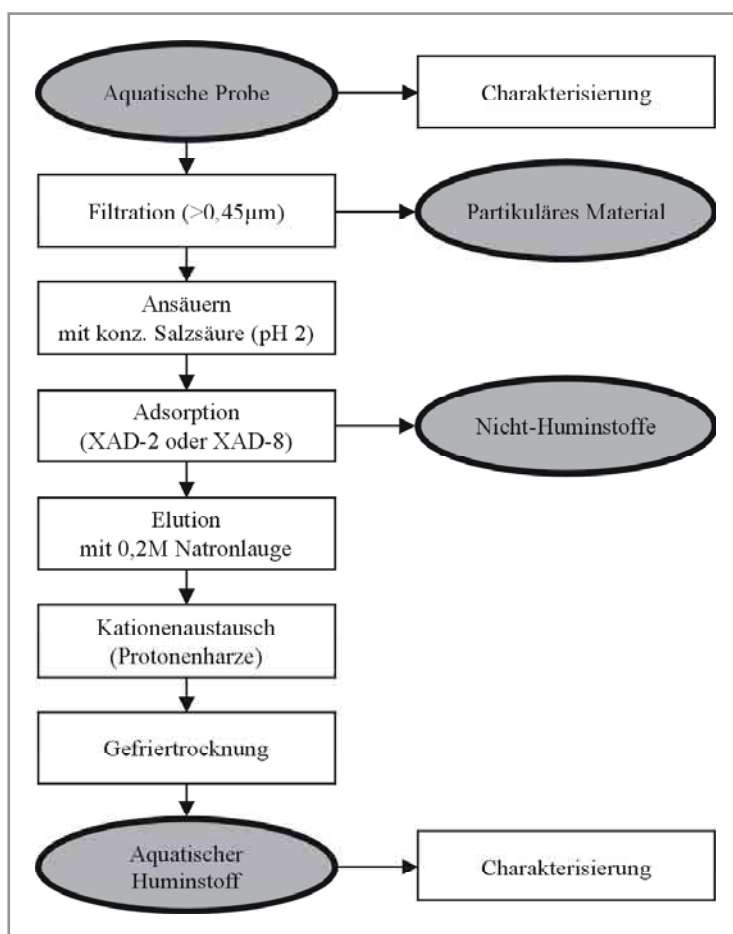


Abbildung 7: Schema der XAD-Isolierungsprozedur für aquatische Huminstoffe [74]

Das durch Membranfilter der Porenweite 0,45  $\mu\text{m}$  filtrierte und mit konzentrierter HCl auf einen pH-Wert von 2 angesäuerte Wasser wird über eine mit XAD-Harz gefüllte Säule gegeben. Bei dem niedrigen pH-Wert sind die Säuregruppen der Huminstoffe abgesättigt, so dass sie auf dem unpolaren Adsorberharz adsorbiert werden, das aufgrund einer großen spezifischen Oberfläche eine hohe Austauschkapazität besitzt. Im Alkalischen liegen Huminstoffe dagegen ionisch vor, so dass sie mit 0,2 molarer Natronlauge fast vollständig eluiert werden können.

Im Eluat kann anschließend aufgrund der unterschiedlichen Säurelöslichkeit (vgl. Abschnitt 2.1.2) durch Ansäuern eine Trennung zwischen Humin- und Fulvinsäuren erreicht werden. Um die Humin- und Fulvinsäuren in protonierter Form zu erhalten, wird das Eluat über eine Kationenaustauschersäule gegeben und die Lösung anschließend gefriergetrocknet. Je nach Gewässertyp gestattet die Methode, bis zu 80 % des DOC als salzfreie Huminstoffe zu isolieren. Die großen pH-Sprünge verursachen jedoch Denaturierungen. Außerdem wird bei der Adsorption der Huminstoffe bei niedrigem pH-Wert ein Großteil der ursprünglich komplexierten Metallionen abgetrennt [23].

Bei der **Ultrafiltration** [61] [75] [76] erfolgen Anreicherung bzw. Fraktionierung der Huminstoffe unter Druck und/oder im Tangentialfluss durch Membranen mit Ausschluss- bzw. Trenngrenzen von 500 bis 500.000 g/mol, was ungefähren Moleküldurchmessern zwischen 5 und 500 nm entspricht (Abbildung 8 und Abbildung 9).

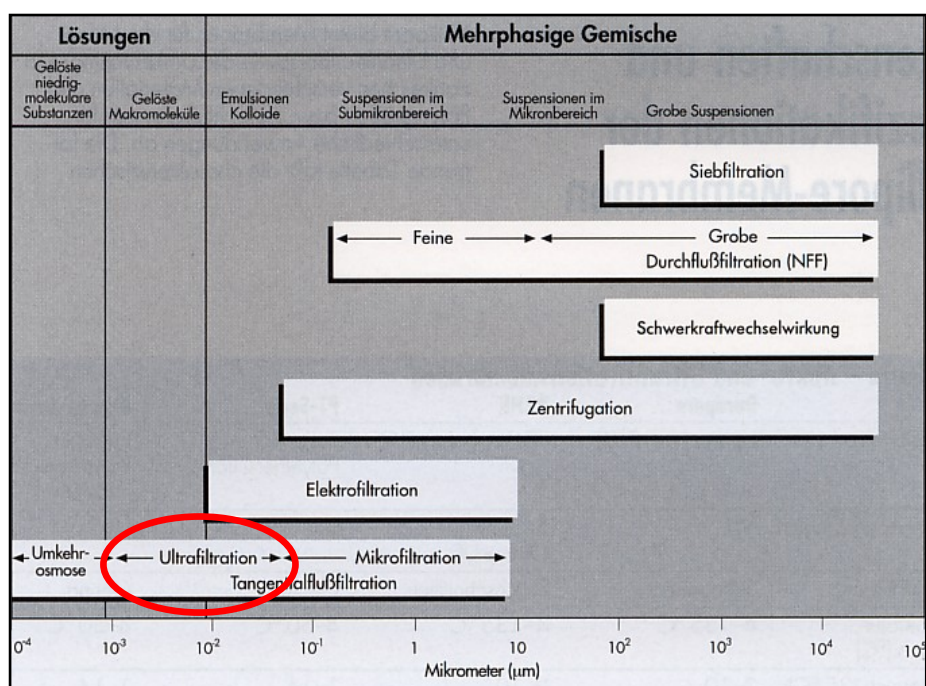
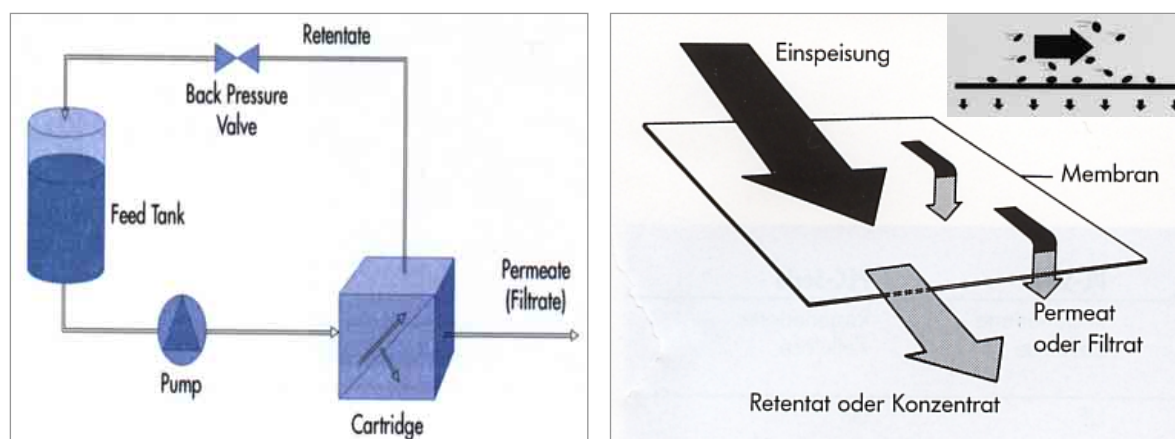


Abbildung 8: Anwendungsbereich der Ultrafiltration: Gelöste Makromoleküle und Kolloide [77]



**Abbildung 9: Funktionsweise der Ultrafiltration im Tangentialfluss [77]**

*Die aufzukonzentrierende Lösung wird im Kreislauf gepumpt und strömt damit tangential über die Membranoberfläche. Kleine Moleküle oder Kolloide passieren die Membran und gelangen ins Permeat, die größeren werden im Retentat aufkonzentriert*

Die Trennwirkung einer Ultrafiltrationsmembran beruht im wesentlichen auf Siebeffekten und auf Wechselwirkungen mit den Porenwänden. Man geht davon aus, dass der gesamte Stofftransport durch die Membran ausschließlich über die Membranporen erfolgt, die mit Flüssigkeit gefüllt sind. Die Porenradienverteilung in der Membran stellt einen wichtigen Trennparameter dar. Eigenschaften der gelösten Substanzen wie die effektiven Moleküldurchmesser sowie Form und Flexibilität der Teilchen spielen ebenfalls eine Rolle.

Wenn es das Ziel ist, Huminstoffe mit den komplexierten Metallionen anzureichern, ist die Ultrafiltration der XAD-Methode vorzuziehen. Der Huminstoff ist bei dieser Art der Anreicherung und Isolierung ebenfalls, und zwar auf eine andere Art, operationell definiert. Statt über Löslichkeiten und Adsorptionseigenschaften steht hier die Anreicherung oder Fraktionierung allein nach Molekülgrößen im Vordergrund, wobei zu bedenken ist, dass je nach Ausschlussgrenze (MWCO) der zur Huminstoffanreicherung eingesetzten Membrane immer ein gewisser Teil des DOC ins Permeat übergeht und sich dadurch der Charakterisierung der im Retentat angereicherten Materie entzieht. Bei der Ultrafiltration wird der Erhalt eines möglichst ‚reinen‘ Huminstoffs gar nicht erst angestrebt, sondern der Erhalt von angereicherter gelöster organischer (und teilweise auch anorganischer) Materie (DOM, dissolved organic matter), so wie sie in einem aquatischen System vorliegt. Allerdings treten auch bei der Ultrafiltration Membraneffekte auf [78] und es wird eine deutliche anorganische Matrix im Konzentrat gefunden [59].

Zusätzlich zur Anreicherung können sowohl die XAD- als auch die Ultrafiltrationsmethode mit Membranen unterschiedlicher Ausschlussgrenzen zur Fraktionierung einer Huminstoffprobe eingesetzt werden. Im Falle der XAD-Methode werden

Huminsäuren bzw. Fulvinsäuren erhalten, die Ultrafiltration führt zu verschiedenen Größenfraktionen.

### 2.1.5 Modellsubstanzen für Huminstoffe

Natürliche Huminstoffe haben aufgrund ihrer Polydispersität eine schwer zu charakterisierende Struktur. Die Gehalte an C, H, N, O und S und an funktionellen Gruppen wie Carboxylat und phenolischem OH variieren in weitem Rahmen. Dies führt zu Eigenschaften, die bezüglich Reaktivität, Bindung und Transport von Schwermetallionen und Xenobiotika sehr komplex sind.

Für ein besseres Verständnis des Einflusses bestimmter Elemente oder Gruppen auf die Eigenschaften, und zur Kalibration analytischer Methoden wurden wohldefinierte Modellsubstanzen synthetisiert, die den natürlichen Huminstoffen in verschiedenen physikochemischen Eigenschaften ähnlich sind und als synthetische Modellsubstanzen für Huminstoffe dienen. Flaig [79] zeigte, dass das von Eller und Koch [80] zur Synthese von Huminstoffmodellen verwendete Hydrochinon und das im Redoxgleichgewicht stehende p-Benzochinon beim mikrobiellen Abbau des Lignins als Zwischenstufen auftreten und Grundbausteine der natürlichen Huminstoffsynthese darstellen.

Basierend auf den Arbeiten von Eller und Koch [80] sowie Erdtman und Granath [81] wurden in unserem Arbeitskreis durch Herdering, Grunwald und Tambo [82] [83] [84] [85] gezielt Huminstoffmodelle mit variierenden Stickstoff-, Schwefel- und Carboxylgruppengehalten hergestellt. Die Synthese der Huminstoffmodelle erfolgte hauptsächlich aus Hydrochinon in wässriger Natriumkarbonatlösung durch Oxidation mit Luftsauerstoff. Ein Einbau von Stickstoff und Schwefel erfolgte durch Zugabe von Glycin bzw. Cystin. Abbildung 10 zeigt die verwendete Synthesestrategie.

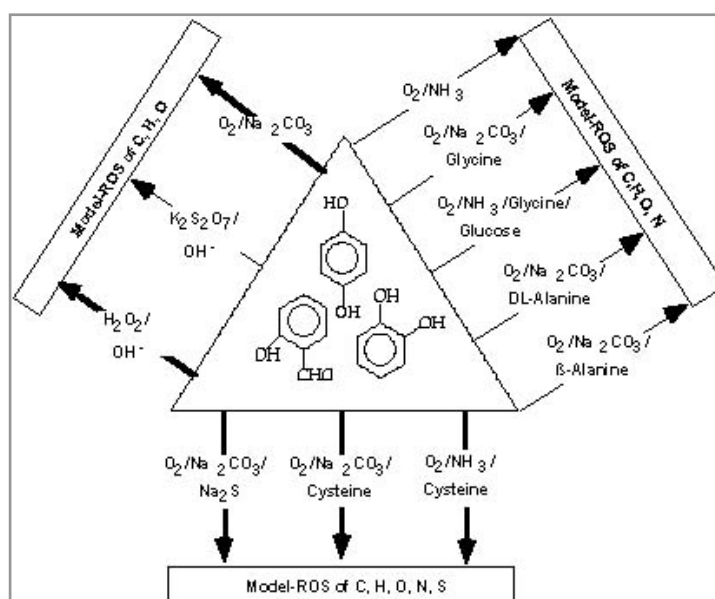


Abbildung 10: Strategie zur Herstellung von Huminstoffmodellen nach Herdering [82]

In der Mitte des gleichseitigen Dreiecks sind mögliche Ausgangssubstanzen wie Hydrochinon dargestellt. Die nach links oben gerichtete Seite des Dreiecks zeigt Möglichkeiten der Synthese von Huminstoffmodellen, die lediglich die Elemente C, H und O enthalten. Auf der nach rechts oben zeigenden Seite sind Reaktionsbedingungen aufgeführt, die zu Modellen führen, die neben C, H und O auch N enthalten. An der Dreiecksbasis stehen Reaktionsbedingungen, die Synthesemöglichkeiten für C-, H-, O-, N- und S-haltige Modelle benennen. Durch systematische Variation der aufgeführten Reaktionsparameter wurden in unserem Arbeitskreis Huminstoffmodelle mit fein abgestuften Gehalten der genannten Elemente synthetisiert.

## 2.2 Basischarakterisierung von Huminstoffen

Das Grundproblem analytischer Untersuchungen an Huminstoffen ist die Tatsache, dass summarische Ergebnisse anfallen, die sich auf eine komplexe Stoffmischung beziehen und meistens auf breiten Analysensignalen mit geringer Auflösung bzw. Selektivität basieren [13] [41].

Eine Vielfalt von Analysemethoden ist zur Charakterisierung von Huminstoffen herangezogen worden. Grundlegend im Sinne einer allgemeinen Charakterisierung sind die DOC-Analytik, Elementaranalysen (C, H, N, O, S), strukturelle Charakterisierungen mit UV-VIS-, IR- und NMR-Spektroskopie sowie die Bestimmung der Gesamt-Metallgehalte mittels TRFA bzw. ICP-MS. Ein breiter Methoden-Überblick findet sich in [86] [87] [88]. Artikel, die sich übersichtlich mit einer allgemeinen bzw. Basischarakterisierung von Huminstoffen befassen, findet man in [89] [90] [91] [92] [93] [94].

**DOC-Bestimmung.** Die Konzentration gelöster Huminstoffe wird in Form des C-Gehalts als DOC-Wert angegeben. Aus dem DOC-Wert lässt sich die Gesamtsubstanzmenge abschätzen, da Kohlenstoff (mit 40 – 60 %) und Sauerstoff (mit 30 – 50 %) Hauptbestandteile von Huminstoffen sind. Für Gewässer lässt sich so in erster Näherung die Massenkonzentration der Huminstoffe durch die Verdoppelung ihres DOC-Wertes bestimmen [23].

**Elementaranalyse.** Hauptbestandteile von Huminstoffen sind Kohlenstoff, Sauerstoff, Wasserstoff, Stickstoff und Schwefel. Die jeweiligen Massenanteile charakterisieren eine Huminstoffprobe. Durch die Bildung von Atomverhältnissen (H/C, O/C und N/C) können markante Unterschiede verdeutlicht und Zugehörigkeiten zu verschiedenen Gruppen wie z.B. Fluss-, Boden- oder Moorwasserproben aufgezeigt werden. [23] [95]. Der Asche-Anteil enthält weitere Spurenstoffe, z.B. die fest an die Huminstoffmoleküle gebundenen Metallionen.

**UV-VIS-Spektroskopie.** Die UV-VIS-Spektren gelöster Huminstoffe weisen durch die Vielzahl unterschiedlicher Chromophore vom kurzwelligen zum langwelligen Bereich monoton abfallende Absorptionen auf. Die Absorption im UV-Bereich beruht hauptsächlich auf der Anregung einsamer Elektronenpaare z.B. von gebundenem Sauerstoff ( $n \rightarrow \pi^*$ ) oder C=C-Doppelbindungen ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ), da diese wesentliche Strukturbestandteile von Huminstoffen sind. Die auf den DOC bezogene Absorption bei 254 nm unterscheidet sich bei Huminstoffen unterschiedlicher Herkunft besonders stark [96].

Im sichtbaren Bereich führt die Absorption ( $a(436)/\text{DOC}$ ) zur Huminstoff-typischen gelbbraunen Farbe, die durch Chromophore wie chinoide Gruppen oder konjugierte C=C, C=O oder N=O Strukturen hervorgerufen wird. Das Verhältniss der Absorptionen bei 465 nm und 665 nm ( $E_4/E_6$ ) sinkt mit zunehmendem Molekulargewicht und kann zur Abschätzung des Humifizierungsgrades herangezogen werden [9]. Ein kleines Verhältnis zeigt einen relativ hohen Grad an Kondensation aromatischer Bestandteile an. Bei Fulvinsäuren ist das  $E_4/E_6$ -Verhältnis höher als bei Huminsäuren; es variiert nach den Ursprüngen der Huminstoffe. Zur Charakterisierung verschiedener Huminstoffe werden häufig auch die DOC-normierten Absorptionen bei 254 nm und 436 nm sowie deren Verhältnisse  $a(254 \text{ nm})/a(436 \text{ nm})$  herangezogen [90]. Die strukturelle Charakterisierung von Huminstoffen mit der UV-VIS-Spektroskopie wird eingehend in [97] [98] [99] [100] behandelt.

**IR-Spektroskopie.** Für die routinemäßige Strukturcharakterisierung von Huminstoffen ist die IR-Spektroskopie unersetzlich [101] [97] [102]. Sie ist in der Lage, bestimmte Strukturelemente bzw. Funktionalitäten wie O-H, C-H, C=O bzw. COOH, C=C (aliphatisch bzw. aromatisch) und C-O-Bindungen von Kohlenhydraten qualitativ zu erfassen [103] [104]. In Tabelle 6 sind IR-Absorptionsbanden aufgeführt, die für die Charakterisierung von Huminstoffen von Bedeutung sind.

**Tabelle 6: Wichtige IR- Absorptionsbanden von Huminstoffen (nach Stevenson [9])**

Frequency ( $\text{cm}^{-1}$ )	Assignment
3400–3300	O—H stretching, N—H stretching (trace)
2940–2900	Aliphatic C—H stretching
1725–1720	C=O stretching of COOH and ketones (trace)
1660–1630	C=O stretching of amide groups (amide I band), quinone C=O and/or C=O of H-bonded conjugated ketones
1620–1600	Aromatic C=C, strongly H-bonded C=O of conjugated ketones?
1590–1517	COO <sup>-</sup> symmetric stretching, N—H deformation + C=N stretching (amide II band)
1460–1450	Aliphatic C—H
1400–1390	OH deformation and C—O stretching of phenolic OH, C—H deformation of CH <sub>2</sub> and CH <sub>3</sub> groups, COO <sup>-</sup> antisymmetric stretching
1280–1200	C—O stretching and OH deformation of COOH, C—O stretching of aryl ethers
1170–950	C—O stretching of polysaccharide or polysaccharide-like substances, Si—O of silicate impurities.

**NMR-Spektroskopie.** Zur Charakterisierung und Quantifizierung von Partialstrukturen in Huminstoffen ist auch die NMR-Spektroskopie erfolgreich eingesetzt worden [105] [106]. Im <sup>13</sup>C-Spektrum können verschiedene Partialstrukturen wie aromatischer, carboxylischer oder carbonylischer Kohlenstoff unterschieden werden. Auch <sup>1</sup>H-NMR-Spektren können zur Charakterisierung und Quantifizierung von Partialstrukturen wie aliphatischem oder aromatischem Wasserstoff verwendet werden.



**Metallbestimmungen (ICP-MS und TRFA).** Zur Quantifizierung von Metallspezies in aquatischen Huminstoffen werden nachweisstarke atomspektrometrische Methoden benötigt, die sowohl eine möglichst einfache und zuverlässige Bestimmung von (Gesamt-) Metallgehalten in gelösten Huminstoffen als auch in deren durch Spezies-Trennverfahren gewonnenen Fraktionen ermöglichen [40]. Häufig eingesetzte Methoden sind die ICP-MS [107] [108] und die TRFA [109] [110], deren Nachweisgrenzen in Huminstofflösungen in Abhängigkeit von den zu untersuchenden Analyten und eventuellen Matrixeinflüssen bis in den unteren ng/mL-Bereich reichen. Aquatische Huminstoffe sind von ihrer Zusammensetzung her als relativ leichte organische Matrix einzuordnen, deren Hauptbestandteile (O, C, H) meist nur geringe analytische Störungen verursachen, wenn die Huminstoffgehalte, z.B. durch Verdünnung, niedrig gehalten werden können.

## 2.3 Fraktionierungsverfahren und gekoppelte Systeme zur Charakterisierung des Metallbindungsverhaltens von Huminstoffen

Fraktionierungsverfahren ermöglichen ein Abschätzen des molekularen bzw. kolloidalen Größenspektrums, in dem sich eine Huminstoffprobe bewegt. Weiterhin ermöglichen sie Aussagen über das Ausmaß der vorliegenden Huminstoff-Polydispersität. Auch wenn durch Fraktionierungsverfahren keine diskreten und wohldefinierten Molekülfractionen erhalten werden können, so bedeutet eine Auftrennung von Huminstoffen in mehr oder weniger grobe Fraktionen doch eine u. U. erhebliche Herabsetzung der Polydispersität und trägt damit zu einer deutlich besseren Auflösung und Aussagekraft von Analysensignalen bei. In Tabelle 7 sind verschiedene Methoden der Fraktionierung von aquatischen Huminstoffen und ihren Metallspezies aufgeführt [40].

**Tabelle 7: Methoden der Fraktionierung aquatischer Huminstoffe und ihrer Metallspezies**

<i>Fraktionierung aquatischer HS und ihrer Metallspezies: Methoden</i>		
<i>Trennverfahren</i>	<i>Bewertung der Methode</i>	
	<i>Fraktionen</i>	<i>Literaturhinweis</i>
<b>Extraktion mit Säure und Lauge</b>	Huminsäure, Fulvinsäure, Humin	Konventionelles Trennverfahren, z.B. in [25]
<b>Extraktion mit organ. LM</b>	Nach Löslichkeit getrennte Fraktionen	[111]
<b>(Mehrstufen-) Ultrafiltration (MST-) (UF)</b>	Getrennte Fraktionen nach Molekülgröße, operationelle Fraktionen	[112]
<b>Ultrazentrifugation</b>	Getrennte Fraktionen nach Molekülgröße	[113]
<b>Umkehrphasen-Chromatographie (RPC)</b>	Meist ein bis zwei Signale	[114]
<b>Size-Exclusion-Chromatographie (SEC)</b>	Breite Verteilung nach Molekülgrößen	Konventionelles Trennverfahren, z.B. in [111]
<b>Feldflussfraktionier. (FFF)</b>	Breite Verteilung	[115]
<b>Elektrophorese, Kapillar-Elektrophorese (CE)</b>	Fingerprint, je nach HS	[116] [117]

Eine vertiefte Charakterisierung von aquatischen Huminstoffen und ihren vielfältigen Prozessen in der aquatischen Umwelt, besonders ihre starke Wechselwirkung mit eingebrachten Schwermetallionen erfordert den Einsatz eines breit gefächerten analytischen Instrumentariums. So kann die thermodynamische sowie die kinetische Stabilität von Huminstoff-Komplexen charakterisiert werden. Bei einer differenzierenden Metallspeziation in natürlichen Huminstoff-Mischungen stellt sich die Frage, ob und in welchem Maße die Verteilung der metallionenbindenden Funktionalitäten bzw. die von ihnen gebildeten Metallkomplexe von der Molekülgröße abhängig sind. Eine solche Abhängigkeit ist von erheblicher Bedeutung für aquatische Prozesse (wie Metall-Mobilität und -Transformation), die unter Beteiligung von Huminstoff-Metallspezies unterschiedlicher Größe ablaufen [40].

Von den in Tabelle 7 genannten Fraktionierungsverfahren sind zur Charakterisierung der metallionenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen die Ultrafiltration (UF) als konventionelles Trennverfahren und die Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC), Feld-Fluss-Fraktionierung (FFF) bzw. Kapillarzonen-Elektrophorese (CZE) als Hochleistungs-Trennverfahren sicherlich am besten geeignet, da es um die Bewahrung der ‚Spezies-Information‘ geht. Die Fraktionierung soll nach Möglichkeit die huminstoffkomplexierten Metallkationen nicht von ihren Liganden trennen. Durch eine auf die Fraktionierung folgende Metallionen-Detektion können die entsprechenden Metallgehalte in den Fraktionen ermittelt werden, was eine differenzierte Betrachtung, inwieweit das Metallionenbindungsvermögen in Huminstoffen gleich oder ungleich verteilt ist, ermöglicht.

Die Charakterisierung der metallbindenden Eigenschaften von Huminstoffen legt damit einen Ansatz der Element-Speziations-Analytik [118] [119] [120] [121] [122] [123] [124] [125] nahe, der der Tatsache gerecht wird, dass die chemischen, biologischen und toxikologischen Eigenschaften eines Metallions von der Form abhängen, in der es vorliegt. In der Spezies-Analytik werden chromatographische Trenntechniken (Analyten verlassen die Säule getrennt von anderen Spezies desselben Analytelements) mit Methoden der Atomspektrometrie, die eine sensitive und spezifische Detektion des Zielements ermöglichen, kombiniert.

Abbildung 11 zeigt einen mehrdimensionalen Strategie-Ansatz zur Speziesanalyse. Im Zentrum stehen Separationstechniken wie CE, HPLC oder GC, die entsprechend den Eigenschaften der zu trennenden Analyten gewählt werden. Je nach Anforderung kann die eingesetzte Trenntechnik mit einer element- bzw. molekulspezifischen Detektions- oder Quantifizierungsmethode kombiniert werden.

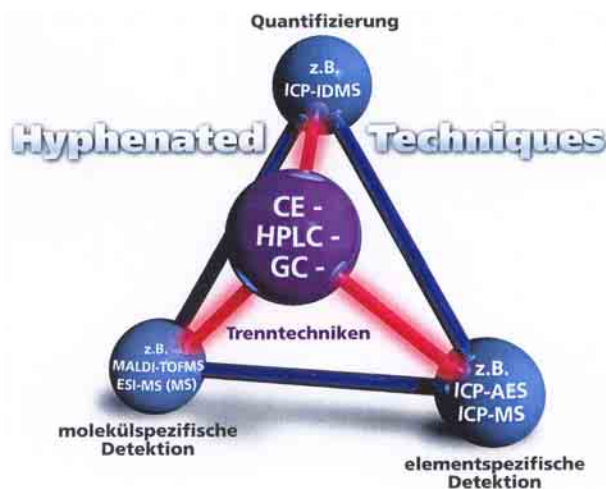


Abbildung 11: Mehrdimensionaler Ansatz als Strategie zur Speziesanalyse (nach Prange [124])

Die *International Union for Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) hat die Begrifflichkeiten Element-Speziation und Fraktionierung folgendermaßen definiert [118]:

- **Chemical species.** Chemical element: specific form of an element defined as to isotopic composition, electronic or oxidation state, and/or complex or molecular structure.
- **Speciation analysis.** Analytical chemistry: analytical activities of identifying and/or measuring the quantities of one or more individual chemical species in a sample.
- **Speciation of an element; speciation.** Distribution of an element amongst defined chemical species in a system.

Wenn eine Element-Speziation nicht durchführbar ist, wird der Begriff Fraktionierung benutzt, der folgendermaßen definiert ist:

- **Fractionation.** Process of classification of an analyte or a group of analytes from a certain sample according to physical (e.g. size, solubility) or chemical (e.g. bonding, reactivity) properties.

Eine Charakterisierung der metallbindenden Eigenschaften von Huminstoffen kann damit durchaus als eine Aufgabe im Sinne einer Elementspeziations-Analytik gesehen werden, insbesondere wenn die komplexierenden Eigenschaften gegenüber verschiedenen Metallionen

verglichen werden sollen und damit eine Trennung ‚frei‘ vorliegender Metallionen (roter Kreis in Abbildung 12) von Huminstoff-komplexiert vorliegenden Ionen (brauner Kreis) erfolgen soll.

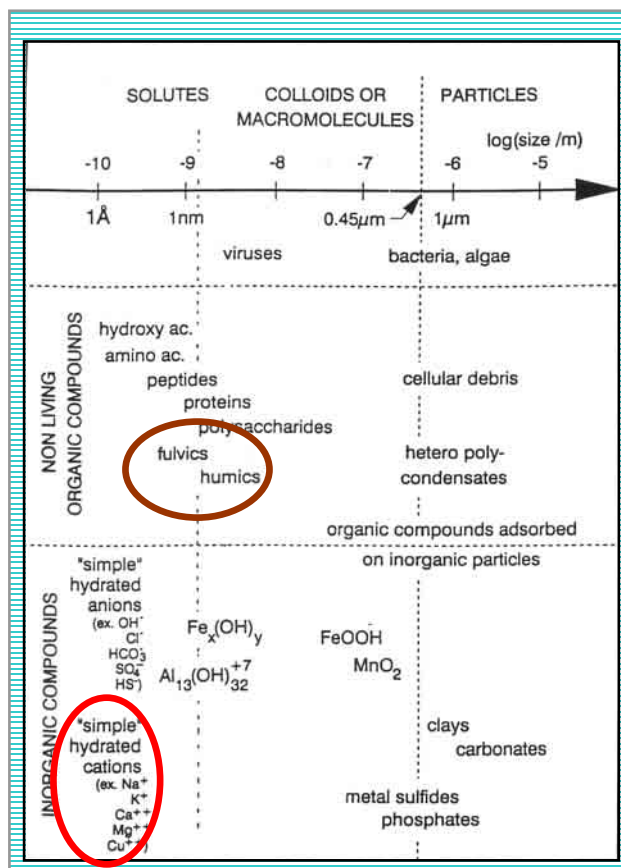


Abbildung 12: Art und Größenordnung der wichtigsten Partikel in aquatischen Systemen [126]

Sehr aktuelle Ansätze der Speziations-Analytik arbeiten mit gekoppelten Systemen, bei denen die Metalldetektion direkt (online) auf die Fraktionierung folgt, wie bei der HPLC-ICP-MS und der FFF-ICP-MS. Bei derartigen Systemen wird die technische Möglichkeit genutzt, die Analyten nach der Fraktionierung direkt in das Plasma der ICP-MS zu überführen und damit bei transienten Signalen die gute metallspezifische Nachweisempfindlichkeit dieses Detektors zu nutzen [127] [128] [129].

### 2.3.1 Ultrafiltration (UF) mit DOC- und TRFA-Detektion (offline)

Die Membranfiltration ist neben der Anreicherung von Huminstoffen (vgl. Abschnitt 2.1.4) auch erfolgreich zur Fraktionierung aquatischer Huminstoffe eingesetzt worden. Einen weiten Überblick gibt [130] [131], sowie [41] [132]. So kann die Fraktionierung einer Huminstoffprobe mit Ultrafiltrations-Membranen verschiedener Ausschlussgrenzen (Nominal Molecular Weight Cut Off, NMWCO), z.B. 1, 3, 10, 50, und 100 kDa erfolgen.

Bei der Durchführung der Ultrafiltrationsexperimente ist aufgrund des oftmals limitierten Probenmaterials die Auswahl erhältlicher entsprechend kleiner Membranen eingeschränkt. Für die Fraktionierung von Huminstoffproben sind Zentrifugations-Röhrchen, bei denen die Membranen mittig angebracht sind und die Probe in der oberen Hälfte aufgegeben wird, gut geeignet. Die Probenlösungen werden durch Zentrifugation über die jeweiligen Membranen ultrafiltriert und somit die entsprechenden Fraktionen erhalten.

In der Literatur sind auch sehr kompakte Mehrstufen-Ultrafiltrationssysteme beschrieben, die sequentiell arbeiten, indem fünf Membranen abnehmender Porengrößen hintereinander geschaltet sind [133] [134] [135] [136]. Durch die kaskadenförmige Bauweise ist bei diesen Systemen das Risiko von Kontaminationen minimiert.

Eine Schwierigkeit, die bei der Ultrafiltration auftritt, ist die mit fortschreitender Filtrationszeit zunehmende Ablagerung von Makromolekülen auf der Membranoberfläche und in den Poren. Dieser Belag setzt die Fließgeschwindigkeit durch die Membran herab und reduziert den effektiven Porendurchmesser, wodurch eine Verfälschung der Fraktionierung auftreten kann [41]. Unerwünschte Ablagerungen auf den Membranen können durch verringerte Fließgeschwindigkeiten durch die Membranen erkannt werden. Bei der Tangentialfluss-Ultrafiltration werden diese Effekte durch die tangential über die Membranoberfläche strömende Lösung deutlich verringert.

Ein großer Vorteil der Ultrafiltration ist, dass die erhaltenen Fraktionen je nach eingesetzten Membranen direkte Informationen über die Molekülgrößen enthalten. Die Fraktionen sind allerdings relativ grob, und die Trenngrenzen sind durch die erhältlichen Membranen vorgegeben. Die Ultrafiltration als Fraktionierungsverfahren ermöglicht damit keine kontinuierliche Fraktionierung, sondern liefert diskrete Fraktionen; sie kann daher nicht direkt mit einem metallspezifischen Detektor wie der ICP-MS gekoppelt werden. Die in den jeweiligen Fraktionen enthaltene Menge Huminstoff bzw. Metallionen wird nachgeschaltet (offline) durch DOC-Messungen bzw. z.B. TRFA-Messungen bestimmt [137].

### 2.3.2 Flüssigkeits-Chromatographie (LC) und ICP-MS-gekoppelte Systeme

Die Flüssigkeits-Chromatographie (LC) gehört zu den meistgenutzten Trenntechniken der Elementspeziations-Analytik [138] [139] [140]. Bei Flüssigkeits-chromatographischen Trennungen wird eine Probe auf eine chromatographische Säule gegeben, die mit einer festen stationären Phase gefüllt ist, während eine flüssige mobile Phase kontinuierlich durch die Säule gepumpt wird. Die Analyten in der Probe treten beim Passieren der Säule sowohl mit der stationären als auch der mobilen Phase in Wechselwirkung. Das Ausmaß, mit dem ein Analyt mit den beiden Phasen in Wechselwirkung tritt, bestimmt die Aufenthaltszeit in der Säule. Damit sind Trennungen verschiedener Analyten dann möglich, wenn jeder einzelne Analyt in unterschiedlichem Maße mit den Phasen wechselwirkt und die Säule zu verschiedenen Zeiten verlässt.

Vorteilhafte Eigenschaften der LC für die Speziationsanalyse sind:

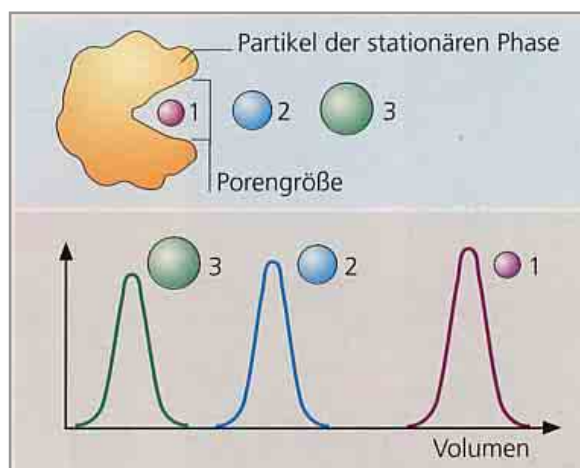
- die Möglichkeit der Trennung nichtflüchtiger Komponenten (im Vergleich zur GC) sowie Komponenten, die sich bei erhöhten Temperaturen zersetzen
- die große Vielseitigkeit bezüglich der Auswahl von stationären und mobilen Phasen
- eine in der Regel geringe Probenpreparation
- die Möglichkeit der Kopplung der LC mit elementspezifischen Detektoren wie der ICP-MS.

Flüssigkeits-Chromatographie ist der übergeordnete Begriff für chromatographische Trennungen mit einer flüssigen mobilen Phase; die meisten derzeit durchgeführten Separationen gehören jedoch zu einer Untergruppe der LC, die als High Performance Liquid Chromatography (HPLC) bezeichnet wird. HPLC-Säulen unterscheiden sich von LC-Säulen durch kleinere Durchmesser der Partikel der stationären Phase.

Es gibt sehr verschiedene Varianten der LC, wie die ‚Normal Phase Chromatography‘ (NPC), die ‚Reversed Phase Chromatography‘ (RPC), die ‚Reversed Phase Ion Pair Chromatography‘ (IPC), die ‚Micellar Chromatography‘, die ‚Ion Exchange Chromatography‘ (IEC) und die ‚Size Exclusion Chromatography‘ (SEC). Für die Fraktionierung von Huminstoffen nach Molekülgrößen ist die SEC, die Größenausschluss-Chromatographie besonders geeignet.

Die SEC wird allgemein zur Trennung von Makromolekülen ( $MW > 2000$  Da) wie Proteinen, synthetischen Polymeren und Biopolymeren gemäß ihrer Molekülgrößen

eingesetzt. Der Trennmechanismus basiert nicht wie bei anderen Varianten der LC auf chemischen Wechselwirkungen, sondern auf dem Ausmaß der Möglichkeit der Analyten, in die Poren der stationären Phase einzudringen. Kleine Moleküle dringen weiter in die Poren ein als große Moleküle, daher werden große Moleküle vor kleineren eluiert [138]. Das Chromatogramm in Abbildung 13 zeigt den Zusammenhang zwischen Molekülgröße und Elutionsvolumen.



**Abbildung 13: Größen-Ausschluss (SEC) als Trennprinzip in der Flüssigkeits-Chromatographie [86]**

Die mobile Phase ist bei der SEC von untergeordneter Bedeutung; sie hat hauptsächlich die Aufgabe, die zu trennenden Analyten zu lösen. Allerdings ist im Falle eines gekoppelten Systems die mobile Phase auf den Detektor abzustimmen. Bei Kopplungen mit der ICP-MS sollten hohe Salzgehalte und größere organische Anteile aus Gründen der Zerstäubungs- und Plasmastabilität, und um Ablagerungen auf den Sampler- und Skimmer-Conen im Eingangsbereich des Massenspektrometers gering zu halten, vermieden werden.

Das SEC-System muss mit Molekülen bekannter Molekulargewichte kalibriert werden, die ähnliche physikalische Eigenschaften wie die interessierenden Analyten haben. In Bezug auf Huminstoffe besteht in diesem Punkt die Schwierigkeit, geeignete Kalibrierstandards zu finden. Die SEC wird häufig unterteilt in Gelfiltrations-Chromatographie (Trennung von wasserlöslichen Makromolekülen) und Gelpermeations-Chromatographie (Trennung von in organischen Lösungsmitteln löslichen Makromolekülen) [138].

Die Flüssigkeits-Chromatographie mit UV- und/oder DOC-Detektion ist vielfach zur Charakterisierung der makromolekularen Huminstoffe und zur Bestimmung ihrer Molekulargewichtsverteilungen eingesetzt worden [89] [90] [92]. Die LC-Chromatogramme verschiedener Huminstoffe haben Fingerprintcharakter; UV- und DOC-Signale laufen weitgehend parallel und zeigen huminstofftypische, breite Signale mit einigen



Hauptfraktionen, die je nach Retentionszeit größeren oder kleineren Molekülen zugeordnet werden können.

Zur Untersuchung der metallbindenden Eigenschaften von Huminstoffen sind in verschiedenen Arbeiten Systeme beschrieben und eingesetzt worden, bei denen die Flüssigkeits-Chromatographie als Separationstechnik mit der ICP-MS als elementspezifischem Detektor gekoppelt wurde [141] [142] [143] [144] [145] [146] [147]. Die Bestimmung der Wechselwirkungen zwischen Schwermetallen und verschiedenen Fraktionen der gelösten organischen Substanzen mit dem gekoppelten System SEC-ICP-MS führt zu spezifischen Verteilungsmustern. Die mit diesen Systemen erhaltenen transienten UV- und ICP-MS-Signale können wie im Beispiel in Abbildung 14 dargestellt werden. Auf der x-Achse ist die Rückhaltezeit in Minuten aufgetragen; die linke Y-Achse dient der Darstellung der Intensität des ICP-MS-Signals eines bestimmten Elements in [counts per second] bzw. [cps], auf der anderen Y-Achse ist die UV-Absorption in [arbitrary units] aufgetragen.

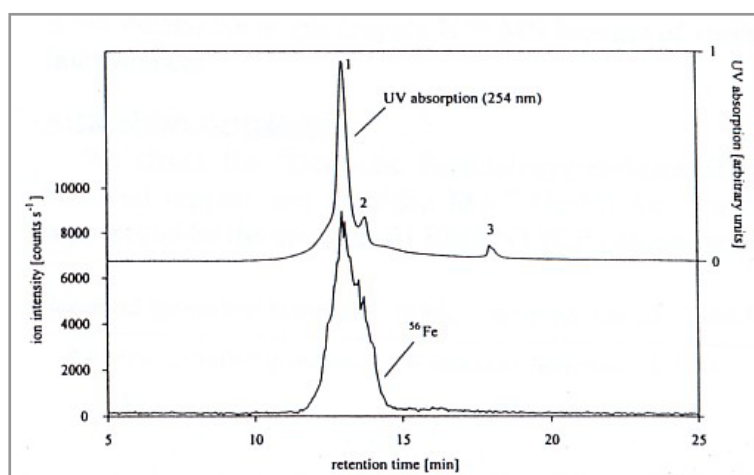


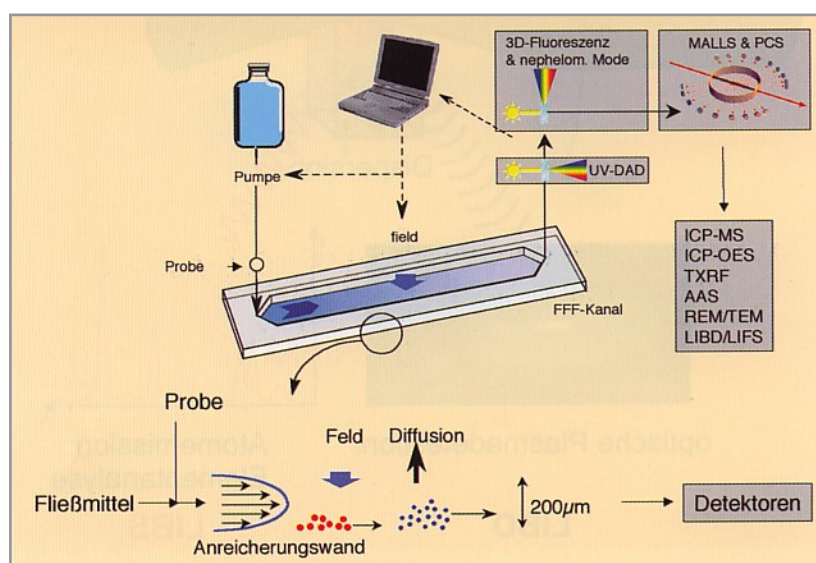
Abbildung 14: SEC-ICP-MS: UV- und  $^{56}\text{Fe}$ -Signal eines Eisen-DOM-Komplexes (aus [141])

Ziel des Einsatzes der Größenausschluss-Chromatographie im gekoppelten System mit der ICP-MS ist es in der Huminstoff-Analytik, die Verteilung von Metallen in unterschiedlichen Größenfraktionen von Huminstoffen zu bestimmen.

### 2.3.3 Feld-Fluss-Fraktionierung (FFF) und FFF-ICP-MS

Mit der Feld-Fluss-Fraktionierung (FFF) können Makromoleküle, Kolloide und Partikel separiert und je nach System Größen zwischen einigen Nanometern bis hin zu mehreren Mikrometern untersucht werden. Die FFF trennt die Kolloide aufgrund ihrer chemischen und

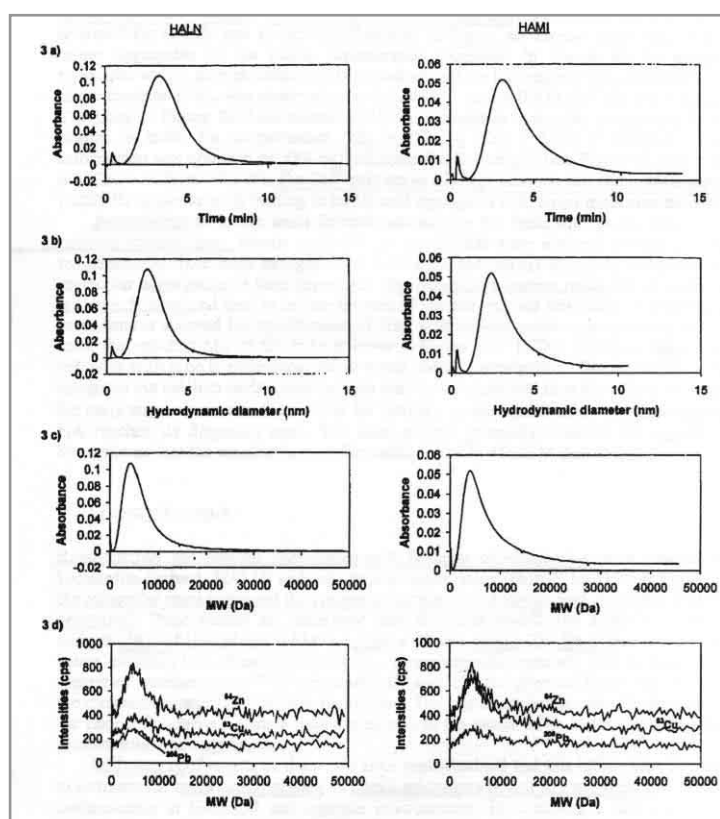
physikalischen Eigenschaften in einem externen Feld. Als Feld kann ein Querfluss (Trennung nach hydrodynamischen Durchmessern), ein elektrisches Feld (Trennung nach Ladung), ein Gravitations- bzw. Sedimentationsfeld (Trennung nach Masse) oder ein magnetisches Feld angelegt werden. Die Trennung erfolgt in einem sehr dünnen Kanal, wo die Kolloide durch das angelegte Feld an die Kanalinnenseite gedrückt werden (vgl. Abbildung 15). Mit einem laminaren Trägerstrom werden die Kolloide durch den Kanal transportiert. Durch das parabelförmige Strömungsprofil im Kanal eluieren diejenigen Kolloide am schnellsten, die am wenigsten von dem angelegten Feld beeinflusst werden. Bei der Fluss- und Sedimentations-FFF sind das die kleinsten Kolloide, da sie sich in Folge ihres höheren Diffusionskoeffizienten eher in der Mitte des Kanals befinden [6] [140] [148].



**Abbildung 15: Funktionsprinzip der Feld-Fluss-Fraktionierung (FFF) (von der Kammer, in [6])**

Die Feld-Fluss-Fraktionierung ist von verschiedenen Gruppen zur Charakterisierung von Huminstoffen und der Bestimmung von Molekulargewichtsverteilungen eingesetzt worden [149] [150] [151] [152] [153] [154]. Sie hat gegenüber der Chromatographie, bei der relativ starke Kräfte an den Oberflächen und Phasengrenzen (z.B. Wasserstoffbrückenbindungen oder Ladungseffekte) wirken, den Vorteil geringerer irreversibler Wandadsorptionen von Huminstoffen mit den damit verbundenen DOC-Verlusten. Auch Denaturierungseffekte, Konformationsänderungen und strukturelle Brüche treten bei der Fluss-FFF aufgrund der relativ milden Triebkräfte deutlich weniger stark auf. Durch diese geringe Neigung zur Artefaktbildung bleiben die betrachteten molekularen Spezies bei der FFF weitgehend unversehrt [149] [155]. Allerdings sind FFF-Systeme in der Huminstoff-Analytik vermutlich weniger verbreitet als die SEC-Systeme. Nachteilig ist neben der Verdünnung der Probe bei der in der Huminstoff-Analytik eingesetzten Fluss Feld-Fluss Fraktionierung (FFFF) ein eventueller Verlust niedrigmolekularer Fraktionen durch die Membrane.

Da die Charakterisierung von Huminstoffen durch Bestimmung von Elementverteilungen auf der Basis von Huminstoff-Molekülgrößen für das Verständnis von Schicksal und Transporteigenschaften toxischer und essentieller Elemente in aquatischen Systemen an Bedeutung gewonnen hat, ist die Feld-Fluss-Fraktionierung mit der ICP-MS gekoppelt worden [155] [156] [157] [158]. Mit dem online gekoppelten System FFF-ICP-MS kann simultan eine Huminstoff-Charakterisierung über die Molekulargewichtsverteilung und über die Untersuchung von Schwermetallen, die an verschiedene Huminstoff-Größenfraktionen gebunden sind, erfolgen. Abbildung 16 zeigt als Beispiel die Darstellung von Ergebnissen, die bei der Huminstoff-Charakterisierung mit der FFF-ICP-MS durch Barnes et al. [155] erhalten wurden.



**Abbildung 16: Fraktogramme zweier Huminstoffproben (eine Probe pro Spalte)**

1. Zeile: UV-Detektion; 2. Zeile: berechnete hydrodynamische Verteilung der Durchmesser; 3. Zeile: berechnete Molekulargewichts-Verteilung; 4. Zeile: Element-Fraktogramme mit ICP-MS-Detektion (Ausschnitt aus [155])

Die Signale ermöglichen u.a. Aussagen über die Polydispersität der Probe (über die Signalbreite bei halber Höhe) und Aussagen über die Molekulargewichtsverteilung, sowie über die in der Probe enthaltenen Metalle.

### 2.3.4 Kapillarelektrophorese (CE) und CE-ICP-MS

Ein großer und vielversprechender Vorteil der CE (wie auch der FFF) gegenüber der SEC ist die Abwesenheit einer stationären Phase, sowie die große Flexibilität [149]. Die Fraktionierung erfolgt durch das Anlegen eines externen Feldes. Aufgrund des Fehlens der stationären Phase können lediglich Wechselwirkungen der kolloidalen Probenbestandteile mit einer festen Phase an der Oberfläche der Kapillarwandung auftreten, wodurch irreversible Adsorptionen und Denaturierungen von Probenbestandteilen deutlich verringert werden können. Theorie sowie Anwendungen der Kapillarelektrophorese sind ausführlich in [87] [88] [159] [160] [161] [162] [163] [164] [165] [166] beschrieben.

Wenn an eine wässrige Lösung, die Ionen, geladene Moleküle oder geladene Partikel enthält, ein elektrisches Feld angelegt wird, bewegen sich geladene Moleküle und Partikel jeweils in die Richtung der Elektrode mit entgegengesetztem Vorzeichen. Dabei bewegen sich die verschiedenartigen Ionen, Moleküle und Partikel eines Substanzgemisches aufgrund unterschiedlicher Ladungen und Massen (Größen) mit unterschiedlicher Geschwindigkeit und werden in einzelne Fraktionen aufgetrennt. Dieser als Elektrophorese bezeichnete Vorgang kann zur Trennung von Ionen aufgrund unterschiedlicher Ionenbeweglichkeiten in der betreffenden Elektrolytlösung genutzt werden. Die Richtung, in der ein Ion wandert, wird von seiner Ladung, die Wanderungsgeschwindigkeit sowohl von der Ladung als auch von der Größe des Ions bestimmt. Gleich große Ionen haben unterschiedliche Mobilitäten, wenn ihre Ladung verschieden ist. Ionen gleicher Ladung haben unterschiedliche Mobilitäten, wenn ihre Größe und damit verbunden der Reibungswiderstand zwischen ihnen und den Solvensmolekülen verschieden ist [88].

Bei der Kapillarelektrophorese (CE), auch High Performance Capillary Electrophoresis (HPCE) genannt, findet die elektrophoretische Trennung in einer dünnen elektrolytgefüllten Kapillare statt (Abbildung 17).

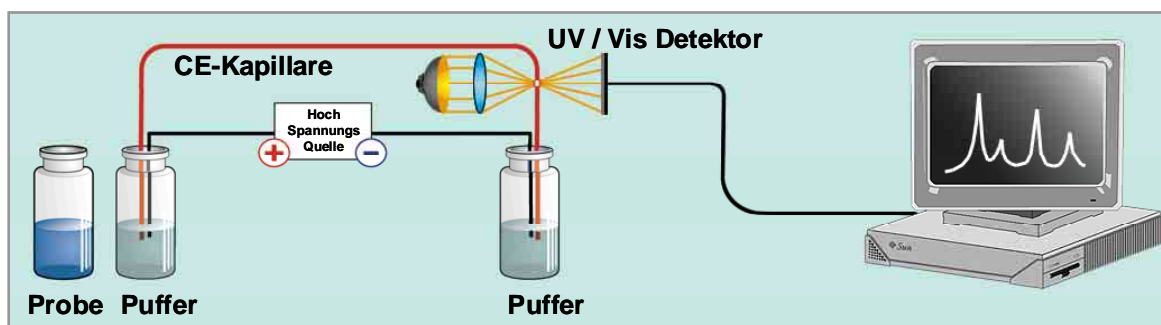


Abbildung 17: Schematische Darstellung der Kapillarelektrophorese mit UV-Detektion

Oft werden Quarzkapillaren mit einem Innendurchmesser von 50  $\mu\text{m}$  - 100  $\mu\text{m}$  eingesetzt. In diesen Kapillaren kann wegen des großen Verhältnisses von Oberfläche zu Volumen die Joule'sche Wärme effizient abgeführt werden, wodurch der störende Einfluss der thermischen Konvektion drastisch reduziert wird. Dies ermöglicht die Durchführung äußerst effizienter Trennungen. Die gute Transparenz von Quarzkapillaren lässt auch die Detektion der getrennten Analyten im unteren UV-Bereich zu.

**Elektrophoretische Mobilität.** Ursache aller elektrophoretischen Trennungen sind die unterschiedlichen Migrationsgeschwindigkeiten geladener Teilchen im elektrischen Feld. Die elektrische Kraft  $F_E$ , die ein Feld der Stärke  $E$  auf ein Teilchen der Ionenladung  $z$  ausübt, kann wie folgt erfasst werden [88]:

$$F_E = z \cdot e \cdot E$$

$e$  = Elementarladung des Elektrons ( $e = 1,602 \cdot 10^{-19}$  C)

Die elektrische Feldstärke in der Kapillare ist dabei eine Funktion der Spannung  $U$  und der Kapillarlänge  $L_{ges}$ .

$$E = \frac{U}{L_{ges}}$$

Der elektrischen Kraft  $F_E$  ist die Reibungskraft  $F_R$  entgegengerichtet. Sie kann nach Stokes für ein kugelförmiges Teilchen in Lösung durch folgende Gleichung beschrieben werden:

$$F_R = -6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r \cdot v$$

$\eta$  = Viskosität der Lösung;  $r$  = hydrodynamischer Ionenradius;  $v$  = Lineargeschwindigkeit des Ions

Im Gleichgewicht ist die vektorielle Summe der Kräfte Null, und für jedes Ion resultiert eine stoffspezifische konstante Wanderungsgeschwindigkeit:

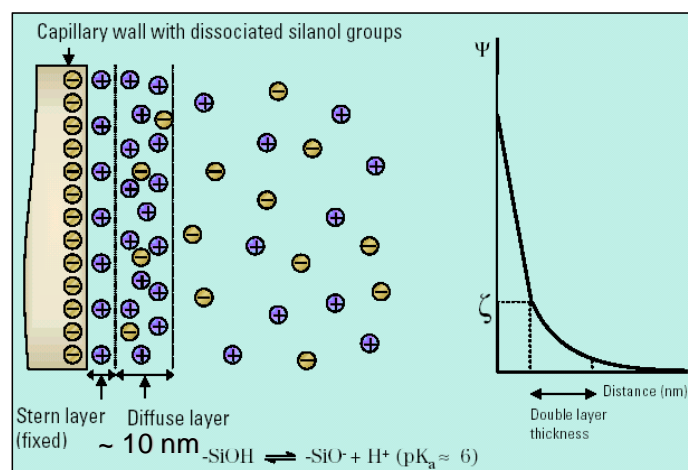
$$v = \frac{z \cdot e \cdot E}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r}$$

Durch Eliminierung der elektrischen Feldstärke erhält man eine geräteunabhängige Größe, die als Ionenbeweglichkeit oder elektrophoretische Mobilität  $\mu_{EP}$  bezeichnet wird.

$$\mu_{EP} = \frac{v}{E} = \frac{z \cdot e}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r}$$

Die Ionenbeweglichkeit ist lösungsmittel- und stoffspezifisch. Sie wird von dem Verhältnis zwischen Ionenladung und -größe geprägt.

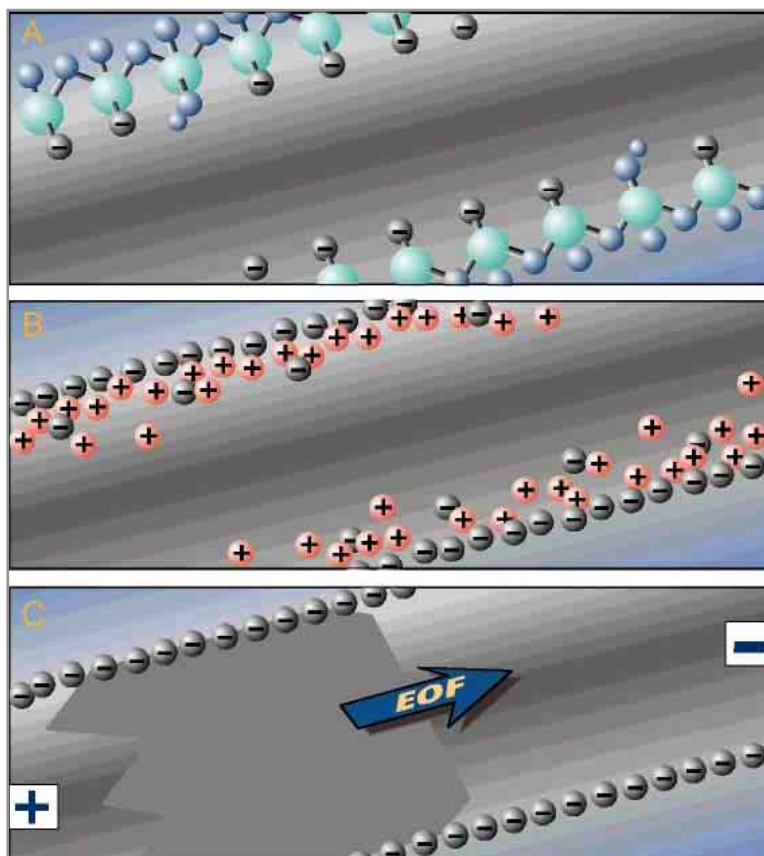
**Elektroosmotischer Fluss (EOF).** Die Elektrophorese von Ladungsträgern bewirkt auch den Fluss der gesamten Pufferlösung im elektrischen Feld. Der Fluss der gesamten Pufferlösung wird als elektroosmotischer Fluss (EOF) bezeichnet und überlagert die elektrophoretische Wanderung der Ionen [88]. Ursache des elektroosmotischen Flusses ist die Aufladung der inneren Kapillaroberfläche (Abbildung 18).



**Abbildung 18:** Ladungsverteilung in der Oberfläche des Quarzes und Verlauf des Zeta-Potentials an der Grenzfläche Quarz/Puffer [162]

In wässriger Lösung besitzen Festkörperoberflächen auf Glas- oder Quarzbasis meist eine negative Überschussladung, die auf Säure/Base-Gleichgewichte und auf die Adsorption von Ionen zurückzuführen ist. Bei Quarzkapillaren können beide Effekte beobachtet werden, jedoch ist die negative Oberflächenladung bei pH-Werten über 4 vollständig auf die Deprotonierung endständiger Silanolgruppen zurückzuführen. Durch die resultierenden elektrostatischen Kräfte werden vorwiegend Kationen aus der Elektrolytlösung an die anziehende Oberfläche angelagert und es bildet sich eine elektrische Doppelschicht bestehend aus einer starren (Sternschicht) und einer beweglichen, diffusen Grenzschicht. Das exponentiell abfallende Potential wird als  $\xi$ -(Zeta-)Potential bezeichnet und ist für die Elektroosmose verantwortlich.

Wenn längs der Kapillare ein elektrisches Feld angelegt wird, wandern, wie Abbildung 19 zeigt, die beweglichen Kationen der diffusen Schicht in Richtung der negativen Elektrode; die korrespondierenden Anionen sind in der Kapillarmauer fixiert und bewegen sich daher nicht. Kationen liegen solvatisiert vor und ziehen die umgebenden Lösungsmittelmoleküle mit sich. Aufgrund der kleinen Kapillardurchmesser kommen sich die gegenüberliegenden diffusen Schichten im Zentrum der Kapillare nahe und bewirken aufgrund der Viskosität der Pufferlösung eine Bewegung des gesamten Elektrolyten in Richtung der Kathode.



**Abbildung 19: Entstehung des elektroosmotischen Flusses (EOF) in Quarzkapillaren [162]**

*Oben: Negative Aufladung der Oberfläche durch Deprotonierung endständiger SiOH-Gruppen; Mitte: Akkumulation hydratisierter Kationen in der Nähe der Oberfläche; Unten: Fluss des gesamten Elektrolyten in Richtung Kathode.*

Es entsteht ein stempelförmiges Flussprofil (Abbildung 19 unten), das eine deutlich geringere Bandenverbreiterung verursacht als das parabolische Flussprofil hydrodynamischer Flüsse, wie sie z.B. in der Flüssigkeitschromatographie vorliegen.

Die Lineargeschwindigkeit des elektroosmotischen Flusses ( $v_{EO}$ ) wird durch die Helmholtz-Smoluchowski-Gleichung beschrieben:

$$v_{EO} = \frac{\varepsilon \cdot \xi \cdot E}{4 \cdot \pi \cdot \eta}$$

$\xi$  = Zeta-Potential (Volt);  $\varepsilon$  = absolute Dielektrizitätskonstante

Die Größe des Zeta-Potentials wird durch verschiedene experimentelle Parameter bestimmt, die zur Variation des EOF verwendet werden können. Ein wesentlicher potentialbestimmender Faktor ist die Oberflächenladung an der Kapillarwand. Ihre Ladungsdichte wird hauptsächlich durch den pH-Wert des Puffers bestimmt. Bei hohen pH-Werten erfolgt eine stärkere Deprotonierung der Silanolgruppen als bei niedrigeren pH-Werten. Dies bewirkt eine höhere Lineargeschwindigkeit des EOF bei höheren pH-Werten.

Weiterhin wird das Zeta-Potential von der Ionenstärke des Puffers bestimmt. Mit steigender Ionenstärke verkleinert sich die Doppelschicht, weil das relative Ausmaß der bevorzugten Gegenionen-Anreicherung an der Grenzfläche dadurch verringert wird, was zur Verringerung des Zeta-Potentials und damit zur Verringerung des EOF führt.

Bei elektrophoretischen Trennungen bewegen sich Kationen mit dem EOF (Comigration) und man erhält für positiv geladene Moleküle sehr kurze Analysenzeiten (Abbildung 20).

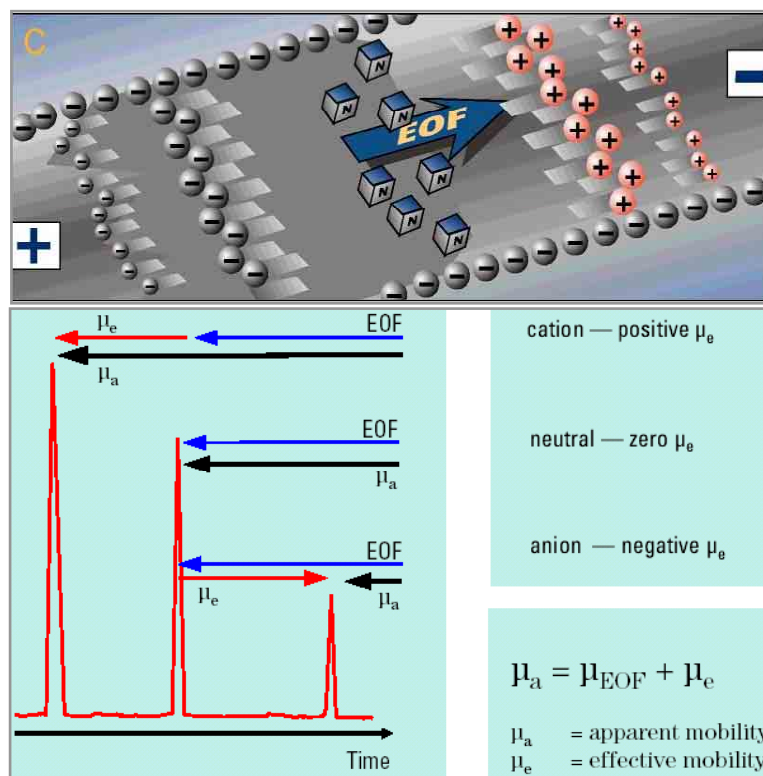


Abbildung 20: Wanderung von Kationen und Anionen unter Überlagerung des EOF [162]

Selbst Anionen, die in die entgegengesetzte Richtung des EOF migrieren (Contramigration), werden zum Detektor an der Kathodenseite transportiert, wenn die Größe ihrer elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit niedriger als die Strömungsgeschwindigkeit des EOF ist. Daher ist es unter geeigneten Bedingungen möglich, Kationen und Anionen in einer einzigen Analyse zu trennen. Nur Anionen, die schneller wandern als die Strömungsgeschwindigkeit des EOF, migrieren in das Anodengefäß und entziehen sich der Detektion. Ungeladene Analytmoleküle werden mit dem EOF transportiert, aber im Betriebsmodus der Kapillaronzonelektrophorese (CZE) nicht aufgetrennt.



**Modi der Kapillarelektrophorese.** Der Oberbegriff „Kapillar-elektrophorese“ fasst verschiedene Trenntechniken zusammen [88].

Die Kapillarzonenlektrophorese (CZE) stellt zur Zeit das am häufigsten eingesetzte Verfahren dar. Bei ihr wird die Trennung, wie beschrieben, in elektrolytgefüllten Kapillaren durchgeführt. Die Trennung der Probenbestandteile beruht auf Mobilitätsdifferenzen der einzelnen ionischen Analyten. Die CZE kann über einen weiten Molekulargewichtsbereich von anorganischen Ionen bis zu Biopolymeren eingesetzt werden; besonders geeignet ist sie zur Trennung von Aminosäuren und Peptiden sowie von kleinen und mittleren geladenen Molekülen und Ionen. Die CZE wird auch bevorzugt bei schwierigen Probenmatrices eingesetzt, die stationäre Phasen irreversibel schädigen könnten. Die Probenvorbereitung beschränkt sich oft auf eine Verdünnung und Filtration der Probe. Die Identifikation der Peaks erfolgt entweder durch Vergleich der Migrationszeiten von Standard und Probe oder durch Aufstocken der Probelösung mit einem entsprechenden Standard.

Bei der Kapillargelelektrophorese (CGE) sind die Kapillaren mit einem Gel oder einer Polymerlösung gefüllt, die die Migration von geladenen Makromolekülen behindern, sodass die Trennung von der Molekülgröße bestimmt wird.

Weitere elektrophoretische Verfahren sind die mizellare elektrokinetische Kapillarchromatographie (MEKC), mit der auch ungeladene Moleküle getrennt werden können sowie die isoelektrische Fokussierung (IEF) und die Isotachophorese. Die Elektrochromatographie (EC) bildet den Übergang zur HPLC. Die Trennkapillaren sind bei der EC mit stationären Phasen der HPLC gefüllt; die Strömung des Eluenten und damit der Transport der Probenmoleküle werden nur durch den elektroosmotischen Fluss erzielt.

**Kapillarelektrophorese zur Charakterisierung von Huminstoffen.** Huminstoffe können mit der Kapillarelektrophorese und UV-Detektion erfolgreich fraktioniert und charakterisiert werden [167] [168] [169] [170] [171] [172] [173] [174] [175] [176] [177] [178] [179] [180] [181] [182] [183] [184] [185]. Dabei hat sich der Modus der Kapillarzonenlektrophorese bei umweltrelevanten Anwendungen wie der Erstellung von Fingerprints von natürlichen Fulvin- und Huminsäuren verschiedener Quellen wie Böden, Oberflächen- bzw. Grundwasser als sehr geeignet herausgestellt [188]. Abbildung 21 zeigt exemplarisch zwei Huminstoff-typische Elektropherogramme.

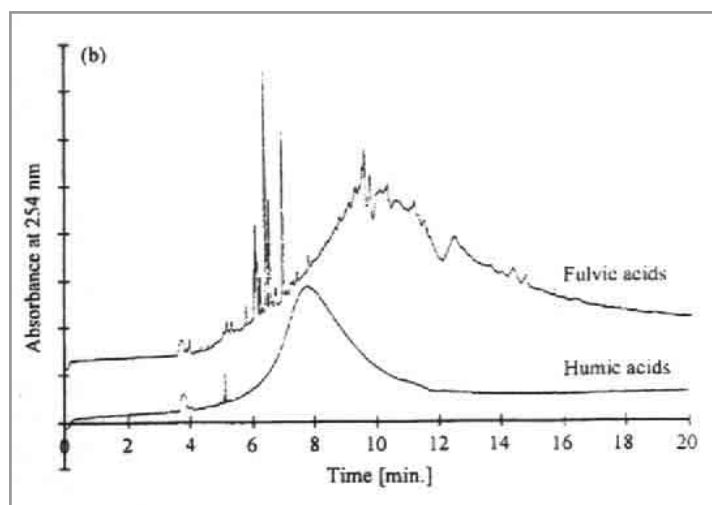


Abbildung 21: Elektropherogramme einer Fulvinsäure und einer Huminsäure; Puffersystem: Borat, pH 8,3 (aus: [188])

Auf der x-Achse sind die Migrationszeiten aufgetragen, die y-Achse stellt die UV-Absorption bei 254 nm dar. Die relativ homogenen „humic humps“ [188] liegen im anionischen Bereich des Elektropherogramms und zeigen eine Verteilung um eine mittlere elektrophoretische Mobilität (average electrophoretic mobility, AEM). Die Retentionszeiten der Huminsäuren sind geringer als die der Fulvinsäuren, was ein niedrigeres Ladungs-/Masse-Verhältnis andeutet, das durch Gesamtacidität und Molekülgröße bestimmt wird. Kationische Huminstoffe wurden bei CZE-Untersuchungen nicht beobachtet [188]; Fulvinsäuren zeigen höhere Polydispersitäten als Huminsäuren, ihre Signale sind breiter.

Mit der Kapillarelektrophorese und UV-Detektion wurden an Huminstoffen auch vergleichende Untersuchungen in Abwesenheit und Gegenwart von Metallionen durchgeführt [186] [187] [188] [189] [190] [191]. Es wurde ein deutlicher Einfluss von Metallionenzugaben auf die Huminstoff-Elektropherogramme beobachtet. Die Huminstoff-anzeigenden UV-Signale der CZE verschoben sich bei Zunahme der Metallionenkonzentration in der Huminstofflösung zu kürzeren Migrationszeiten, was auf eine Reduzierung der effektiven Mobilität der kolloidalen Humate durch chelatisierte Kationen zurückgeführt wurde [186]. Die an die Kationen gebundenen Komplextionsstellen (hauptsächlich negativ geladene Carboxylatgruppen) konnten dann keinen Beitrag mehr zur Mobilität der Huminstoffe leisten.

Die CE mit UV-Detektion ist nach [187] eine vielversprechende Technik zur Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen Metallionen und Huminstoffen. Folgende Reihenfolge einer Metallionen-Fulvinsäure-Komplexierung wurde vorgeschlagen:  $\text{Al}^{3+} >$

$\text{Hg}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Sr}^{2+}$ . Dabei ermöglicht die CE eine Unterscheidung zwischen Huminstoffkomponenten höherer oder niedrigerer Molekülmassen.

**Kapillarelektrophorese zur Elementspeziation.** Die Kapillarelektrophorese findet in der Elementspeziation breite Anwendungen, die überblicksartig in [192] [193] aufgezeigt sind. Die CE hat viele Vorzüge wie die gleichzeitig mögliche Trennung von Kationen, neutralen Verbindungen und Anionen, die hohe Trennschärfe, kurze Analysenzeiten verglichen mit der HPLC und sehr kleine benötigte Probenvolumina. Aufgrund dieser Vorzüge wurde die CE auch mit anderen Detektionssystemen wie der ICP-MS gekoppelt und als CE-ICP-MS in der Analytik von Elementspezies eingesetzt. Mit der CE wird ein nahezu 100%iger Analyttransport ins Plasma möglich, wobei die Probleme der Salzfracht, verglichen mit der HPLC, aufgrund der kleinen Flussraten (ca. 0,5  $\mu\text{L}/\text{min}$ ) von geringerer Bedeutung sind. Allerdings wird für eine Kopplung von CE und ICP-MS ein spezielles Interface benötigt und die Nachweisempfindlichkeit ist durch die geringeren Flussraten etwas schlechter als bei der HPLC-ICP-MS. Die Reproduzierbarkeit des EOF muss bei der CE und bei CE-gekoppelten Systemen regelmäßig kontrolliert werden. Abweichungen bzw. Schwankungen des EOF können durch Adsorption von Probenbestandteilen an der inneren Kapillarwandung bedingt sein.

Das gekoppelte System CE-ICP-MS wird hauptsächlich in der bio-medizinischen bzw. klinischen Forschung eingesetzt. Grundlegende Arbeiten bezüglich der CE-ICP-MS sind [194] [195] [196], sowie [197] [198] [199]. Detaillierte Angaben zu CE-gekoppelten Systemen und der Entwicklung eines geeigneten Interface durch Prange und Schaumlöffel, das die Flussraten von CE und ICP-MS-Zerstäuber anpasst sowie den Stromkreis schließt, sind in [123] [124] [200] und [201] [202] [203] [204] zu finden. Auf diese Weise wurde eine Methode zur Analyse von Metallothionein im Cytosol von humanen Hirnproben entwickelt. Weiterhin setzten Schaumlöffel, Prange, Marx, Heumann und Brätter das gekoppelte System CE-ICP-MS zur Isotopenverdünnungsanalyse ein, um die Metallzusammensetzung von Metallothionein-Standards, die aus Kaninchenleber gewonnen wurden, zu bestimmen [198]. Es zeigte sich, dass das gekoppelte System hervorragend zur Analyse biologischer Proben geeignet war.

Dieses gekoppelte System CE-ICP-MS sollte - nach Erarbeitung und Optimierung einer geeigneten Methode - auch erheblich erweiterte Informationen über die Metallionenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen und die vorliegenden Wechselwirkungen ermöglichen.



### 3 Entwicklung eines Analysenverfahrens zur Charakterisierung von Huminstoffen auf Basis der CE-ICP-MS

In Fließgewässern und Flusssystemen spielen Huminstoffe aufgrund ihrer komplexierenden Eigenschaften eine wichtige Rolle bei der Remobilisierung und beim Transport von Schwermetallionen. Die in der Natur auftretenden Wechselwirkungen und Gleichgewichte, die sich zwischen den Ionen in der gelösten Phase und der kolloidalen Phase der Huminstoffe abspielen, sind komplex, zumal es sich um Fließgleichgewichte handelt.

Aufgrund der Bedeutung des Huminstoff-Metallionen-Systems besteht ein großes Interesse, Huminstoff-Metallionen-Wechselwirkungen zu untersuchen und die Kenntnisse über dieses komplexe System zu erweitern, um mögliche Wirkungen von Huminstoffen in aquatischen Systemen abschätzen zu können. Mit den auf unterschiedliche Weise und unter unterschiedlichen Bedingungen erhaltenen Ergebnissen sollen als Fernziel Transporte von Schwermetallionen abgeschätzt werden.

Wichtige zu beantwortende Fragen sind die nach der Beladbarkeit unterschiedlicher Huminstoffproben - also einer relativen Komplexierungskapazität - bezüglich verschiedener Schwermetallkationen sowie die Abhängigkeit des Komplexierungsverhaltens von der Art des Huminstoffs, des komplexierten Metallions und des zeitlichen Einflusses bei der Komplexierung. Diese Fragen implizieren bereits die Notwendigkeit von „Spezies-Informationen“ über eine einzusetzende Methode: Es müssen sowohl der fraktionierte Huminstoff, als auch die gewünschten Schwermetallionen gut detektiert werden können. Dabei ist die Separation der detektierten Schwermetallionen in „frei“ vorliegende Kationen bzw. huminstoffkomplexierte Kationen von entscheidender Bedeutung.

Zur Untersuchung dieser Fragestellungen soll in der vorliegenden Arbeit das neuartige gekoppelte System Kapillarelektrophorese - Induktiv gekoppeltes Plasma-Massenspektrometer (CE-ICP-MS) [200] zur Fraktionierung von Huminstoffproben eingesetzt werden, um Huminstoffe und ihr Komplexierungsverhalten gegenüber verschiedenen umweltrelevanten Schwermetallionen unter den Bedingungen des Fließgleichgewichtes der Kapillarelektrophorese zu charakterisieren. Die CE bietet die Möglichkeit von Fraktionierungen allein aufgrund der Molekülgröße und Ladung, ohne die teilweise irreversiblen Wechselwirkungen an einer stationären Phase. Die ICP-MS soll zusätzlich die Detektion der in verschiedenen Huminstoffgrobfraktionen komplexiert bzw. frei vorliegenden Metallionen ermöglichen.

Fünf Huminstoffproben natürlichen bzw. synthetischen Ursprungs wurden für die Untersuchungen ausgewählt (Abbildung 23); sie wurden zunächst mit herkömmlichen

Methoden charakterisiert. Im Zentrum der Arbeit steht die Entwicklung und Optimierung einer Methode, die bezüglich der Huminstoff-Charakterisierung sowohl eine UV- als auch ICP-MS-Detektion mit den genannten Spezies-Informationen ermöglicht. Die anschließende beispielhafte Charakterisierung der ausgewählten Huminstoffproben zeigt Möglichkeiten, die die entwickelte Methode bietet. Schwerpunkt dieser Untersuchungen ist das Abschätzen von Komplexierungskapazitäten durch Dotieren der Huminstoffproben mit ansteigenden Konzentrationen verschiedener Metallionen.

Eine Validierung der entwickelten Methode und ein Vergleich der erhaltenen Ergebnisse erfolgt mit einer vollständig anders arbeitenden Methode, der Ultrafiltration mit DOC- und TRFA-Detektion (offline).

Abbildung 22 zeigt als Blockdiagramm das eingesetzte analytische Verbundverfahren, das in Abbildung 23 in Form der Darstellung der allgemeinen Vorgehensweise präzisiert wird.

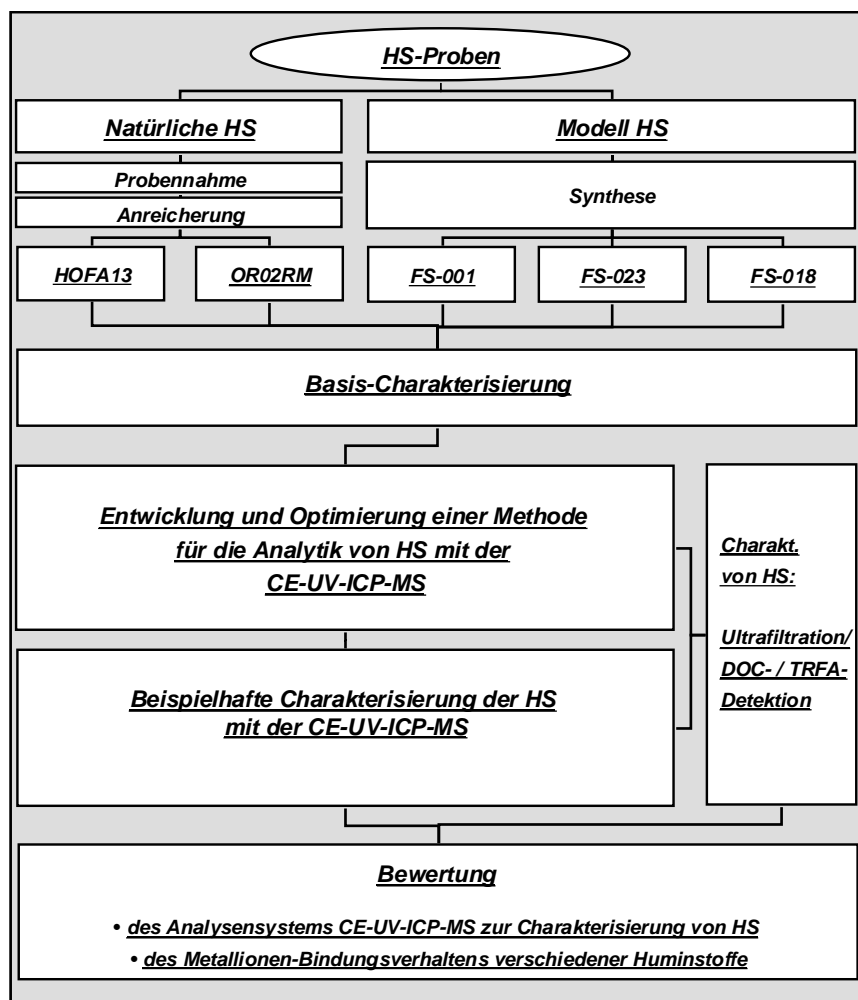


Abbildung 22: Fließschema des für die Charakterisierung des Metallionen-Bindungsverhaltens von Huminstoffen eingesetzten analytischen Verbundverfahrens

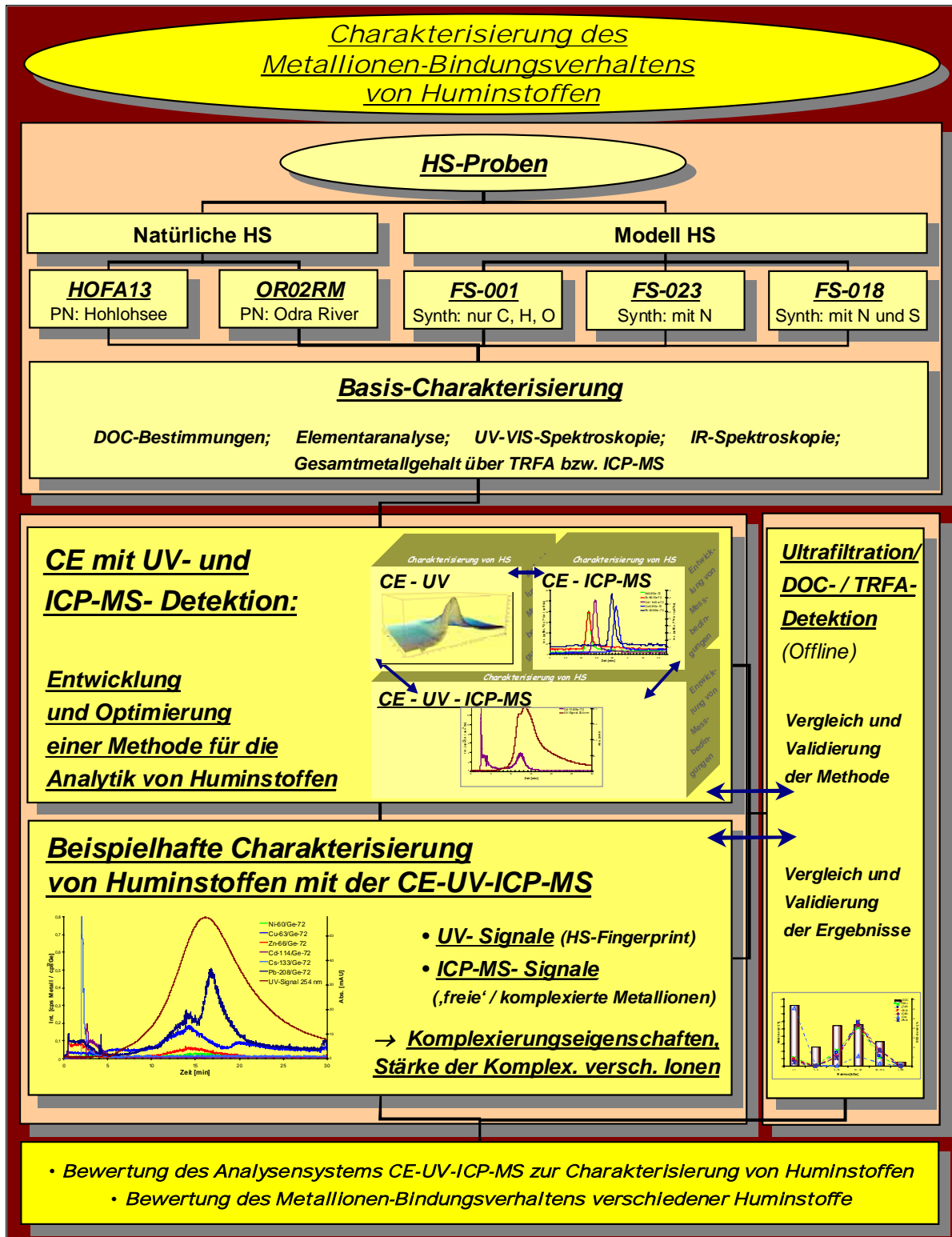


Abbildung 23: Vorgehensweise für die Charakterisierung des Metallionen-Bindungsverhaltens von Huminstoffen mit der CE-UV-ICP-MS

### 3.1 Entwicklung einer Methode zur Charakterisierung von Huminstoffen mit dem gekoppelten System Kapillarelektrophorese mit UV- und ICP-MS- Detektion (CE-UV-ICP-MS)

Huminstoffe können mit der Kapillarelektrophorese fraktioniert und über die Detektion des UV-Signals charakterisiert werden. Diese Art der Charakterisierung von Huminstoffen ist noch relativ jung [176].

Um diese Methodik auf metallhaltige Huminstoffe unter Nutzung der Kapillarelektrophorese mit UV-Detektion und darüberhinausgehend einer online gekoppelten ICP-MS-Detektion (CE-UV-ICP-MS) auszudehnen, musste zunächst eine Methode entwickelt werden, die die Charakterisierung von Huminstoffen unter Berücksichtigung ihrer Schwermetallgehalte gestattet. Transiente ICP-MS-Signale sollten Elementverteilungsmuster liefern, die mit den über UV-Detektion erhaltenen Informationen über die Fraktionierung des Huminstoffs zusammenzuführen und auszuwerten waren. Auf diese Weise sollte die Methode zusätzlich eine Beschreibung der metallbindenden Eigenschaften von Huminstoffen ermöglichen.

Das in dieser Arbeit zur Charakterisierung von Huminstoffen und ihrem Metallbindungsverhalten eingesetzte gekoppelte System CE-ICP-MS ist schematisch in Abbildung 24 dargestellt.

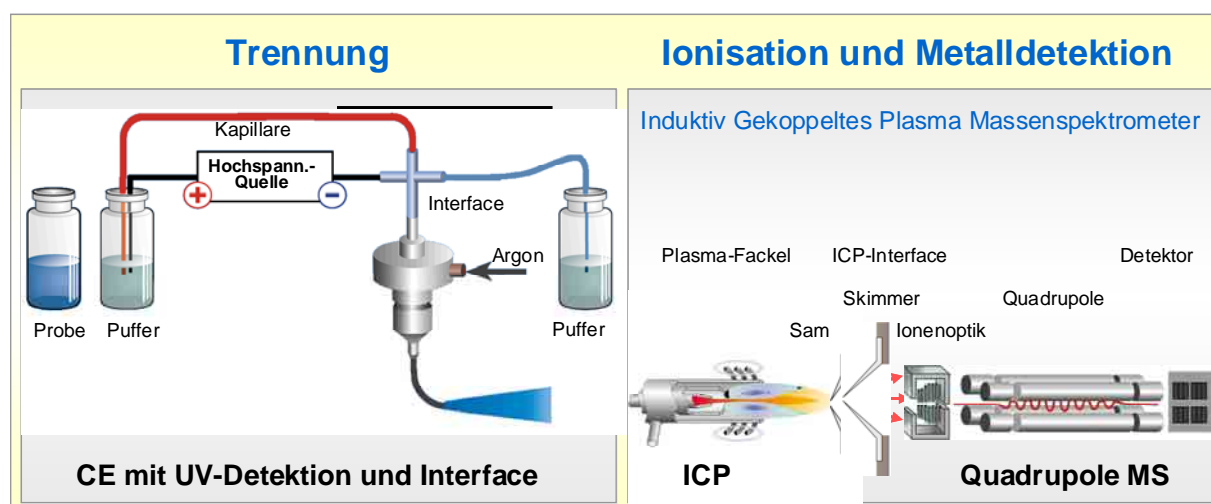


Abbildung 24: Schematische Darstellung des gekoppelten Systems CE-ICP-MS [123]



Es besteht aus den zunächst unabhängigen Geräten CE und ICP-MS, die über ein spezielles Interface miteinander verbunden und über zwei Computer angesteuert werden. Die Fotos in Abbildung 25 zeigen das System CE-ICP-MS, wie es am Forschungszentrum Geesthacht realisiert ist und für die vorliegenden Untersuchungen eingesetzt wurde (CE: Agilent CE3D; ICP-MS: Agilent 7500S; Interface: CETAC CEI-100).

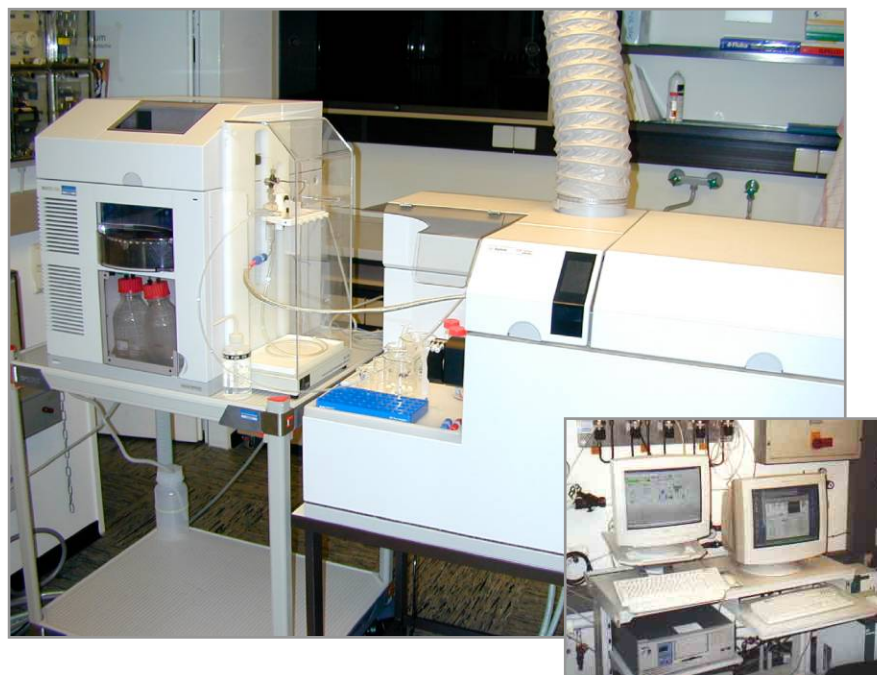


Abbildung 25: Gekoppeltes System CE-ICP-MS und Rechner zur Ansteuerung von CE bzw. ICP-MS

Das Interface, das die CE mit der ICP-MS verbindet, den Flüssigkeitsstrom beider Geräte anpasst und den Stromkreis schließt, wurde am GKSS-Forschungszentrum Geesthacht von A. Prange und D. Schaumlöffel [200] entwickelt.

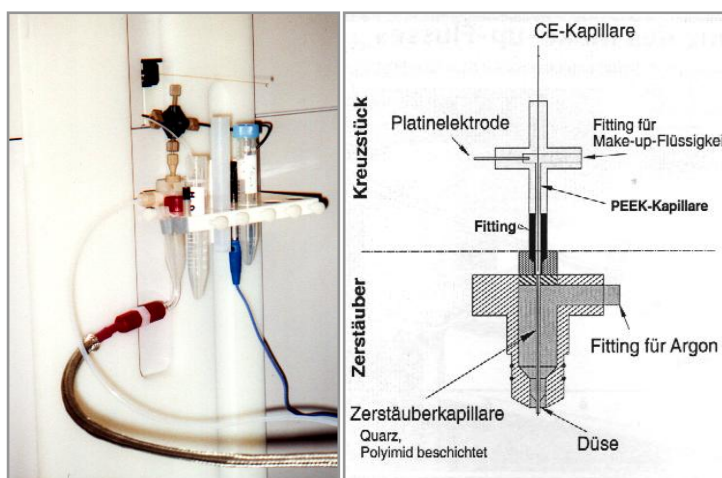
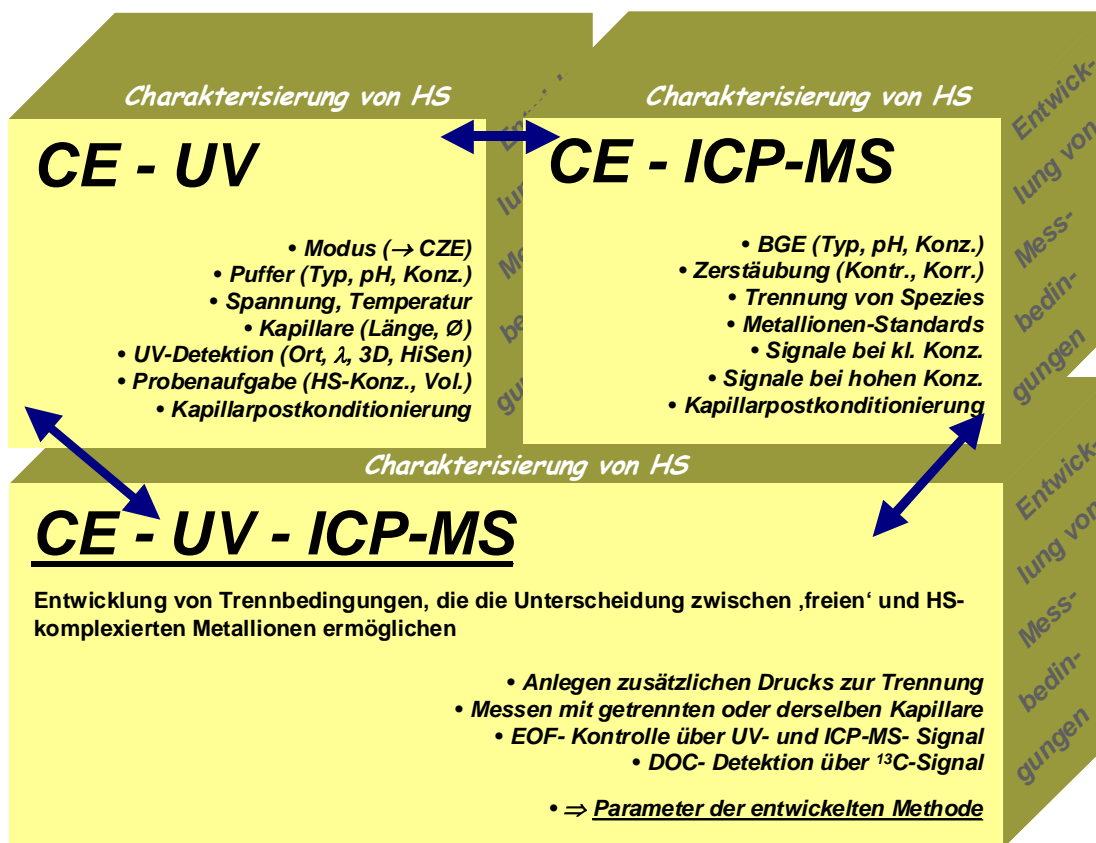


Abbildung 26: Foto und schematische Zeichnung vom Interface CETAC CEI 100 [200]

Zur Entwicklung geeigneter Messbedingungen für eine umfangreiche Beschreibung der metallspezifischen Eigenschaften von Huminstoffen mit dem System CE-UV-ICP-MS wurde mit der Erarbeitung der Versuchsbedingungen, die eine gute Fraktionierung und damit Charakterisierung der zu untersuchenden Huminstoffe mit der CE-UV ermöglichen, begonnen. Zusätzlich wurde an den Messbedingungen für eine gute Metalldetektion - bezüglich der Analytik von Huminstoffen - mit der CE-ICP-MS gearbeitet. Schließlich wurde eine Kombination dieser teilweise voneinander abweichenden Anforderungen zu einer Gesamtmethode erarbeitet, die ein möglichst großes Spektrum an Informationen zum Huminstoff-System liefert.

Die Abbildung 27 veranschaulicht die thematischen Blöcke des Vorgehens und ihr wechselseitiges Bedingungs- oder Abhängigkeitsverhältnis.



**Abbildung 27:** Schematische Darstellung der Vorgehensweise bei der Entwicklung einer Methode zur Charakterisierung des Metallbindungsverhaltens von Huminstoffen

Die erforderlichen Messbedingungen sind wechselseitig voneinander abhängig und verlangten z.T. ein ‚iteratives‘ Vorgehen bei der Optimierung

Bei allen im Folgenden dargestellten Elektropherogrammen ist auf der x-Achse die Migrationszeit (Zeit) der Probenbestandteile in Minuten [min] aufgetragen. Die y-Achse zeigt bei UV-Detektion die UV-Absorption (Abs.) bei 254 nm in der Einheit milli Arbitrary Units [mAU], bei ICP-MS-Detektion die Intensität (Int.) in counts per second [cps].

### 3.1.1 Kapillarelektrophorese mit UV-Detektion (CE-UV)

Die Kapillarzonenelektrophorese (CZE) und die Kapillargelelektrophorese (CGE) sind für die Analytik von Huminstoffen geeignete Modi der Kapillarelektrophorese [170] [174] [176]. Aufgrund der geplanten Kopplung der CE mit der ICP-MS wurde der Modus der CZE gewählt. Die CGE arbeitet mit Druck und statischen bzw. dynamischen Gelen, die nicht in das Interface und die ICP-MS gelangen sollten. Die bei der CZE relevanten Parameter wurden auf ihre Eignung zur Beschreibung von Huminstoffsystemen getestet.

#### 3.1.1.1 Auswahl, Konzentration und pH-Wert des Puffersystems bzw. Hintergrundelektrolyten

Die Fraktionierung von Huminstoffen ist mit verschiedenen Puffersystemen oder Hintergrundelektrolyten möglich. Ein geeigneter Puffer führt zu einer Fraktionierung des Huminstoffs in Grobfraktionen, die sich über deutliche und aufgefächerte UV-Signale verfolgen und aufzeichnen lassen. Reaktionen mit der Probe sowie Komplexbildung mit Metallionen oder Bildung schwerlöslicher Produkte sollten nach Möglichkeit nicht stattfinden. Bei einer hohen angelegten Spannung (zwischen 15 und 30 kV) sollte ein konstanter, nicht zu starker Strom fließen. Weiterhin sind akzeptable Analysenzeiten und möglichst geringe Adsorptionen von Probenbestandteilen an der Kapillarwandung erwünscht.

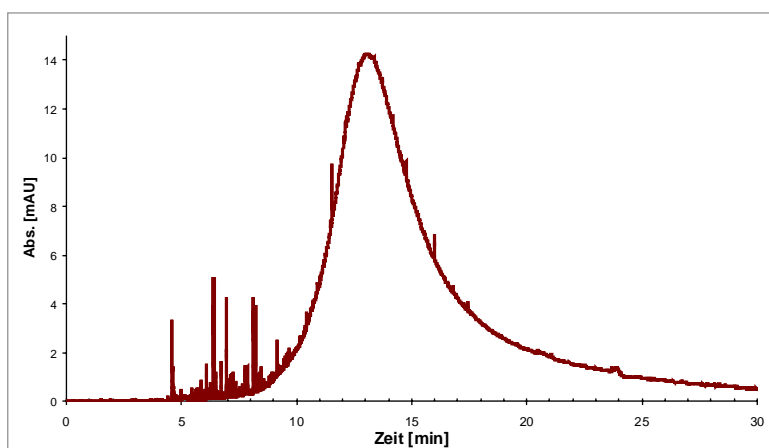
Der pH-Wert des Puffers hat über den Grad der Deprotonierung der Silanolgruppen an der Kapillarinnenwand starke Auswirkungen auf den elektroosmotischen Fluss (EOF). Auch die Wanderungsgeschwindigkeit und die Fraktionierung der Huminstoffproben wird durch den Grad der Deprotonierung hauptsächlich der Carboxyl- und Phenolgruppen in Abhängigkeit vom pH-Wert des Puffers stark beeinflusst. Zunächst wurden hauptsächlich Puffersysteme im Neutralen oder Alkalischen getestet, um eine deutliche Deprotonierung der HS zu gewährleisten und Wandadsorptionen zu minimieren.

Auch die Konzentration des Puffersystems hat einen deutlichen Einfluss auf den Stromfluss und die Trennung. Es zeigte sich, dass es für die Fraktionierung von Huminstoffen der entscheidende Faktor war, die Pufferkonzentration so zu wählen, dass der Strom während der Trennung je nach eingesetztem Puffersystem  $\leq 50 \mu\text{A}$  war. Auf diese Weise wurden die Erwärmung im Kapillarinneren in Grenzen gehalten, Blasenbildung vorgebeugt und stabile Trennungen erreicht. Eine Kontrolle des jeweiligen Puffersystems erfolgte auch über ein stufenweises Anlegen von ansteigenden Spannungen. Der dabei über eine bestimmte Zeit fließende Strom wurde aufgezeichnet. Die entstehenden Plateaus sollten eben und waagrecht verlaufen. Für die folgenden Versuche und Optimierungen wurde hauptsächlich die käufliche Huminstoffprobe Aldrich eingesetzt.

### 3.1.1.1.1 Puffersystem Carbonat

Im Carbonatpuffer ergaben sich für die Huminstoffprobe Aldrich charakteristische breite UV-Signale (Humic Humps), die die Huminstoffmoleküle nach ihren Ladungs-/Masse-Verhältnissen fraktioniert darstellen. Aus der Vielzahl der Untersuchungen werden beispielhaft die Verhältnisse bei Variation von pH-Wert und Konzentration beschrieben.

**pH-Wert 9,3; Konzentration 25 mmol/L** Im Carbonatpuffer entsteht bei einem pH-Wert von 9,3 und einer Konzentration von 25 mmol/L ein UV-Signal, das eine breite Verteilung des Huminstoffs in verschiedenen schnell migrierende Fraktionen zeigt, die im Vergleich zu einigen anderen Puffern nur ein Maximum aufweisen (Abbildung 28). Im Elektropherogramm ist auf der x-Achse die Migrationszeit der Probenbestandteile in Minuten aufgetragen, die y-Achse zeigt jeweils die UV-Absorption (Abs.) bei 254 nm in der Einheit milli Arbitrary Units [mAU].



**Abbildung 28:** UV-Signal (254 nm) der CE-Fraktionierung der Huminstoffprobe Aldrich mit einem Carbonatpuffer des pH-Werts 9,3 bei der Konzentration 25 mmol/L

Die Hauptfraktion der Huminstoffprobe erreichte den Detektor nach ca. 13 Minuten. Unter den eingesetzten Messbedingungen war die Fraktionierung nach 30 Minuten weitgehend abgeschlossen.

**pH-Wert 9,3; Konzentration 8 mmol/L.** Die Reduzierung der Konzentration auf 8 mmol/L wirkte sich deutlich auf die Fraktionierung der Huminstoffprobe aus. Die grobe Form des Signals blieb ähnlich, aber die mittlere Migrationszeit sank auf etwa 10 Minuten und das Signal wurde schmaler (Abbildung 29). Dem Vorteil geringerer Analysenzeiten stand der Nachteil einer schwächeren Fraktionierung gegenüber.

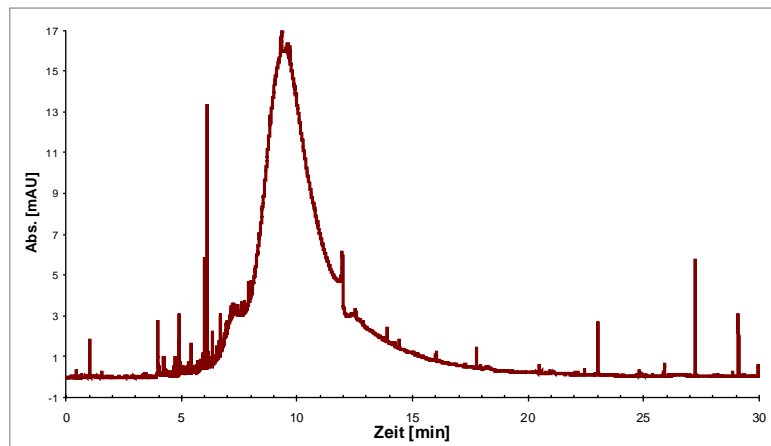


Abbildung 29: UV-Signal (254 nm) der CE-Fraktionierung der Huminstoffprobe Aldrich mit einem Carbonatpuffer des pH-Werts 9,3 bei der Konzentration 8 mmol/L

**pH-Wert 11,4; Konzentration 8 mmol/L.** Die Abbildung 30 zeigt die Fraktionierung der Huminstoffprobe Aldrich bei Verwendung eines Carbonatpuffers des pH-Wertes 11,4. Die Erhöhung des pH-Wertes führte durch die zunehmende Deprotonierung der Silanolgruppen an der Kapillaroberfläche zu einem erhöhten EOF, was sich in einem noch schmaleren Huminstoffsignal mit einem Maximum bei weiter verringerten Migrationszeiten auswirkte. Gleichzeitig wurde die Huminstoffprobe bei diesem pH-Wert in stärkerem Maße deprotoniert und aus diesem Grund auch in ihrem elektrophoretischen Fraktionierungsverhalten verändert.

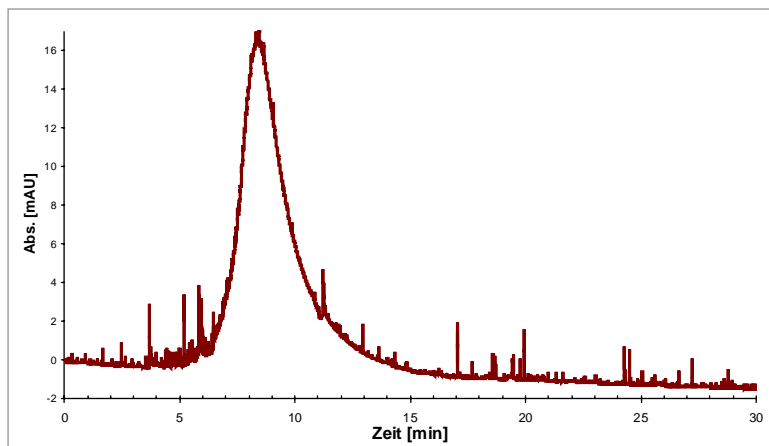


Abbildung 30: UV-Signal (254 nm) der CE-Fraktionierung der Huminstoffprobe Aldrich mit einem Carbonatpuffer des pH-Werts 11,4 bei der Konzentration 8 mmol/L

*Fazit:* Hohe pH-Werte führen bei der Fraktionierung von Huminstoffen zu relativ kurzen Analysenzeiten, je niedriger der pH-Wert gewählt wird, desto länger dauert die Fraktionierung.

### 3.1.1.1.2 Puffersystem Borat

Ein Tetraboratpuffer der Konzentration 10 mmol/L bei einem pH-Wert von 8,5 zeigte für die Huminstoffprobe Aldrich ein deutlich anderes Signal (Abbildung 31). Es sind zwei Hauptfraktionen erkennbar, ein breites Huminstoffsignal mit einem Maximum um 17 Minuten und eine schmalere Fraktion, die mit einem Maximum bei etwa 14 Minuten auf dem Humic Hump liegt.

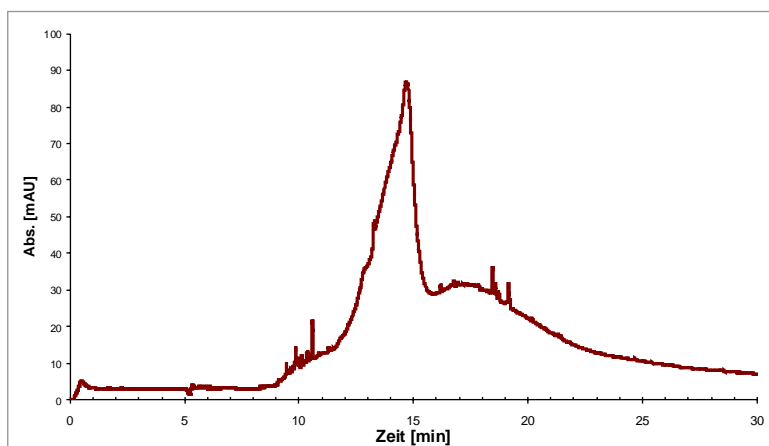


Abbildung 31: UV-Signal (254 nm) der CE-Fraktionierung der Huminstoffprobe Aldrich mit einem Tetraboratpuffer des pH-Werts 8,5 bei der Konzentration 10 mmol/L

### 3.1.1.1.3 Puffersystem Acetat

Ein Acetatpuffer mit dem pH-Wert 8,0 führte bei der Konzentration 25 mmol/L zu einem Signal, das dem des Carbonatpuffers ähnelte, allerdings breiter war (Abbildung 32). Der Acetatpuffer ist insbesondere auch im Hinblick auf den Einsatz im gekoppelten System sehr interessant. Er ermöglicht neben guter Fraktionierung auch ohne den weiter unten diskutierten Einsatz einer ‚High Sensitivity Detection Cell‘ deutliche UV-Signale.

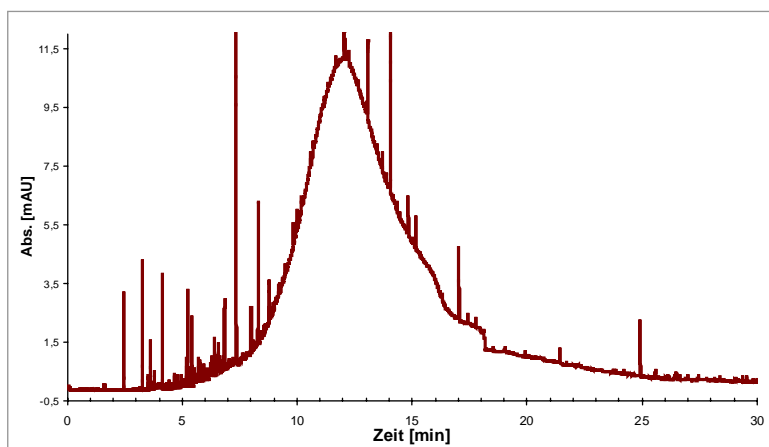


Abbildung 32: UV-Signal (254 nm) der CE-Fraktionierung der Huminstoffprobe Aldrich mit einem Acetatpuffer des pH-Werts 8,0 bei der Konzentration 25 mmol/L

#### 3.1.1.1.4 Puffersystem Phosphat

Ein Phosphatpuffer des pH 9,2 zeigte bei der Konzentration 10 mmol/L, wie in Abbildung 33 dargestellt, für die Huminstoffprobe Aldrich ein breites UV-Signal, das zwei Grobfractionen erkennen lässt. Die Hauptfraktionen erreichten den Detektor nach etwa 20 Minuten. Unter den eingesetzten Messbedingungen war die Fraktionierung nach 30 Minuten weitgehend abgeschlossen.

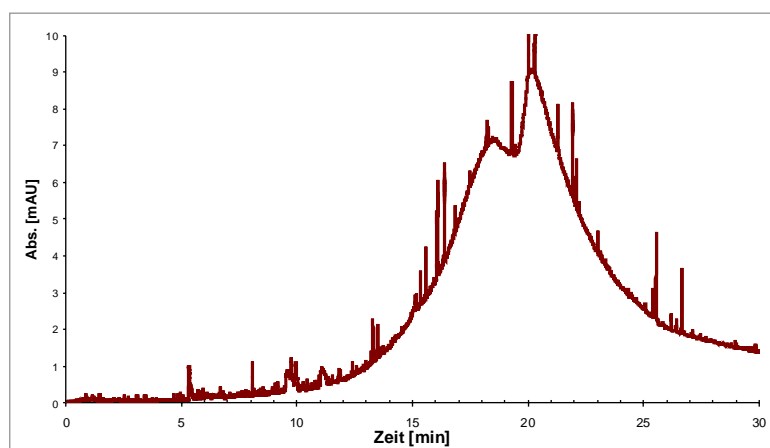


Abbildung 33: UV-Signal (254 nm) der CE-Fraktionierung der Huminstoffprobe Aldrich mit einem Phosphatpuffer des pH-Werts 9,2 bei der Konzentration 10 mmol/L

*Fazit:* Die deutlichen Auswirkungen von Änderungen des Puffersystems bzw. des pH-Wertes und der Konzentration zeigen die Notwendigkeit, diese Versuchsbedingungen bei vergleichenden Messungen absolut konstant zu halten.

Die Untersuchungen ergaben, dass besonders Carbonat-, Borat-, Acetat- und Phosphatpuffer bei pH-Werten zwischen 7 und 11 [169] geeignete Hintergrundelektrolyten für eine Huminstoff-Fraktionierung sind. Besonders der Acetat- und der Phosphatpuffer lassen gute Voraussetzungen für eine Huminstoff-Fraktionierung mit zusätzlicher simultaner ICP-MS-Detektion auch bei niedrigeren pH-Werten und veränderten Versuchsbedingungen erkennen.

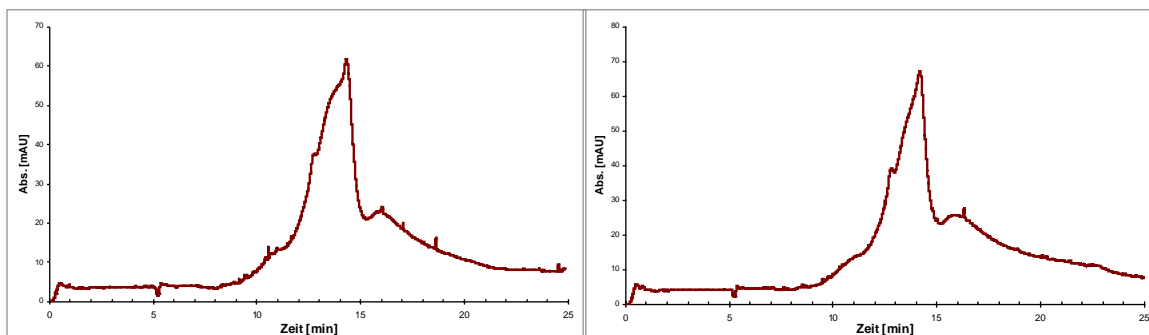
### 3.1.1.2 Wandadsorptionseffekte und Entwicklung einer Postkonditionierung der Kapillare

Die Kapillarelektrophorese hat gegenüber der Flüssigkeitschromatographie den Vorteil, ohne stationäre Phase und den damit verbundenen Adsorptions- und Konformationsänderungs-Effekten der Probenbestandteile auszukommen. Dennoch gibt es auch bei der CE teilweise Adsorptionen von Probenbestandteilen an der inneren Wandung der Kapillare, die zu Memory-Effekten führen bzw. Auswirkungen auf den elektroosmotischen Fluss haben können.

Daher wurde speziell für den Fall der Charakterisierung von Huminstoffen eine Postkonditionierung der Kapillare erarbeitet, die nach einer Messung die Kapillare in annähernd denselben - reproduzierbaren - Zustand wie vor der Messung versetzt. Als wichtiger Bestandteil der Kapillarreinigung zeigte sich das Füllen und Spülen der Kapillare mit Kaliumhydroxid-Lösung, welches der Deprotonierung der funktionellen Gruppen und dadurch der erheblich verbesserten Löslichkeit der Huminstoffmoleküle diente. Weitere Spülschritte entfernten die eventuell verbliebenen Probenreste und verbesserten die Reproduzierbarkeit der Messungen erheblich.

Messläufe ohne Probe, Messungen der Reproduzierbarkeit von Huminstoffproben, sowie definierter Moleküle wie Salicylsäure, Hydrochinon, Mesityloxid (MSO) bzw. Dimethylsulfoxid (DMSO) bestätigten die Eignung der durchgeführten Reinigungsschritte. Der Zustand der jeweils eingesetzten Kapillare wurde bei sämtlichen Messungen regelmäßig über die Konstanz der Migrationszeiten von EOF-Markern überwacht.

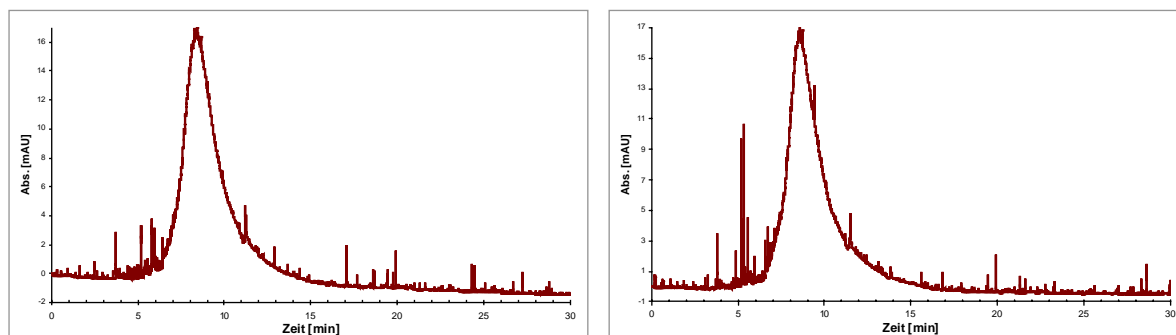
Die Abbildung 34 zeigt Wiederholmessungen der Probe Aldrich mit dem Tetraborat-Puffer bei einem pH-Wert von 8,5.



**Abbildung 34: Wiederholmessungen der Probe Aldrich mit dem Tetraborat-Puffer bei einem pH-Wert von 8,5 und Kapillar-Postkonditionierung**

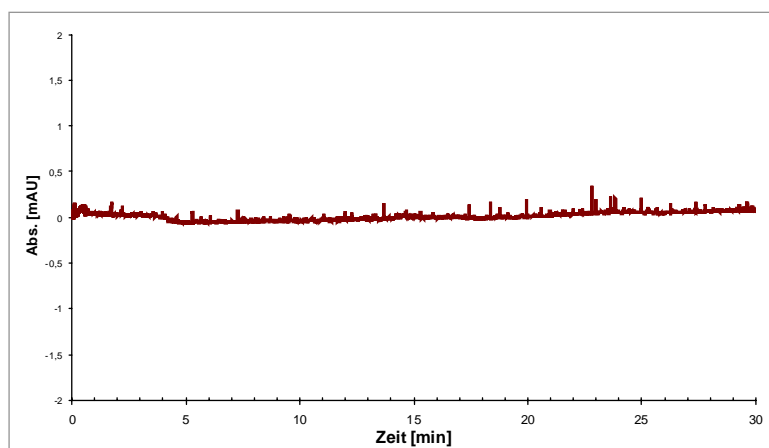


Ein weiteres Beispiel der Reproduzierbarkeit der Elektropherogramme ist in Abbildung 35 dargestellt. Hier handelt es sich um Wiederholmessungen mit einem Carbonatpuffer bei einem pH-Wert von 11,4.



**Abbildung 35: Wiederholmessungen der Probe Aldrich mit dem Carbonat-Puffer bei einem pH-Wert von 11,4 und Kapillarpostkonditionierung**

Neben Wiederholmessungen von Proben und EOF-Markern wird der einwandfreie Zustand der Kapillare nach der eingesetzten Postkonditionierung deutlich, wenn statt einer Probe nur Pufferlösung injiziert und so eine Blindprobe gemessen wird. Ein solches Signal ist in Abbildung 36 gezeigt.



**Abbildung 36: UV-Signal (254 nm) der CE-Fraktionierung einer Blindprobe**

*Die Messung erfolgte nach der Fraktionierung von Huminstoffproben mit anschließender Kapillarpostkonditionierung*

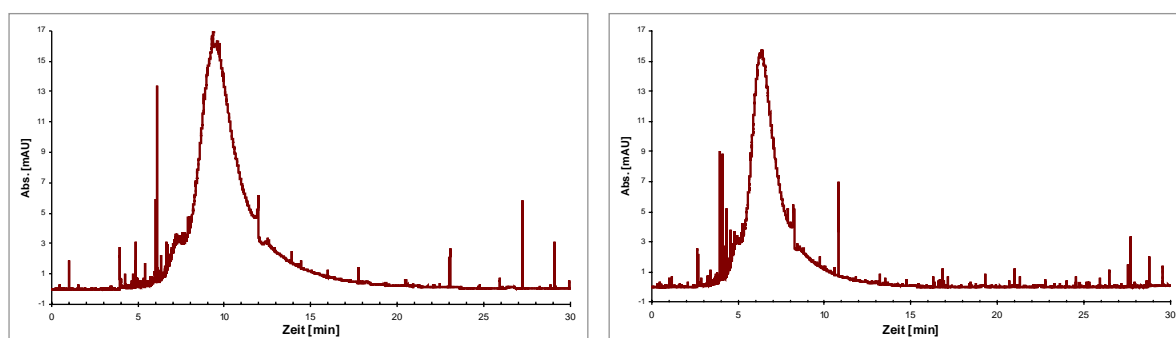
*Fazit:* Durch die Postkonditionierung der Kapillare wurde eine Konstanz des elektroosmotischen Flusses und die damit verbundene Reproduzierbarkeit der Elektropherogramme gewährleistet.

### 3.1.1.3 Optimierung von Apparateparametern

Mit Hilfe der CE-Software können eine Reihe von die Fraktionierung beeinflussenden Einstellungen vorgenommen werden. Entscheidende Bedeutung haben die angelegte Spannung, die Temperatur, die Probenaufgabe, aber auch die Länge und der Durchmesser der Kapillare und die Detektion.

#### 3.1.1.3.1 Spannung

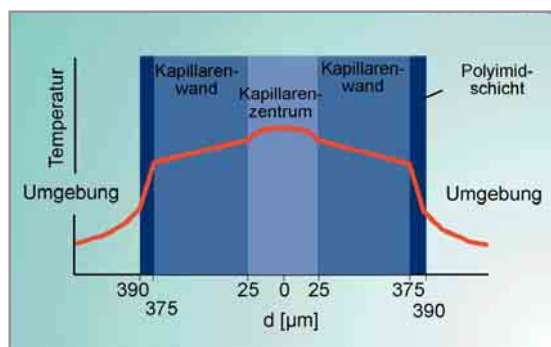
In Abbildung 37 ist die Auswirkung der Erhöhung der Spannung von 20 kV auf 30 kV auf das Fraktionierungsverhalten einer Huminstoffprobe gezeigt. Die höhere Spannung führte zu einer Erhöhung des EOF. Dadurch erschien das Signal des Huminstoffs deutlich früher (Maximum bei 6,5 Minuten, statt bei ca. 10 Minuten). Das Huminstoffsignal wurde schmaler, behielt aber die Charakteristika seiner Form bei.



**Abbildung 37:** UV-Signale (254 nm) der CE-Fraktionierung der Huminstoffprobe Aldrich unter Einsatz eines Carbonatpuffers, pH 9,3 bei 20 kV bzw. 30 kV

#### 3.1.1.3.2 Temperatur

Durch das angelegte elektrische Feld wird in der Kapillare ein Stromfluss induziert, der zu einer Wärmeentwicklung führt (Joulesche Erwärmung). Die Temperatur der Kapillare hat daher einen Einfluss auf die Viskosität, den elektroosmotischen Fluss, die Diffusion, den Strom, die Ionenstärke und damit auf die Mobilität der Analyten [160]. Der Abtransport der entstehenden Wärme kann nur über die Kapillarwand erfolgen. Dadurch resultiert ein starker Temperaturgradient und ein damit verbundener Viskositätsgradient (2-3 % pro °C) senkrecht zur elektrophoretischen Migration der Analyten im Puffersystem (Abbildung 38).



**Abbildung 38: Verlauf des Temperaturgradienten innerhalb der Kapillare [160]**

Für gute elektrophoretische Trennungen sollte der Temperaturgradient durch Kühlung der Kapillare gering gehalten werden. Kühlung ist in vielen Fällen nötig, um ein unerwünschtes Ausgasen des Trennpuffers und damit verbundene Unterbrechungen des Stromflusses zu verhindern. Wichtig ist auch die Vermeidung lokaler Überhitzungen in der Kapillare, die u.U. zu Veränderungen der Proben führen könnten.

Um Bedingungen zu finden, die sowohl zu guten Fraktionierungen führen, als auch einen stabilen Stromfluss gewährleisten, wurde die Temperatur der Kapillare zwischen 25 °C und 15 °C in Schritten von 5 °C variiert. Bei den höheren Kapillartemperaturen von 25 °C und 20 °C trat vermehrt Blasenbildung auf, die sich in Zusammenbrüchen des Stromes äußerte, so dass die Elektropherogramme nicht auszuwerten waren. Gut geeignet waren 15 °C, die entstehende Joulesche Wärme wurde gut abgeführt und Zusammenbrüche des Stromflusses traten nur noch selten auf. Nachteilige Effekte der Kühlung wie eine zu hohe Viskosität des Puffers, ein zu geringer EOF und damit verbundene höhere Migrationszeiten bzw. geringere Injektionsvolumina und schwächere Signale wurden bei dieser Temperatur nicht festgestellt.

Es wurde daher im folgenden für die Fraktionierungen der Huminstoffe mit einer Temperatur von 15 °C gearbeitet. Ein dennoch gelegentlich auftretendes Ausgasen, das sich teilweise bei Messungen mit dem gekoppelten System bei längeren Migrationszeiten bemerkbar machte, wurde durch Behandeln der Pufferlösung im Ultraschallbad weitestgehend verhindert.

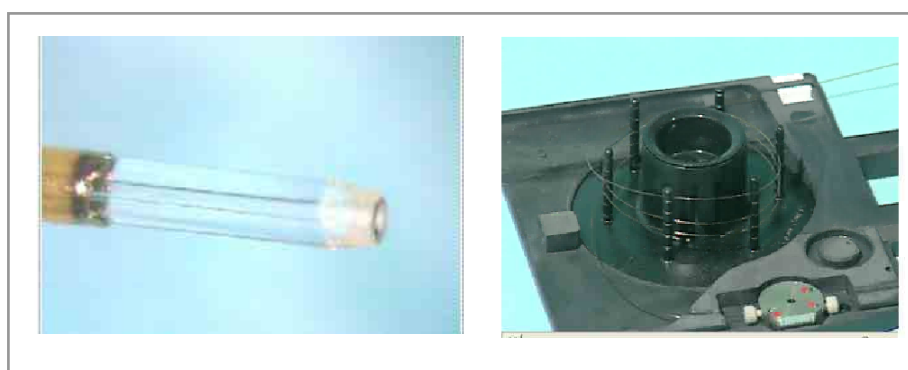
### 3.1.1.3.3 Art, Länge und Durchmesser der Kapillare

Bei Fraktionierungen mit der Kapillarzonenelektrophorese werden generell innen unbeschichtete Quarzkapillaren eingesetzt. Für die geplante Kopplung der CE mit der ICP-MS wurde der Außendurchmesser der eingesetzten Kapillaren auf 375 µm festgelegt, da derartige Kapillaren einen reibungsfreien Übergang ins Interface gewährleisten. Die Länge der Kapillaren sowie der innere Durchmesser wurden variiert und optimiert.

Die Kapillarlänge beeinflusst neben der Temperatur der Kapillare und dem Injektionsvolumen auch den Strom. Der Strom nimmt allgemein mit zunehmender Länge der Kapillare ab. Die Mindestlänge einer einzusetzenden Kapillare betrug 60 cm, da für den geplanten Einsatz im gekoppelten System CE-ICP-MS der Abstand von der Anode zum Interface diese Länge verlangt [200]. Es wurden Huminstoff-Fraktionierungen mit Kapillaren der Längen 60 cm, 70 cm und 90 cm durchgeführt. Mit den 60 cm und 70 cm Kapillaren konnten vergleichbar gute Fraktionierungen erreicht werden. Der Einsatz einer Kapillare der Länge 90 cm wurde aufgrund der längeren Migrationszeiten und der weiteren Verbreiterung des Huminstoffsignals nicht weiter verfolgt. Daher wurde die Länge der Kapillare hauptsächlich auf 60 cm festgelegt.

Ein Kapillarinne Durchmesser von 74-76  $\mu\text{m}$  hat sich für das Fraktionieren von Huminstoffen als gut erwiesen. Bei dieser Größe waren die Kapillaren robust und überstanden Belastungen wie das Freibrennen eines UV-Fensters und die relativ aggressiven Postkonditionierungen zur Reinigung der Kapillare zwischen den Messläufen. Kapillaren dieses Innendurchmessers ermöglichten auch den Einsatz einer High Sensitivity Detection Cell (s.u.).

Das Freibrennen der Fenster für die UV-Detektion erfolgte so weit wie möglich am Kapillarende. Für Messungen mit alleiniger UV-Detektion wurde das Fenster nach 51,5 cm angebracht. Bei Kapillaren, die im gekoppelten System zum Einsatz kamen, wurde das UV-Fenster nach exakt 20 cm Kapillarstrecke lokalisiert. Das Schneiden und Reinigen der Kapillaren, sowie das Erstellen der UV-Fenster ist in Kapitel 5 beschrieben. Abbildung 39 zeigt das Ende einer Quarzkapillare mit entfernter Außenbeschichtung sowie die Kapillare in ihrer Kassette mit UV-Fenster.



**Abbildung 39: a) Quarzkapillare mit entfernter (Außen-) Beschichtung; b) Kapillare mit UV-Fenster (High Sensitivity Detection Cell) in der Kassette (System: Agilent)**

Die Kapillaren wurden vor jeder Messung neu konditioniert, indem sie jeweils fünf Minuten mit einer KOH-Lösung (0,1 mol/L), zwei Minuten mit  $\text{H}_2\text{O}$  und fünf Minuten mit dem entsprechenden Laufpuffer gespült wurden.

### 3.1.1.3.4 Injiziertes Probenvolumen und Probenkonzentration

Die Probenaufgabe erfolgte in allen Fällen hydrodynamisch. Dabei wurde mithilfe des CE-Probenkarussells das Puffervial am Kapillareingang durch das Probenvial ersetzt, eine dichte Verbindung zwischen Kapillare und Probenflüssigkeit hergestellt und durch Anlegen eines definierten Druckes über eine bestimmte Zeit ein Probenpfropfen in die Kapillare gebracht (vgl. Abbildung 40). Diese Art der Probenaufgabe ist abhängig von der Druckdifferenz und der Injektionszeit und ermöglicht unter den eingestellten, optimierten Bedingungen minimale Injektionsvolumina von 2,2 nL (bei 10 mbar · 2 s).

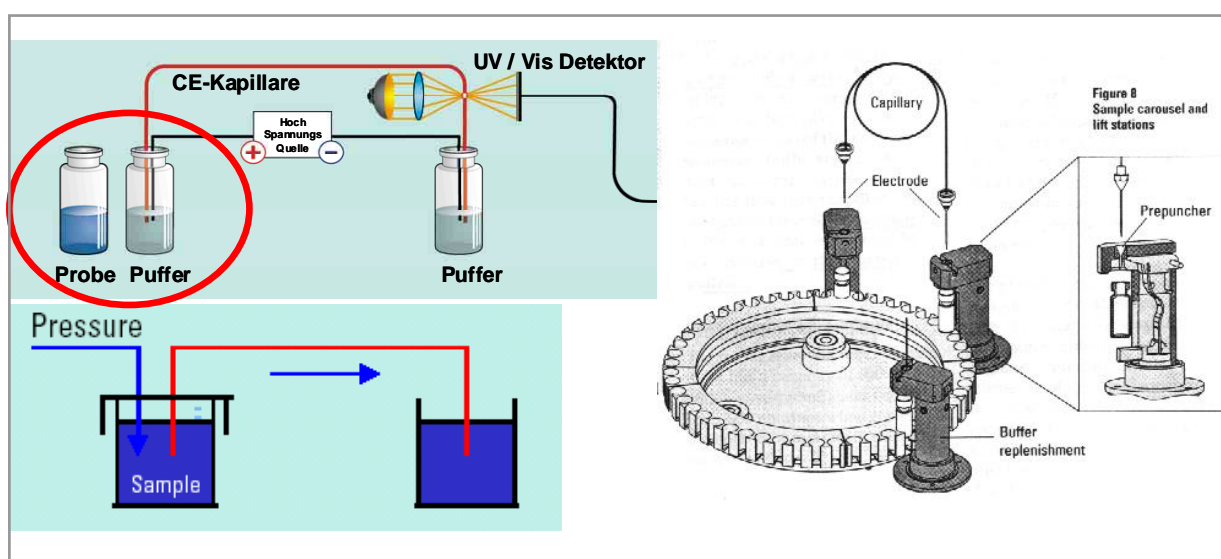
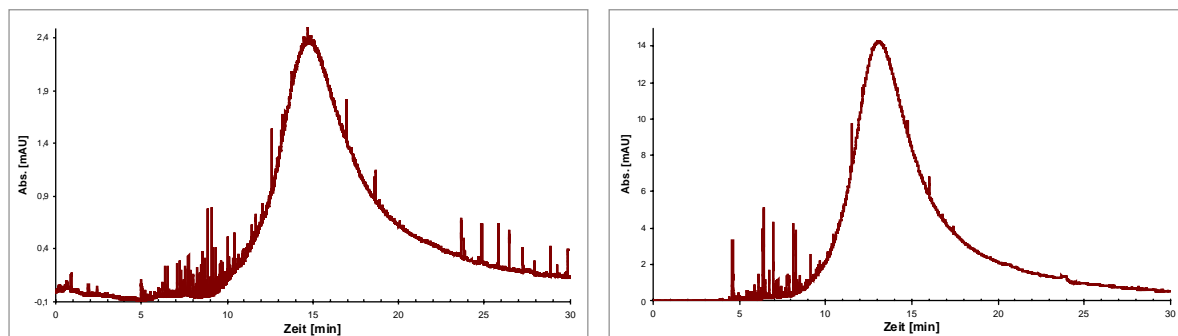


Abbildung 40: Austausch des Puffervials gegen ein Probenvial [122] mit dem Probenkarussell und Injektion der Probe durch Anlegen eines Druckes (Agilent <sup>3D</sup>CE) [162]

Um abzuklären, welchen Einfluss die Huminstoff-Probenkonzentration und die injizierten Probenvolumina auf die UV-Signale haben, wurden sowohl die Konzentrationen der Proben als auch die Injektionsvolumina variiert. Dabei zeigte sich, dass die Huminstoffkonzentration (als DOC) in den Proben nicht unter 0,2 mg/mL liegen sollte, um eine gute Fraktionierung und UV-Detektion zu gewährleisten. Bei Einsatz einer ‚High Sensitivity Detection Cell‘ (s. Abschnitt 3.1.1.5) können auch geringere Probenkonzentrationen gut detektiert werden. Einer möglichst guten Vergleichbarkeit halber wurden die Huminstoffproben weitgehend in einer Konzentration von 1 mg/mL angesetzt.

Abbildung 41 zeigt zwei typische Elektropherogramme mit Probenaufgaben von 50 mbar · 4 s bzw. 50 mbar · 20 s.



**Abbildung 41:** Elektropherogramme einer Huminstoffprobe bei einer Probenaufgabe von 200 bzw. 1000 mbar·s

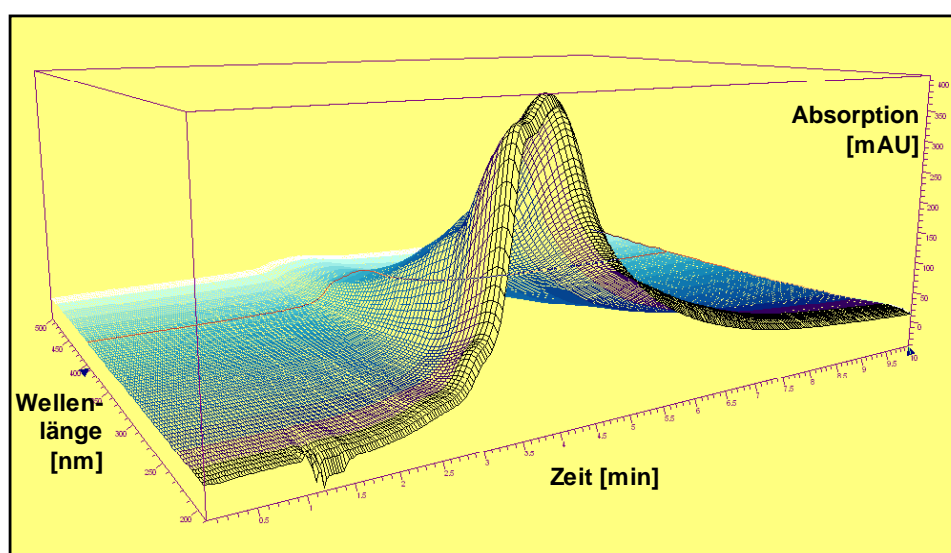
Die Absorption stieg bei verfünffachtem Injektionsvolumen von ca. 2,4 mAU auf 14 mAU, also etwa um einen Faktor 5. Somit war die Signalintensität bei gegebenem Puffer vom Injektionsvolumen abhängig. Allerdings stellte bei den im folgenden eingesetzten Puffersystemen eine Probenaufgabe von 200 mbar·s aufgrund eines zu lang werdenden Probenpfropfens und eines damit verbundenen Einflusses auf das Fraktionierungsverhalten sowie eines unregelmäßigeren Stromflusses insbesondere bei hohen Spannungen eine obere Grenze dar, die nicht überschritten werden durfte.

*Fazit:* Hohe Spannungen von 30 kV erwiesen sich insbesondere bei niedrigen pH-Werten des Puffersystems und guter Kühlung als vorteilhaft. Im Folgenden wurde für die Fraktionierungen der Huminstoffe eine Temperatur von 15 °C eingesetzt. Als gut geeignet erwiesen sich innen unbeschichtete Quarzkapillaren mit einem Außendurchmesser von 375 µm und einem Innendurchmesser von 75 µm bei einer Länge von 60 cm. Eine gut geeignete Injektion der Huminstoffproben war mit 200 mbar·s bei einer Konzentration von 1 mg/mL DOC gegeben.

### 3.1.1.4 UV-Detektion: Evaluation geeigneter Wellenlängen

Hinsichtlich der Detektion der fraktionierten Huminstoffe über ein UV-Signal stellte sich die Frage nach der auszuwählenden Wellenlänge. Huminstoffe absorbieren im UV-Bereich und weisen von kurzen zu großen Wellenlängen relativ monoton abfallende UV-Spektren auf. Da bei kürzeren Wellenlängen die Absorptionen höher sind, ist eine Huminstoffdetektion bei diesen Wellenlängen empfindlicher. Um die UV-Signale einer Huminstoffprobe bei verschiedenen Wellenlängen vergleichen zu können, wurden für sämtliche Messungen die UV-Absorptionen bei 200 nm, 214 nm, 254 nm und 280 nm aufgezeichnet, teilweise wurden auch dreidimensionale UV-Spektren aufgenommen.

Die Abbildung 42 zeigt beispielhaft die dreidimensionale UV-Detektion einer CE-fraktionierten Huminstoffprobe im Wellenlängenbereich zwischen 190 nm und 500 nm.



**Abbildung 42: Dreidimensionale UV-Detektion der CE-fraktionierten Huminstoffprobe FS-001**

*Auf der x-Achse ist die Migrationszeit aufgetragen, die zweite Achse zeigt die Absorption und die dritte, dreidimensionale Achse zeigt die Absorption in Abhängigkeit von der Wellenlänge (190 nm – 500 nm)*

Die dreidimensionale Darstellung zeigt deutlich die zu größeren Wellenlängen hin abfallende Signalintensität. Diese Darstellung lässt vermuten, dass der Signalverlauf bei verschiedenen Wellenlängen ähnlichen Charakter hat. Eine zweidimensionale Darstellung der UV-Signale ist jedoch für einen Vergleich verschiedener Huminstoffe bzw. den späteren Vergleich mit den ICP-MS-Signalen geeigneter. Aus dem 3D-Spektrum (Abbildung 42) sind in Abbildung 43 die Wellenlängen 200, 214, 254 und 280 nm isoliert mit demselben y-Achsenabschnitt (Absorption) dargestellt.

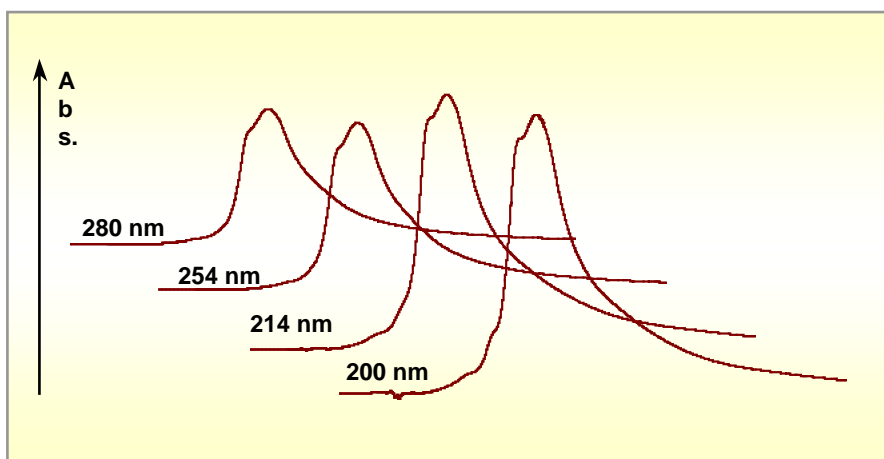


Abbildung 43: Aus dem 3D-Spektrum „ausgeschnittene“ Wellenlängen 200, 214, 254 und 280 nm (v.r.n.l.). Die x-Achse stellt jeweils die Migrationszeit, die y-Achse die Absorption dar.

Bei Normierung der Signale auf das Absorptionsmaximum zeigte sich bei den vier Signalen unterschiedlicher Wellenlängen ein ähnlicher Verlauf (Abbildung 44).

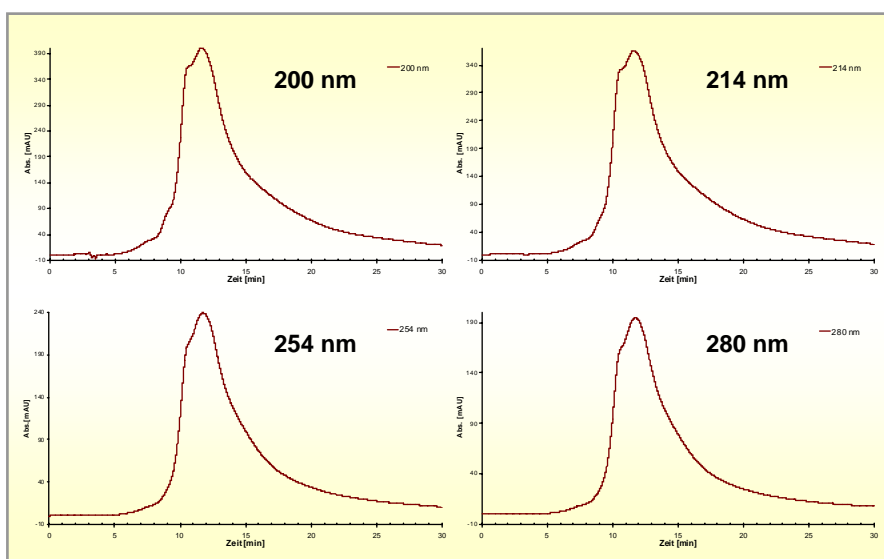


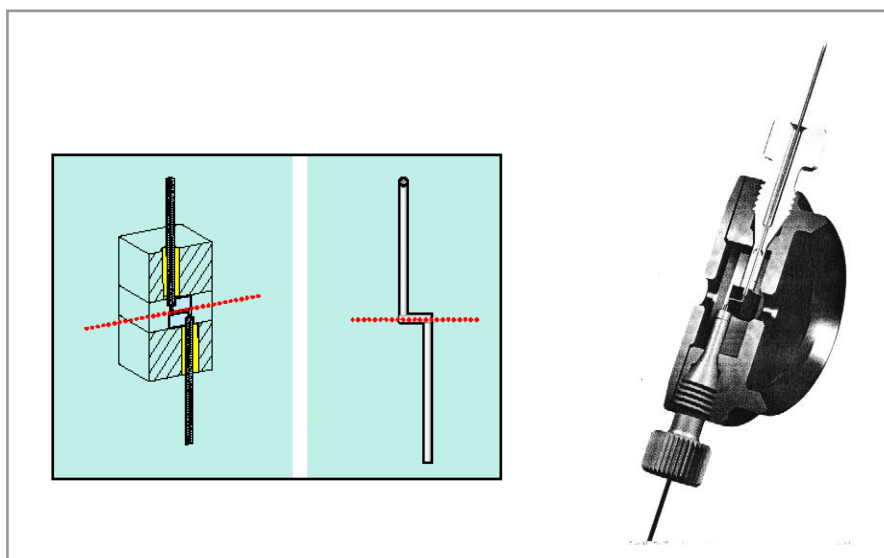
Abbildung 44: Normierung der UV-Signale der vier Wellenlängen auf ihr Absorptionsmaximum

Auch bei verschiedenen weiteren Messungen von Huminstoffproben zeigte sich, dass die UV-Detektion bei 254 nm mit den verwendeten Puffersystemen eine gute Empfindlichkeit bei stabilen Signalverläufen gewährleistete. Im Folgenden wurden daher die CE-fractionierten Huminstoffe über die repräsentativen UV-Signale bei 254 nm dargestellt.



### 3.1.1.5 UV-Detektion mit einer ‚High Sensitivity Detection Cell‘

Aufgrund der sehr geringen Kapillarquerschnitte waren die UV-Absorptionen teilweise gering, insbesondere bei kleinen aufgegebenen Probenvolumina. Zur Verstärkung der Absorptionen wurde eine spezielle Detektionszelle (‚High Sensitivity Detection Cell‘) getestet, die über eine Z-förmige Struktur in der Kapillare die durchstrahlte Weglänge etwa 10-fach erhöht (Abbildung 45).

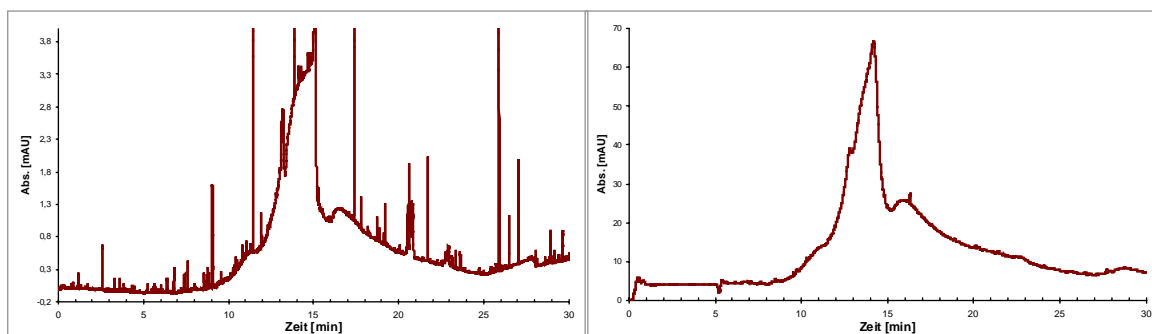


**Abbildung 45: High Sensitivity Detection Cell der Fa. Agilent**

*Links die schematische Darstellung des Strahlungsverlaufs und rechts eine fotografische Darstellung, die auch die Fittings zeigt, mit denen die geteilte Kapillare beidseitig mit der Zelle verbunden wird*

Die High Sensitivity Detection Cell wurde grundsätzlich an derselben Stelle der Kapillare eingesetzt, an der sonst die äußere Kapillarbeschichtung für das normale UV-Fenster entfernt wurde. Dafür musste die Kapillare allerdings geteilt werden, um sie von beiden Seiten über Fittings an die z-artige Kapillarführung der Zelle anzuschließen.

Mit der speziellen Detektionszelle wurden Fraktionierungen von Huminstoffen unter ansonsten unveränderten Versuchsbedingungen durchgeführt. Abbildung 46 zeigt ein typisches Beispiel zweier Fraktionierungen ohne und mit High Sensitivity Detection Cell.



**Abbildung 46: Erhöhung der Absorption durch den Einsatz einer High Sensitivity Detection Cell**

Der Einsatz der Zelle führte zu guten und leicht geglätteten Signalen. Die UV-Absorption stieg im vorliegenden Beispiel von etwa 4 mAU auf 70 mAU. Die angestrebte Erhöhung der Absorptionswerte wurde damit erreicht. Allerdings erwies sich die Handhabung der High Sensitivity Detection Cell als äußerst sensibel und anfällig. Insbesondere die scharfen Kapillar-Postkonditionierungen und die Matrix der untersuchten Proben führte trotz 0,45  $\mu\text{m}$ -Filtration vor den Messungen zu Problemen im Bereich der Detektionszelle und zu Zusammenbrüchen des Stromes während der Fraktionierungen.

Es wurde daher bei den folgenden Messungen am gekoppelten System vom Einsatz der „High Sensitivity Detection Cell“ abgesehen.

### 3.1.1.6 Zwischenbilanz

Für die Fraktionierung von Huminstoffen mit der Kapillarelektrophorese und UV-Detektion ergaben sich die in Tabelle 8 aufgeführten optimalen Einstellungen.

**Tabelle 8: Optimale Einstellungen für die CE-Fraktionierung von Huminstoffen mit UV-Detektion**

<i>Charakterisierung von HS mit der CE-UV</i>	
<i>Kapillarelektrophorese</i>	<i>Agilent 3D Capillary Electrophoresis</i>
Kapillare	Fused Silica, 60 cm Länge, 75 µm innerer Durchmesser, 375 µm äußerer Durchmesser
Puffersystem	Carbonat, 25 mmol/L, pH-Wert 9,3 Phosphat, 10 mmol/L, pH-Wert 9,2 Acetat, 25 mmol/L, pH-Wert 8,0
Temperatur	15 °C
Spannung	30 kV
Probenaufgabe	Hydrodynamisch, 200 mbar·s (~22 nL)
HS-Probenkonzentration	1 mg/mL
UV-Detektion	254 nm, 3D (ohne High Sensitivity Detection Cell)
Postkonditionierung	KOH (1 mol/L), 4 min; H <sub>2</sub> O, 1 min; Puffer, 4 min; 20 kV Spannung, 1 min; Puffer, 4 min.

### 3.1.2 Kapillarelektrophorese mit ICP-MS-Detektion (CE-ICP-MS)

Nach der Optimierung der Versuchsbedingungen für die CE-UV wurde die simultan gewünschte Metalldetektion der mit der Kapillarelektrophorese fraktionierten Huminstoffproben mittels ICP-MS geprüft und optimiert. Zu diesem Zweck wurde die CE über ein von Prange und Schaumlöffel [200] entwickeltes Interface mit dem ICP-MS verbunden und zunächst die optimalen Betriebsbedingungen für die Detektion mit diesem Detektor erarbeitet.

#### 3.1.2.1 Auswahl von Elementen und Massen

Bei dem im gekoppelten System eingesetzten ICP-MS (Agilent 7500 S) handelt es sich um ein Quadrupol-Massenspektrometer (QMS). Es bietet die Möglichkeit niedriger Scan-Zeiten, was für die Echtzeit-Abtastung chromatographischer Signale wichtig ist. Die verschiedenen zu detektierenden Massen werden beim QMS nacheinander abgescannt, d.h. durch das Massenspektrometer gefiltert und somit getrennt zum Detektor geleitet.

Bei der Nutzung der CE-ICP-MS ist es das Ziel, die mittels CE fraktionierten Probenbestandteile online, d.h. direkt im Anschluss an die Fraktionierung, in Echtzeit mit dem ICP-MS zu detektieren. Bei der Detektion derartiger transienter Signale mit einem QMS muss bei der Auswahl und damit der Anzahl der zu detektierenden Massen bedacht werden, dass eine hohe Zahl zu detektierender Massen beim Massen-Scan eine verzögerte Rückkehr zur ersten Masse bedeutet und damit zu Lasten der Anzahl der Messpunkte des transienten Signals einer Masse geht. Daher sollte die Zahl der zu detektierenden Massen, entsprechend der Struktur der Elektropherogramme, d.h. entsprechend den zu erwartenden transienten Signalformen (breit bzw. schmal), nicht zu hoch gewählt werden.

Die Fraktionierung von Huminstoffen mit der CE führt zu breiten UV-Signalen. Für huminstoffkomplexierte Metallionen werden daher ebenfalls relativ breite (transiente) ICP-MS-Signale erwartet. Für die geplante Detektion nicht-komplexierter Metallionen sowie möglicherweise in diskreten Huminstoff-Fractionen komplexiert vorliegender Metallionen muss aber dennoch darauf geachtet werden, dass für eine detektierte Masse jeweils eine ausreichend hohe Zahl an Punkten gemessen und das transiente ICP-MS-Signal in seiner Aussagekraft nicht eingeschränkt wird. Die Zahl der detektierbaren Massen ist daher auch für die Charakterisierung von Huminstoffen begrenzt.

Eine Reihe von Versuchen unter Variation der Zahl der detektierten Massen zwischen 4 und 10 zeigte, dass für die Charakterisierung von Huminstoffen acht detektierte Massen einen guten Kompromiss aus ausreichend aussagekräftigen transienten Signalen und hoher Information über die Verteilung verschiedener Metallionen darstellen. Zu bedenken ist, dass

zwei bis drei der acht Massen ausschließlich zur Qualitätssicherung genutzt wurden. So wurde  $^{72}\text{Ge}$  zur Kontrolle der Zerstäubung (und gegebenenfalls Korrektur) benötigt,  $^{75}\text{As}$  diente der Kontrolle der Migrationszeiten getrennter Arsenspezies und des EOF, ebenso wie  $^{133}\text{Cs}$  u.a. auch zur Kontrolle der Migrationszeit herangezogen wurde (s. folgende Abschnitte).

Zur eigentlichen Charakterisierung der metallionenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen wurden die Metalle Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium, Cäsium und Blei aufgrund ihrer Umweltrelevanz und ihres chemisch teilweise sehr unterschiedlichen Verhaltens ausgewählt. Die elementspezifische Detektion der Ionen dieser Metalle erfolgte über die Massen  $^{60}\text{Ni}$ ,  $^{63}\text{Cu}$ ,  $^{66}\text{Zn}$ ,  $^{114}\text{Cd}$ ,  $^{133}\text{Cs}$  und  $^{208}\text{Pb}$ .

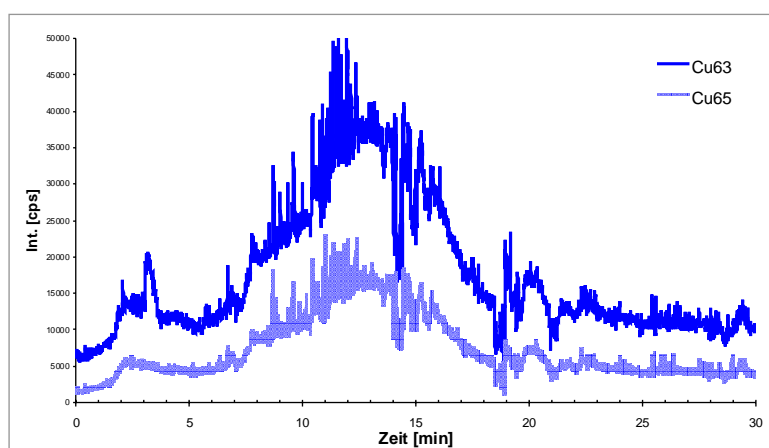
Zur Vermeidung von Interferenzen auf den Massen 63 (Ar-Na) und 75 (Ar-Cl) wurden sämtliche Puffer und Lösungen mit  $\text{K}^+$  (statt  $\text{Na}^+$ ) als Gegenion angesetzt und weitestgehend auf Cl<sup>-</sup> als Gegenion verzichtet. Der Einfluss möglicher Interferenzen wurde am Beispiel der Kupfersignale der Huminstoffprobe OR02RM überprüft. Kupfer lässt sich über die Massen 63 (69,17 % Isotopenanteil) und 65 (30,83 % Häufigkeit) detektieren. Auf beiden Massen gibt es Interferenzen, die in Tabelle 9 dargestellt sind.

**Tabelle 9: Mögliche Interferenzen bei ICP-MS-Messungen von Kupfer auf den Massen 63 und 65**

<i>ICP-MS: Mögliche Interferenzen am Beispiel von Kupfer</i>			
<i>Element</i>	<i>Masse</i>	<i>Anteil [%]</i>	<i>Mögliche Interferenzen</i>
<b>Cu</b>	<b>63</b>	69,17	Na-Ar, P-O-O, Ti-O
	65	30,83	Ar-Mg, Ti-O-H, Ti-O, Te <sup>++</sup>

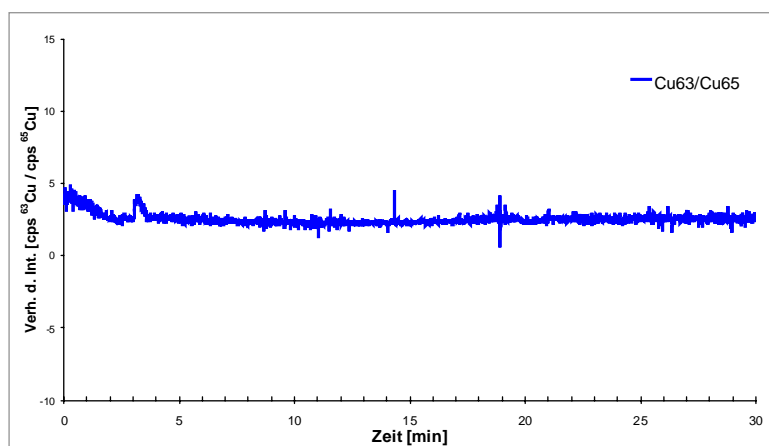
Bei der CE-Fraktionierung der Huminstoffprobe OR02RM wurden u.a. die Signale für  $^{63}\text{Cu}$  und  $^{65}\text{Cu}$  aufgezeichnet; sie sind in Abbildung 47 dargestellt. Bei dem hier gezeigten Vergleich der Rohdaten erfolgte keine Korrektur der Zerstäubungsschwankungen.

Auf der x-Achse der folgenden Elektropherogramme ist, wie bei den UV-Signalen, die Migrationszeit in Minuten [min] aufgetragen, die y-Achse zeigt jeweils die Intensität (Int.) der ICP-MS-Signale in counts per second [cps].



**Abbildung 47: Vergleich der Kupfersignale der Massen 63 und 65 einer CE-fractionierten HS-Probe**

Die Signalverläufe sind sehr ähnlich, auf keiner der beiden Massen scheinen bei der fraktionierten Probe starke Interferenzen aufzutreten. Teilt man die Datenpunkte des Signals  $^{63}\text{Cu}$  durch die des Signals  $^{65}\text{Cu}$ , so muss theoretisch (wenn keine Interferenzen auftreten) eine Parallele zur x-Achse resultieren - bei einem y-Wert, der etwa dem Isotopenverhältnis von 2,24 entspricht. Die Abbildung 48 zeigt, dass mit einem fast idealen, geraden Verlauf und einem durchschnittlichen Isotopenverhältnis von 2,52 bei der Kupferdetektion keine großen Interferenzen bestehen.



**Abbildung 48: Verhältnis der Intensitäten auf den Massen 63 und 65**

Der kleine Peak bei gut 3 Minuten dürfte auf eine Interferenz auf der Masse 63 durch Na-Ar zurückzuführen sein. Er tritt nur bei der natriumreichen, nicht mit Kationenaustauschern behandelten Probe OR02RM auf.

*Fazit:* Analoge Überprüfungen möglicher Interferenzen auf einzelnen Massen weiterer Elemente zeigten, dass keine Interferenzen auftraten, die zu sichtbaren Signalveränderungen führten. Für die Charakterisierung der metallionenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen erwies sich die Detektion der Massen  $^{60}\text{Ni}$ ,  $^{63}\text{Cu}$ ,  $^{66}\text{Zn}$ ,  $^{72}\text{Ge}$ ,  $^{75}\text{As}$ ,  $^{114}\text{Cd}$ ,  $^{133}\text{Cs}$  und  $^{208}\text{Pb}$  als gut geeignet.

### 3.1.2.2 Reduzierung von Kontaminationen

Blindwerte spielen im spurenanalytischen Bereich eine bedeutende Rolle. Vor allem ubiquitäre Elemente wie Zink, Kupfer und Nickel erschweren die Analytik im Spuren- (und Ultraspuren-) Bereich. Die benutzten Gefäße, Verbrauchsmaterialien und Chemikalien müssen eine sehr hohe Reinheit besitzen.

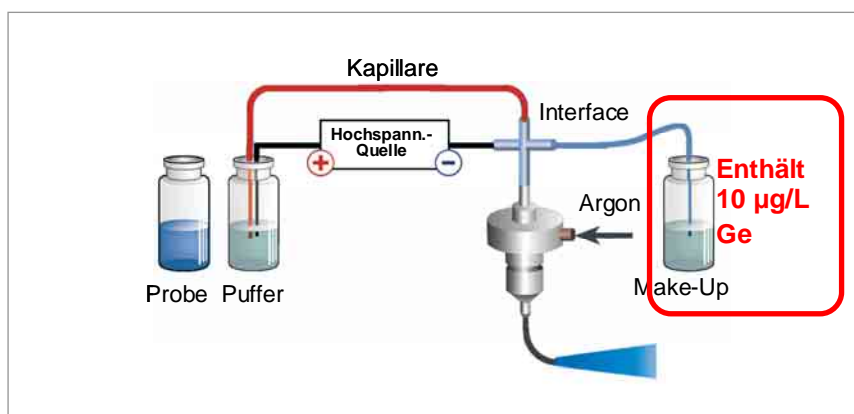
Durch folgende Maßnahmen wurden die zunächst vor allem bei Kupfer und Zink aufgetretenen Blindwertprobleme abgestellt: Chemikalien wurden weitgehend in der Qualität ‚suprapur‘ eingesetzt. Die Gefäße (weitgehend PFA) und sämtliche Verbrauchsmaterialien wie Pipettenspitzen wurden mit verdünnter Salpetersäure gereinigt und mit Reinstwasser gespült. Die PFA-Gefäße wurden vor Gebrauch in einer Ausdampfapparatur mit Salpetersäure suprapur gereinigt. Sämtliche Präparationen von Proben und Standards erfolgten unter einer Clean Bench. Die Enden der geschnittenen Kapillaren wurden vor Einbau mit Mikroskop auf saubere Schnitte ohne Grate überprüft und mit Methanol und Reinstwasser im Ultraschallbad gereinigt. Die Kapillarinnenwände wurden durch Kapillarkonditionierung und ‚Einfahren‘ der Kapillare gereinigt. Auch die Elektrodenadeln wurden gründlich, zunächst mechanisch, dann mit Reinstwasser und  $\text{HNO}_3$  im Ultraschallbad gereinigt; in einem Fall wurde eine Elektrodenadel ausgetauscht. Alle Arbeiten am Gerät und mit den Lösungen erfolgten mit Einmalhandschuhen. Sämtliche Vial-Inhalte (Puffer und Reinigungslösungen) wurden nach jeder Messung neu abgefüllt.

### 3.1.2.3 Kontrolle der Zerstäubung und Korrektur der transienten CE-ICP-MS-Signale

Eine wesentliche Funktion hat in dem eingesetzten gekoppelten System die Verbindung zwischen CE und ICP-MS. Dem Interface mit Zerstäuber kommt die Aufgabe der Überführung der fraktionierten Probenbestandteile ins Plasma und von da in den Massenanalysator zu. Einer Überprüfung des einwandfreien Funktionierens der Zerstäubung (und gegebenenfalls einer Korrektur der erhaltenen Signale) kommt daher zentrale Bedeutung zu und wurde bei jeder Messung vorgenommen.

#### 3.1.2.3.1 Funktionskontrolle der Zerstäubung

Für den Erhalt der transienten Signale ist es wichtig, dass die Zerstäubung gleichmäßig arbeitet und die fraktionierten Probenbestandteile über eine Zeit von 30 oder teilweise 40 Minuten auf konstante Weise, also in gleicher Verdünnung durch die Make-Up-Lösung, ins Plasma gelangen. Zur Kontrolle der Zerstäubung wurde der Make-Up-Lösung (10 mmol/L  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ -Lösung) das in den Proben in der Regel nicht vorhandene Germanium als  $(\text{NH}_4)_2\text{GeF}_6$  in einer Konzentration von 10  $\mu\text{g/L}$  zugefügt. Abbildung 49 zeigt den Versuchsaufbau.



**Abbildung 49: Kontrolle der Zerstäubung durch Germanium, das als  $(\text{NH}_4)_2\text{GeF}_6$  der Make-Up-Lösung zugefügt wurde**

*Das Germanium wird proportional zum Volumen der Make-Up-Lösung über das Interface und den Zerstäuber ins Plasma überführt. Bei konstanter Zerstäubung wird ein konstantes Signal für  $^{72}\text{Ge}$  erhalten*

Bei ordnungsgemäßem, konstanten Ansaugen der Make-Up-Flüssigkeit durch das Interface gelangt also ein über die Zeit konstanter Gehalt an Germanium ins Plasma und den Massendetektor. Das erhaltene  $^{72}\text{Ge}$ -Signal ist in Abbildung 50 dargestellt.



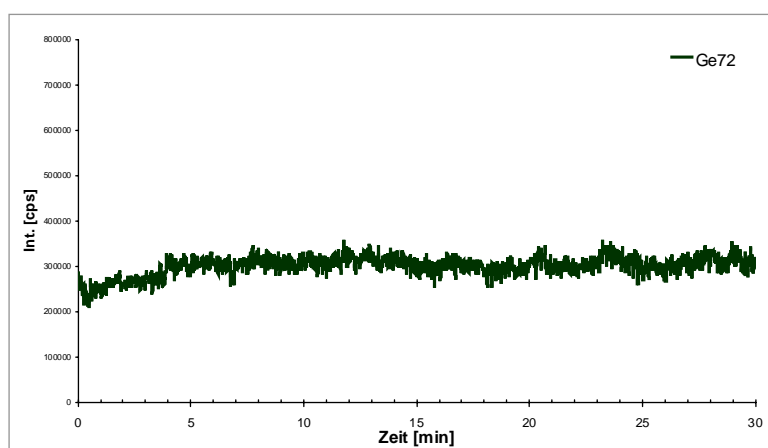


Abbildung 50:  $^{72}\text{Ge}$ -Signal einer Ge-dotierten Make-Up-Flüssigkeit

Das erhaltene  $^{72}\text{Ge}$ -Signal ist über die Zeit der Fraktionierung von 30 Minuten konstant und zeigt damit ein regelmäßiges Ansaugen der Make-Up-Flüssigkeit und eine konstante Zerstäubung an.

### 3.1.2.3.2 Normierung der erhaltenen Signale

Die Fraktionierung von Huminstoffen mit der CE benötigt je nach Methode eine Zeit von mindestens 30 Minuten. Während dieser Zeit können Schwankungen in der Zerstäubung auftreten, die u.a. auf Blasenbildung oder Matrixeinflüsse zurückzuführen sind. Sie schlagen sich auf die Qualität der erhaltenen Signale nieder. Um diesen Einfluss zu korrigieren, wurden die jeweiligen Metallsignale auf das Germaniumsignal normiert, indem jeder nuclidspezifische Messwert durch den entsprechenden Wert der Masse 72 dividiert wurde. Ein Beispiel für eine extrem schlechte Zerstäubung ist anhand des reinen  $^{72}\text{Ge}$ -Signals in Abbildung 51 dargestellt.

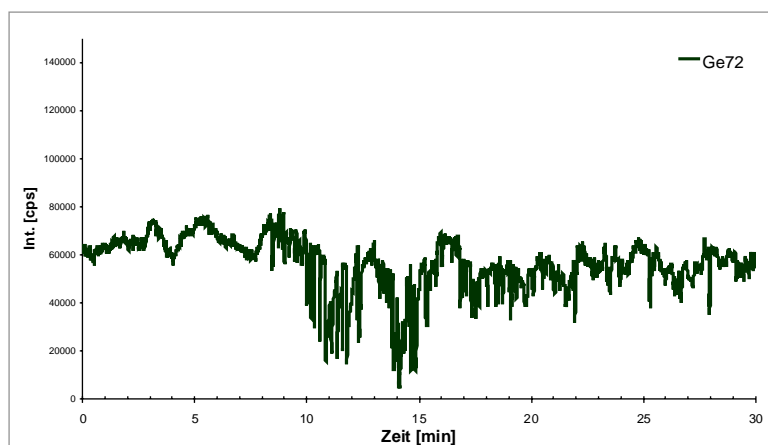
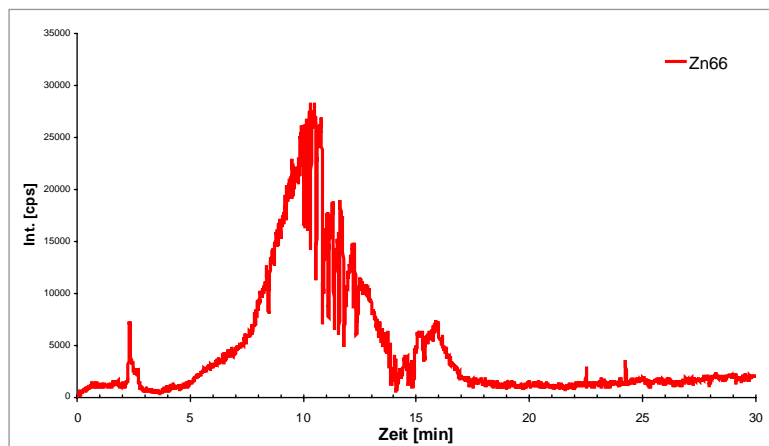
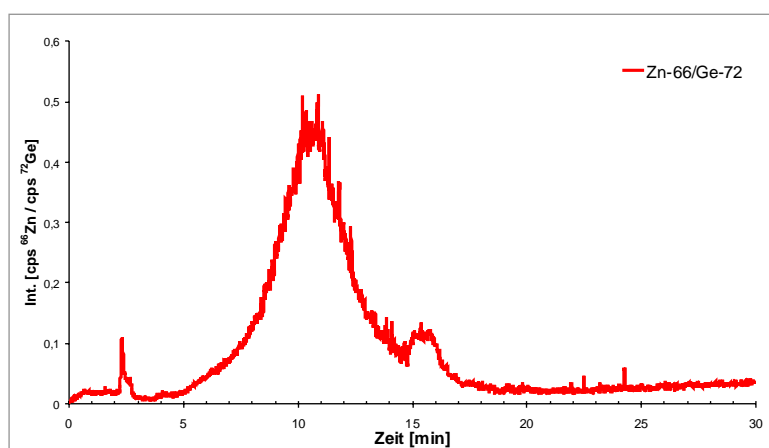


Abbildung 51:  $^{72}\text{Ge}$ -Signal bei extrem schlechter Zerstäubung

Die unregelmäßige schlechte Zerstäubung schlug sich in dem Zinksignal einer CE-fraktionierten Huminstoffprobe deutlich nieder, wie Abbildung 52 zeigt. Das korrigierte Signal dieses extremen Falles ist in Abbildung 53 gezeigt.



**Abbildung 52: Auswirkungen der extrem schlechten Zerstäubung auf das  $^{66}\text{Zn}$ -Signal einer fraktionierten Huminstoffprobe**



**Abbildung 53: Über  $^{72}\text{Ge}$  korrigiertes  $^{66}\text{Zn}$ -Signal derselben Messung**

Beim Erfassen der ICP-MS-Signale fraktionierter Huminstoffe verläuft die Zerstäubung deutlich unruhiger als bei anderen Matrices. Hier bietet sich die Normierung auf  $^{72}\text{Ge}$  geradezu an. Nachteile treten allerdings dann auf, wenn auf einer Masse nur ein als konstante Linie erscheinendes Geräterauschen aufgezeichnet wird. In diesem Fall kann eine Korrektur das Signal u.U. verschlechtern. Zu bedenken ist auch die Tatsache, dass die Detektion auf verschiedenen Massen bei einem sequentiell arbeitenden Quadrupol Massenspektrometer nicht absolut zeitgleich erfolgt und eine Korrektur daher nur Näherungscharakter hat.

### 3.1.2.3.3 Korrektur von Elektropherogrammen

Bei schwierigen Matrices (teilw. auch bei Huminstoffproben) lassen sich in der Kapillarelektrophorese leichte Schankungen des elektroosmotischen Flusses, die durch EOF-Marker sichtbar gemacht werden können, nicht ganz vermeiden. Der Einfluss der jeweiligen Probenmatrix auf das Analysensignal kann korrigiert werden, indem z.B. ein EOF-Marker (oder mehrere über das Elektropherogramm verteilte Markersubstanzen, z.B. Arsenspezies) einerseits n-fach ohne Probenmatrix und andererseits in der Probenmatrix mitgemessen werden. Bei den fraktionierten Huminstoffproben zeigten regelmäßig mitgetrennte Arsenspezies sowie ein Cäsiumionenstandard bei verschiedenen Messungen weitgehend konstante Migrationszeiten. Bei leichten Schwankungen wurden die Analytsignale einiger Messungen testhalber rechnerisch korrigiert, was allerdings nicht zu sichtbaren und die analytische Aussage verändernden Auswirkungen führte. Um bei der Signaldarstellung für eine möglichst objektive Interpretation dicht an den Originaldaten zu bleiben, wurde von dieser Art der Signalkorrektur abgesehen.

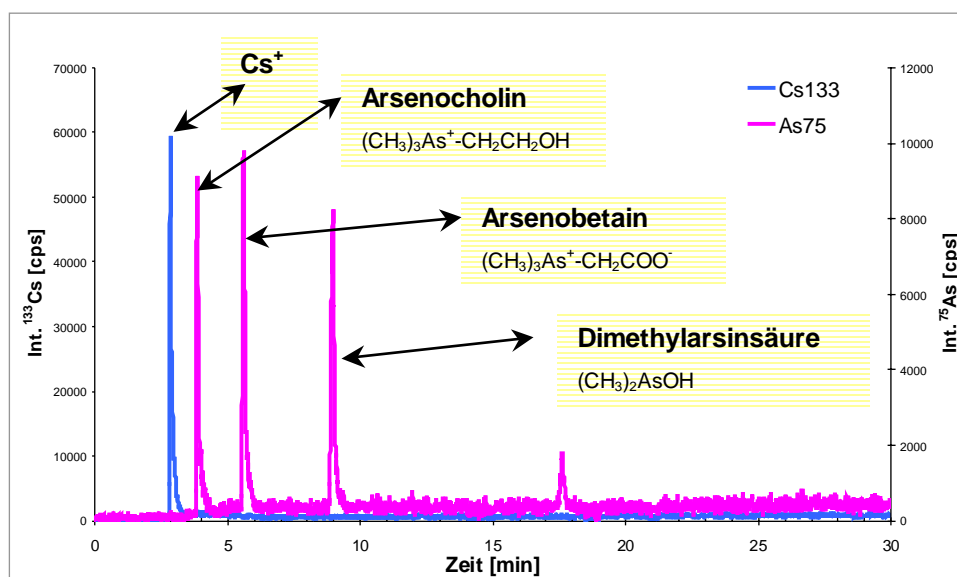
In einzelnen Fällen treten bei der Kapillarelektrophorese kurzzeitige Stromschwankungen bzw. momentane Zusammenbrüche der Zerstäubung auf, die sich nicht durch Normieren auf das  $^{72}\text{Ge}$ -Signal korrigieren lassen. Einige Messungen ließen sich nicht wiederholen, beispielsweise aufgrund der Untersuchung einer Serie von dotierten Proben, bei denen die Komplexierungszeiten genau eingehalten wurden. In diesen Fällen wurden kleine Bereiche des Elektropherogramms ausgeschnitten, sofern die Störungen bei wenig relevanten Migrationszeiten auftraten.

### 3.1.2.3.4 Zwischenfazit

Die Kontrolle einer regelmäßigen Zerstäubung kann über die mit Germanium dotierte Make-Up-Lösung erfolgen ( $^{72}\text{Ge}$ -Signal). Leichte Schwankungen in der Zerstäubung lassen sich dann durch Bezug auf das Germanium-Signal korrigieren. Diese Vorgehensweise wurde im Folgenden regelmäßig angewandt.

### 3.1.2.4 Trennung verschiedener Spezies eines Elements

Nach den oben angegebenen Optimierungen wurde im gekoppelten CE-ICP-MS-System die Leistungsfähigkeit des Systems überprüft. Abbildung 54 zeigt die dabei erhaltenen Elektropherogramme eines Cäsiumstandards und dreier Arsenspezies (Arsenocholin, Arsenobetain und Dimethylarsinsäure) bei einem pH-Wert von 9,2.



**Abbildung 54: Elektropherogramme von Cäsiumionen und fraktionierten Arsenspezies mit einem Phosphatpuffer (pH-Wert: 9,2)**

Die Konzentration der einzelnen Spezies betrug 200 µg/L, die Probenaufgabe 20 mbar·s

Das Signal der Cäsiumionen erscheint erwartungsgemäß bei kurzen Migrationszeiten und die Arsenspezies sind deutlich basisliniengetrennt. Alle erhaltenen Signale sind scharf.

Mit den weiteren in dieser Arbeit eingesetzten Puffersystemen (Phosphat bei einem pH-Wert von 4,8 und Acetat bei pH-Werten von 2,3 und 5,1) waren die Arsenspezies ebenfalls sauber trennbar. Damit kann die hohe Leistungsfähigkeit des CE-ICP-MS-Systems auch hinsichtlich der für die Charakterisierung von Huminstoffen optimierten Bedingungen als erreicht angesehen werden.

Der Cäsiumionenstandard und der Standard der Arsenspezies wurden daher auch im weiteren Verlauf der Arbeit als „Marker“ eingesetzt und dienen der regelmäßigen Kontrolle des Kapillarzustandes.

### 3.1.2.5 Separate Charakterisierung von Huminstoffen mit der CE-UV bzw. CE-ICP-MS beim bisherigen Stand der Methodenentwicklung

Um die bisher erreichte Leistungsfähigkeit des CE-ICP-MS-Systems bezüglich der Charakterisierung von Huminstoffen zu testen und Rückmeldungen für weitere Optimierungen zu erhalten, wurden Fraktionierungen eines Huminstoffs sowohl mit der CE-UV als auch der CE-ICP-MS durchgeführt. Dabei kam ein Phosphatpuffersystem der Konzentration 10 mmol/L und des pH-Werts 9,2 zum Einsatz. Für die UV-Detektion bzw. die ICP-MS-Detektion wurden aufgrund der unterschiedlichen Detektorlokalisation und der damit verbundenen unterschiedlichen Kapillarführungen in der CE eine „UV-Kapillare“ mit UV-Detektionsfenster und eine „ICP-MS-Kapillare“ gleicher Art und Länge, aber anderer Kapillarführung und ohne UV-Fenster eingesetzt (detaillierte Angaben: s. Abschnitt 3.1.3.3). Durch die parallele Gestaltung der Versuchsdurchführung mit UV- bzw. ICP-MS-Detektion ist es möglich, die Probenkonzentration der Empfindlichkeit der Detektoren anzupassen und eine Probe für die ICP-MS-Detektion z.B. 1:10 oder 1:100 verdünnt anzusetzen. Aufgrund des bei verschiedenen Huminstoff-Fraktionierungen beobachteten deutlichen Einflusses der Probenkonzentration auf die Fraktionierung wurde allerdings für beide Detektionen jeweils dieselbe Probenkonzentration eingesetzt. Abbildung 55 zeigt das UV-Signal der fraktionierten Huminstoffprobe Suwannee River.

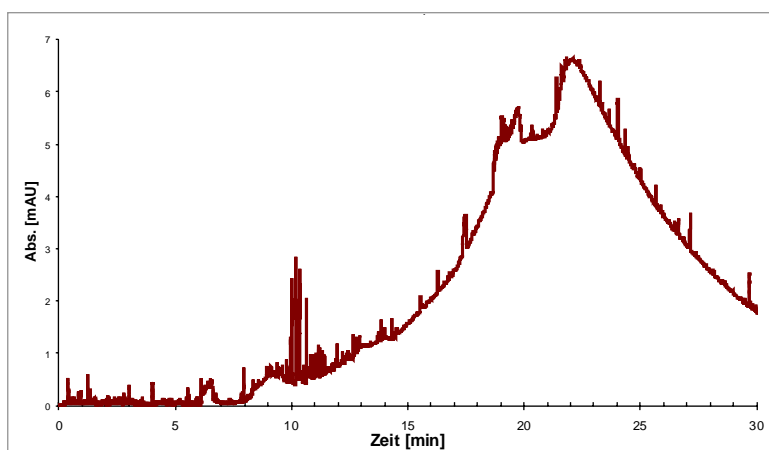
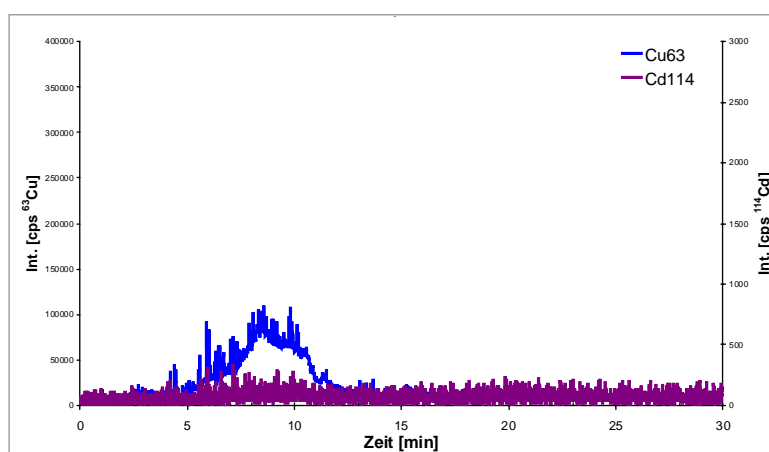


Abbildung 55: UV-Signal (254 nm) des Elektropherogramms der Huminstoffprobe Suwannee River

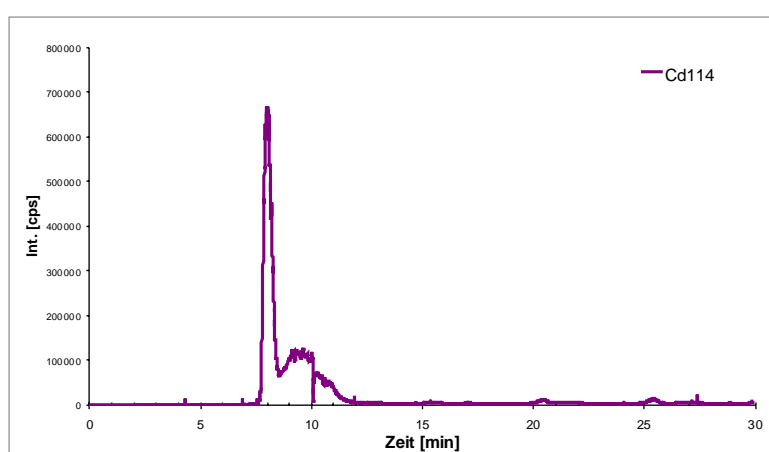
Charakteristisch für diese Probe ist ein breites UV-Signal bei hohen mittleren Migrationszeiten. Dies spricht für eine polydisperse Probe mit teilweise relativ kleinen und/oder hoch geladenen Fraktionen. Unter Wechsel der Kapillare wurden von der Probe parallel die folgenden Elektropherogramme für die Elemente Cadmium und Kupfer gemessen. In Abbildung 56 sind auf den y-Achsen jeweils die Intensitäten der Signale dargestellt, eine Korrektur der Zerstäubungsschwankungen wurde nicht vorgenommen.



**Abbildung 56: Kupfer- und Cadmiumsignale der CE-fractionierten HS-Probe Suwannee River**

Die geringen in der Probe enthaltenen Metallanteile erscheinen im Kupfer-Elektropherogramm zwischen 7 und 11 Minuten. Ein Cadmiumsignal ist nicht zu erkennen. Das UV-Signal zeigt zu dieser Migrationszeit Fraktionen des Huminstoffs an, so dass die Kupferionen u.U. bevorzugt in diesen Fraktionen komplexiert vorliegen. Freie Metallkationen, die im Elektropherogramm vor dem (teilweise neutralen aber vor allem negativ geladenen) Huminstoff auftreten müssten, waren vermutlich aufgrund des vorliegenden Puffer-pH-Wertes nicht vorhanden.

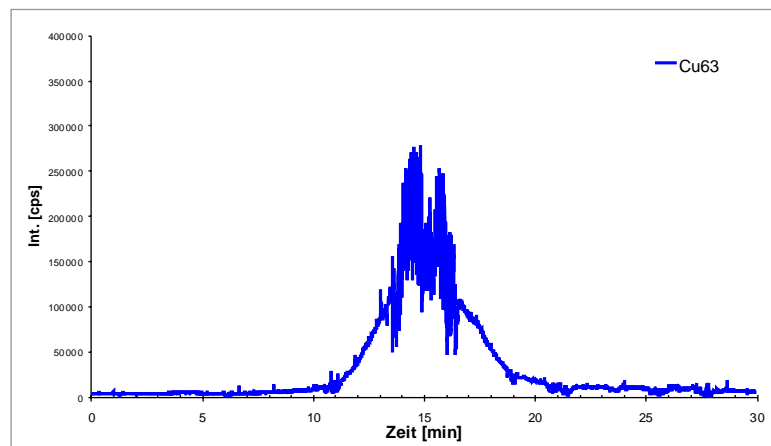
Die Probe Suwannee River wurde dann mit Cadmium- bzw. Kupferionen dotiert, um das Komplexierungsverhalten des Huminstoffs zu untersuchen. Abbildung 57 zeigt das Cadmiumsignal der fraktionierten Probe nach Dotierung mit 0,5 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC.



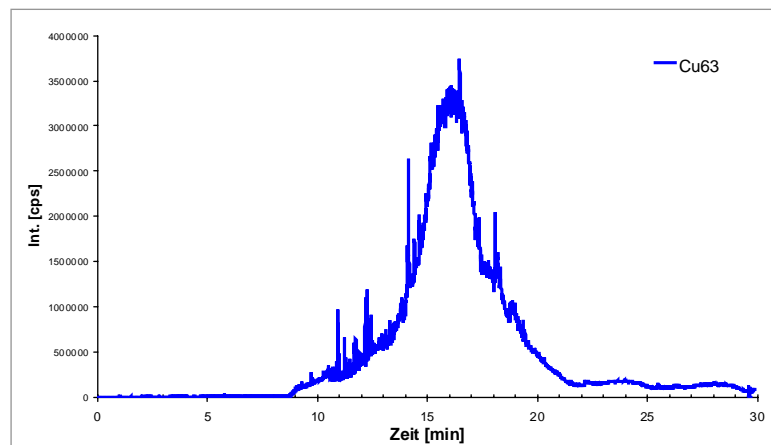
**Abbildung 57: Cadmiumsignal der CE-fractionierten Huminstoffprobe Suwannee River nach Dotierung mit 0,5 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC**

Auffallend ist ein breites Cadmiumsignal um 10 Minuten, wobei es sich vermutlich um Cadmiumionen handelt, die vom Huminstoff komplexiert wurden. Das scharfe Signal bei 8 Minuten deutet auf Cadmium hin, das in anderer Form vorliegt.

In Abbildung 58 und Abbildung 59 ist die Situation nach Zugabe von 0,5 und 5 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC dargestellt.



**Abbildung 58: Kupfersignal der CE-fraktionierten Huminstoffprobe Suwannee River nach Dotierung mit 0,5 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC**



**Abbildung 59: Kupfersignal der CE-fraktionierten Huminstoffprobe Suwannee River nach Dotierung mit 5 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC**

Die breiten Kupfersignale erreichen ihr Maximum deutlich später, bei 15 bzw. 16 Minuten. Abgesehen von der Verschiebung des Signals ist die Signalforn bei beiden Dotierungskonzentrationen ähnlich, allerdings mit einer 10-fach erhöhten Extinktion bei der verzehnfachten Dotierungskonzentration. Vermutlich lagen die Kupferionen komplexiert durch den Huminstoff vor.

Die Versuche zeigen, dass eine simultane UV- und ICP-MS-Detektion ohne Kapillarwechsel wünschenswert ist, um bei jeder Dotierung neben den ICP-MS-Signalen auch das entsprechende UV-Signal zu erhalten und Veränderungen des Huminstoff-Fraktionierungsverhaltens mit zunehmender Metallionen-Dotierung unter exakt denselben in der Kapillare vorliegenden Bedingungen verfolgen zu können.

Neben der angestrebten simultanen UV- und ICP-MS-Detektion entsteht die Frage nach den Grenzen der Beladbarkeit unterschiedlicher Huminstoffe mit Metallionen. Schließlich ist zu fragen, ob unter veränderten Versuchsbedingungen bei zunehmenden Dotierungskonzentrationen „freiwerdende“ Metallionen detektiert werden können.

### 3.1.2.6 Einsatz eines sauren Hintergrundelektrolyten

Huminstoffkomplexierte Metallionen können mit den bislang optimierten Parametern für die CE-ICP-MS detektiert werden. Ziel ist es im Folgenden, Versuchsbedingungen und pH-Werte zu erarbeiten, die die Unterscheidung zwischen frei vorliegenden und Huminstoffkomplexierten Metallionen ermöglichen, um Huminstoffe auch über die Grenzen ihrer Beladbarkeit mit Metallionen charakterisieren zu können. Diese Charakterisierung soll durch Zugabe von Metallionen bis zum Auftreten der Signale freier Metallionen, also der Erschöpfung der Komplexierungskapazität, geschehen. Voraussetzung dafür sind Versuchsbedingungen, bei denen sowohl Huminstoffe kapillarelektrophoretisch fraktionierbar sind (also im elektrischen Feld aufgrund mindestens partiell negativer Ladungen migrieren), als auch freie Metallionen auftreten können [205], die zu schnell migrierenden und scharf detektierbaren Fraktionen führen.

Bei pH-Werten über 7 ließen sich Huminstoffe aufgrund einer sehr deutlichen Deprotonierung kapillarelektrophoretisch gut trennen. Metallionenstandards führten jedoch aufgrund von Hydrolyseeffekten zu breiten Signalen. Durch Zugabe von ungeladenen Komplexbildnern wurden auch bei diesen pH-Werten deutlich schärfere Metallkationensignale erhalten, allerdings blieb unklar, ob und gegebenenfalls wie die zugesetzten Liganden die Komplexierungssituation bei den Huminstoffen beeinflussen.

Für eine reine Detektion von Metallionenstandards sollten saure pH-Werte aufgrund der Stabilisierung der Kationen am besten geeignet sein [205]. Daher wurden Standardlösungen der Ionen  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$  unter Einsatz des Hintergrundelektrolyten Essigsäure in einer Konzentration von 1 mol/L bei einem pH-Wert von 2,3 untersucht.

Für alle untersuchten Metallionen wurden bei einer Probenaufgabe von 20 mbar·s (etwa 2,2 nL) bis hinab zu Konzentrationen von 10  $\mu\text{g/L}$  sehr scharfe Signale erhalten. Abbildung 60 zeigt die erhaltenen Signale für  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  und  $\text{Pb}^{2+}$ . Im Falle von  $\text{Cd}^{2+}$  und  $\text{Cs}^+$  konnten sogar für Standardlösungen der Konzentration 1  $\mu\text{g/L}$  deutliche Signale erhalten werden, wie Abbildung 61 zeigt.



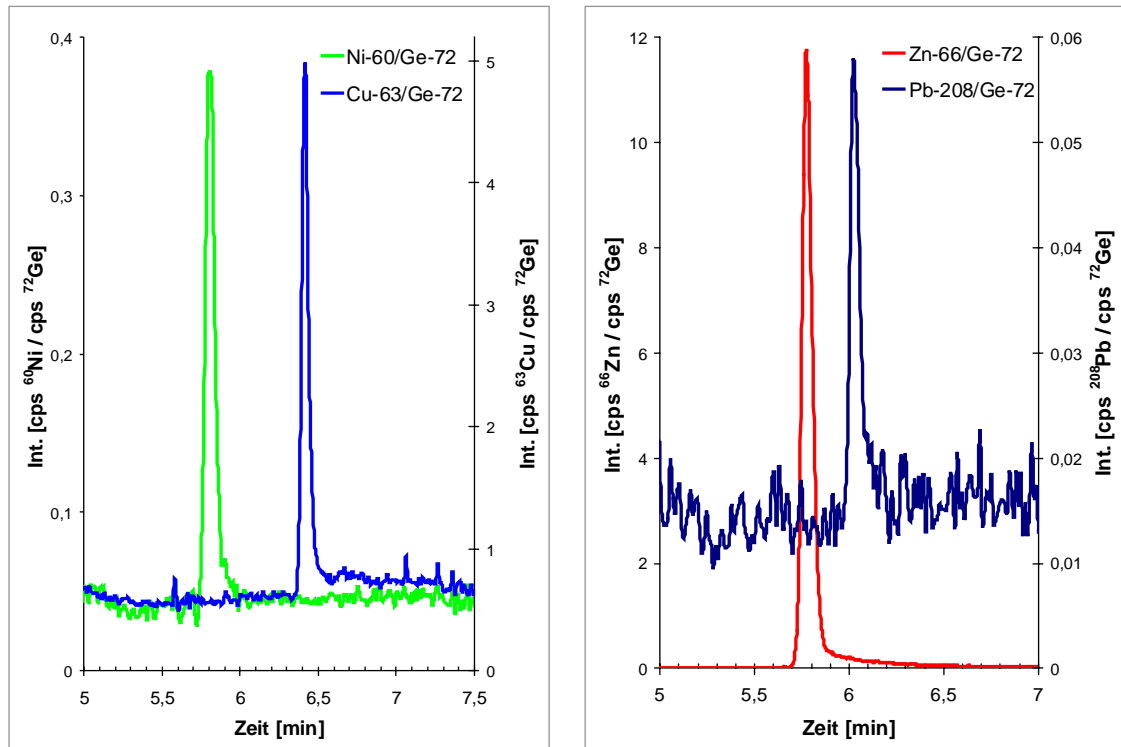


Abbildung 60: Elektropherogramme einer Metallionenstandardlösung der Konzentration 10 µg/L bei einem BGE pH-Wert von 2,3

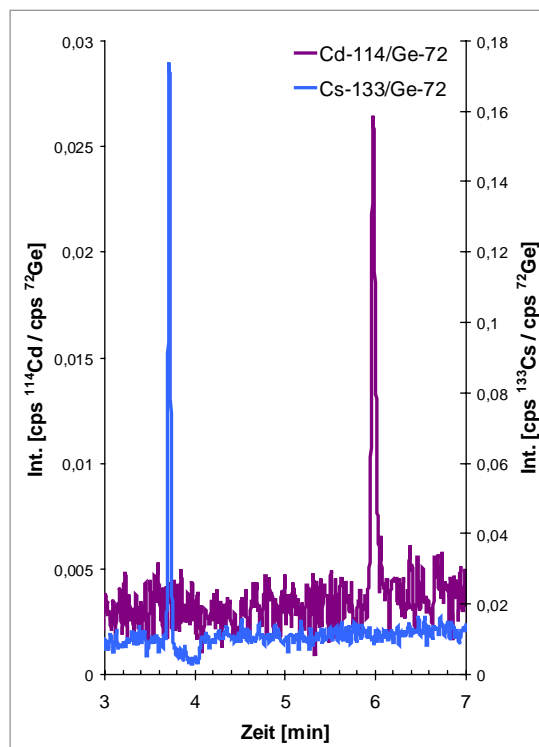


Abbildung 61: Elektropherogramme einer Cd<sup>2+</sup>- und Cs<sup>+</sup>- Ionen enthaltenden Lösung der Konzentration 1 µg/L

Versuchsbedingungen: Essigsäure-BGE (1 mol/L), pH-Wert 2,3; + 30 kV; 15 °C; 20 mbar\*s Probenaufnahme

### 3.1.2.7 Einfluss ansteigender pH-Werte des Hintergrundelektrolyten auf das Migrationsverhalten und die Signalform von Metallionen

Bei einem pH-Wert von 2,3 können Huminstoffe allerdings mit der CE nicht fraktioniert werden. Daher wurde nach der Optimierung der Fraktionierungs- und Detektionsbedingungen für freie Metallionen nach einem Kompromiss mit geeigneten Bedingungen für die Huminstoff-Fraktionierung und Detektion gesucht.

Bei stufenweise ansteigenden pH-Werten wurden Standardlösungen der Ionen  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$  einer Konzentration von  $50 \mu\text{g/L}$  mit der CE-ICP-MS untersucht. Diese Konzentration führt bereits zu sehr deutlichen Signalen, die gut verglichen werden können. Als Hintergrundelektrolyten wurden hauptsächlich Essigsäure bzw. Acetat bei verschiedenen Konzentrationen und pH-Werten eingesetzt. Die Elektropherogramme wurden unter den Versuchsbedingungen  $+ 30 \text{ kV}$ ,  $15 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $60 \text{ cm}$  Kapillare und einer Probenaufgabe von  $20 \text{ mbar}\cdot\text{s}$  entwickelt. Zusätzlich zur elektrophoretischen Trennung wurde ein Druck von  $50 \text{ mbar}$  angelegt (siehe dazu Abschnitt 3.1.3). Cäsiumionen waren mit jedem getesteten Puffersystem, auch bei hohen pH-Werten, gut und scharf detektierbar. Sie werden daher aus Übersichtsgründen in den folgenden Abbildungen nicht berücksichtigt.

#### 3.1.2.7.1 Essigsäure; pH-Wert 2,3

Für den konzentrierteren  $50 \mu\text{g/L}$  Standard der Ionen  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  und  $\text{Pb}^{2+}$  wurden mit Essigsäure der Konzentration  $1 \text{ mol/L}$  als Hintergrundelektrolyt bei einem pH-Wert von 2,3 die in Abbildung 62 gezeigten Signale erhalten.

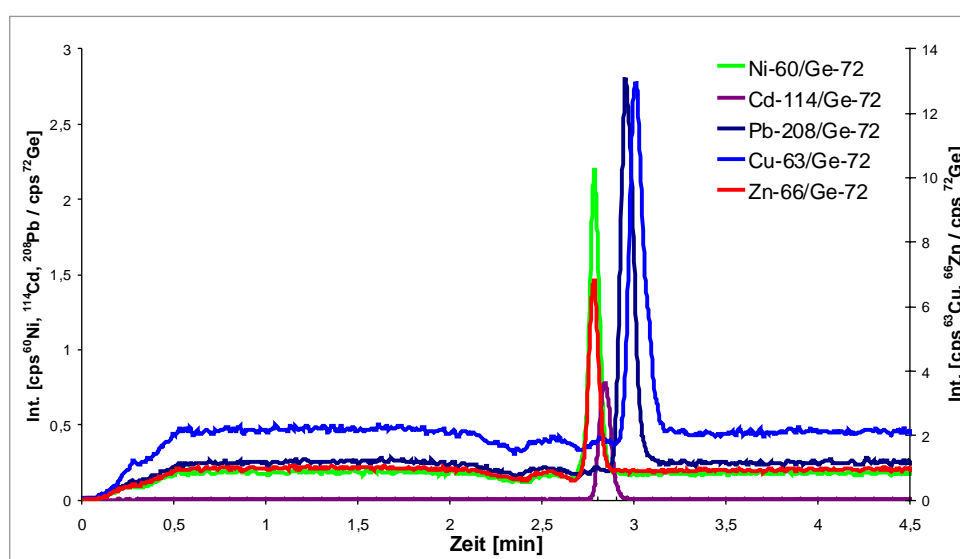


Abbildung 62: Elektropherogramme eines  $50 \mu\text{g/L}$  Standards der Ionen  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  und  $\text{Pb}^{2+}$  bei einem pH-Wert des Hintergrundelektrolyten von 2,3

Die Konzentrationserhöhung der Metallionenstandardlösung auf je 50 µg/L beim pH-Wert des Puffers von 2,3 hatte keinen Einfluss auf die Schärfe der Peaks.

### 3.1.2.7.2 Essigsäure; pH-Wert 2,9

Mit Essigsäure der Konzentration 0,1 mol/L und einem pH-Wert von 2,9 als Hintergrundelektrolyt wurden für den 50 µg/L Standard der Ionen Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> und Pb<sup>2+</sup> die in Abbildung 63 gezeigten Signale erhalten.

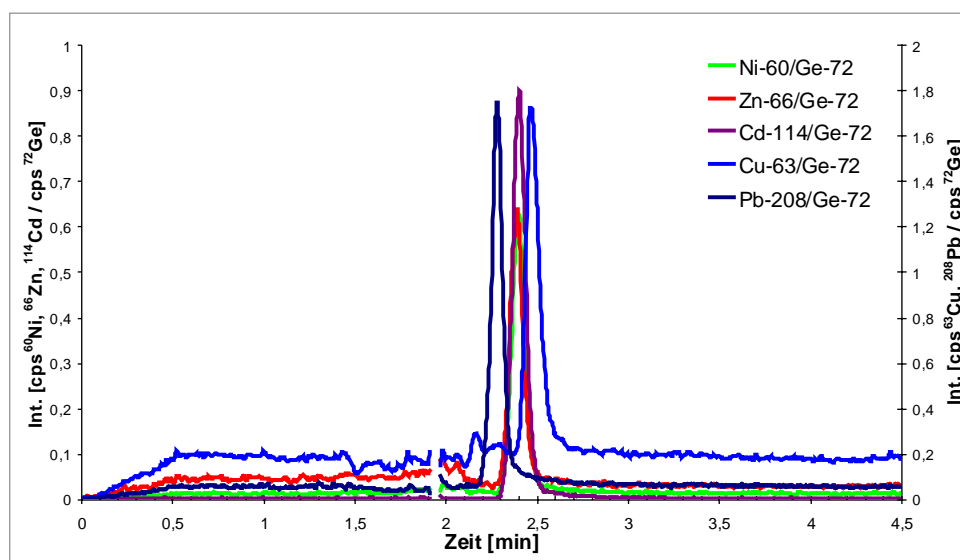


Abbildung 63: Elektropherogramme eines 50 µg/L Standards der Ionen Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> und Pb<sup>2+</sup> bei einem pH-Wert des Hintergrundelektrolyten von 2,9

Die Migrationszeiten der Kationen waren gegenüber dem pH-Wert von 2,3 etwas verringert, die Form der transienten Signale blieb unverändert gut.

### 3.1.2.7.3 Acetat; pH-Wert 4,0

Ein Hintergrundelektrolyt Acetat des pH-Wertes 4,0 und der Konzentration 12,5 mmol/L führte bei dem 50 µg/L Standard der Ionen Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> und Pb<sup>2+</sup> zu den in Abbildung 64 gezeigten Signalen.

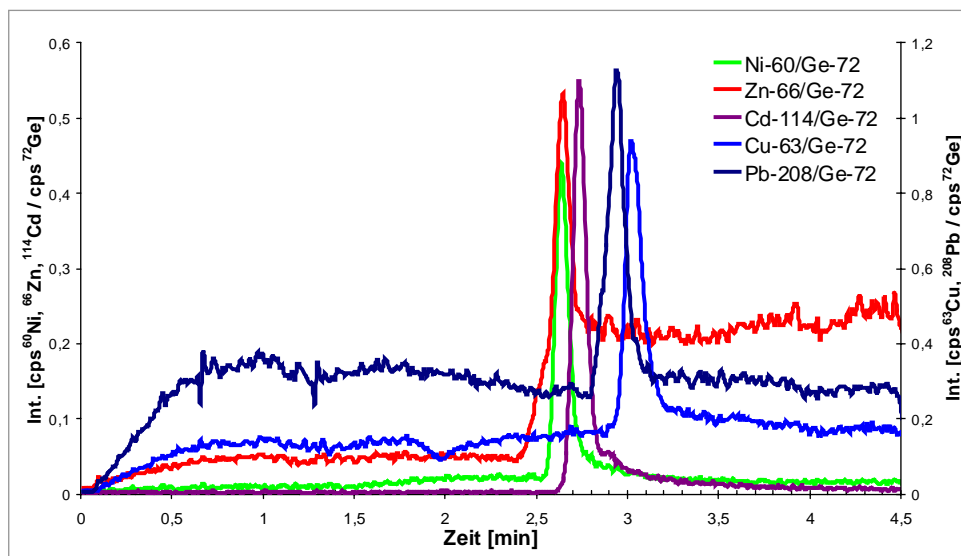


Abbildung 64: Elektropherogramme eines 50 µg/L Standards der Ionen Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> und Pb<sup>2+</sup> bei einem pH-Wert des Hintergrundelektrolyten von 4,0

Die Signale sind bei diesem pH-Wert ebenfalls deutlich, bei allerdings etwas unruhigeren Basislinien. Die Migrationszeiten der Kationen waren geringfügig höher als bei pH 2,9.

#### 3.1.2.7.4 Acetat; pH-Wert 5,1

Mit Acetat der Konzentration 12,5 mmol/L wurden bei einem pH-Wert von 5,1 als Hintergrundelektrolyt für den 50 µg/L Standard der Ionen Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> und Pb<sup>2+</sup> die in Abbildung 65 gezeigten Signale erhalten.

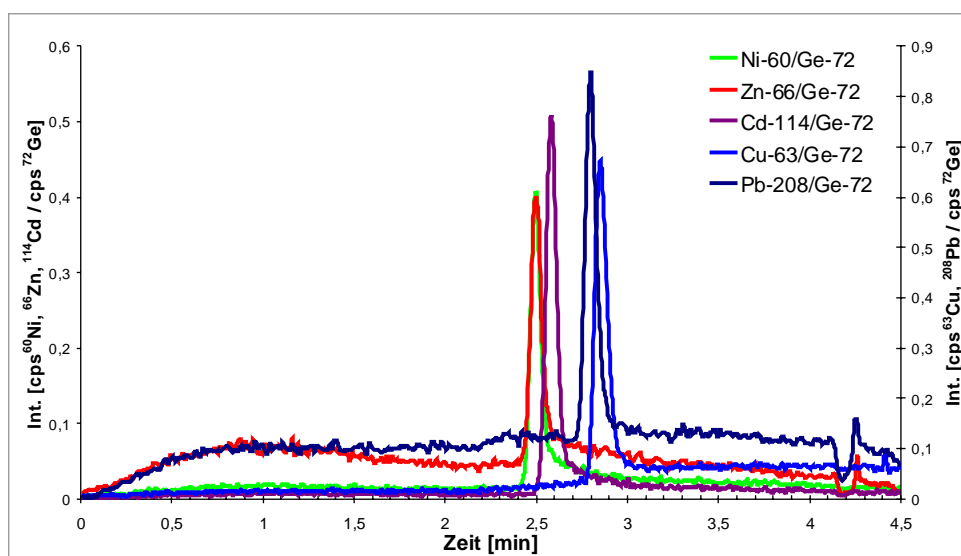


Abbildung 65: Elektropherogramme eines 50 µg/L Standards der Ionen Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> und Pb<sup>2+</sup> bei einem pH-Wert des Hintergrundelektrolyten von 5,1

Die Signale waren auch beim Acetatpuffer des pH-Werts 5,1 noch scharf und erschienen früh, d.h. deutlich vor dem EOF im Elektropherogramm.

Bei weiteren untersuchten Hintergrundelektrolyten und deutlich höheren pH-Werten wurden keine vergleichbar scharfen Signale mehr erhalten. Aufgrund der Annahme, dass der pH-Wert der entscheidende Parameter für den Erhalt guter Metallionensignale war, wurden die guten Ergebnisse des Acetatpuffers pH 5,1 mit einem anderen Puffersystem bei ähnlichem pH-Wert verglichen und überprüft. Dabei kam ein Phosphatpuffer der Konzentration 10 mmol/L mit einem pH-Wert von 4,8 zum Einsatz. Es wurden gute, dem Acetatpuffer bei pH 5,1 ähnliche Ergebnisse erhalten. In Bezug auf die Stabilität der Zerstäubung war der Phosphatpuffer dem Acetatpuffer allerdings unterlegen.

### **3.1.2.8 Zwischenbilanz**

Die durchgeführten Versuche mit steigenden pH-Werten des Hintergrundelektrolyten zeigen, dass die Grenze für den Erhalt scharfer Metallionensignale bei einem pH-Wert von 5,1 (Acetatpuffer, 12,5 mmol/L) liegt. Mit diesem Puffersystem können bezüglich der Detektion von freien Metallionen noch gute Ergebnisse erreicht werden.

Eine Fraktionierung von Huminstoffproben, insbesondere von den in aquatischen Systemen gelösten Fulvinsäuren, sollte bei einem pH-Wert von 5,1 aufgrund der bereits deutlichen Deprotonierung von Carboxylgruppen ebenfalls möglich sein. Auf den bisherigen Versuchsbedingungen aufbauend galt es nun, bei einem pH-Wert von 5,1 die Huminstoff-Fraktionierung sowie die Metallionen-Speziation (also die Trennung von huminstoffkomplexierten Metallionen und freien Metallionen) zu realisieren und dadurch die Voraussetzungen für eine umfangreiche Charakterisierung metallionenbindender Eigenschaften von Huminstoffen mit der CE-UV-ICP-MS zu schaffen.

### **3.1.3 Kapillarelektrophorese mit simultaner UV- und ICP-MS-Detektion (CE-UV-ICP-MS)**

Nach der getrennten Variierung und Optimierung der Fraktionierungs- und Detektionsbedingungen von Huminstoffen bzw. Metallionenstandards wurde nach einer Methode für eine simultane Detektion gesucht, um exakt gleiche Fraktionierungsbedingungen zu gewährleisten. Hauptziel dabei war die Ermittlung von Trennbedingungen, die die Unterscheidung zwischen freien und huminstoffkomplexierten Metallionen ermöglichen.

Insbesondere im Hinblick auf eine Charakterisierung der metallbindenden Eigenschaften von Huminstoffen durch Dotierung mit Metallionen ist es wichtig, den im vorherigen Abschnitt ermittelten pH-Wert von 5,1 für die klare Detektion freier Metallionen nicht zu überschreiten. Der im Abschnitt 3.1.1 diskutierte Acetat-Hintergrundelektrolyt zur Charakterisierung von Huminstoffen mit UV-Detektion war mit einem pH-Wert von 8,0 bei weitem zu alkalisch.

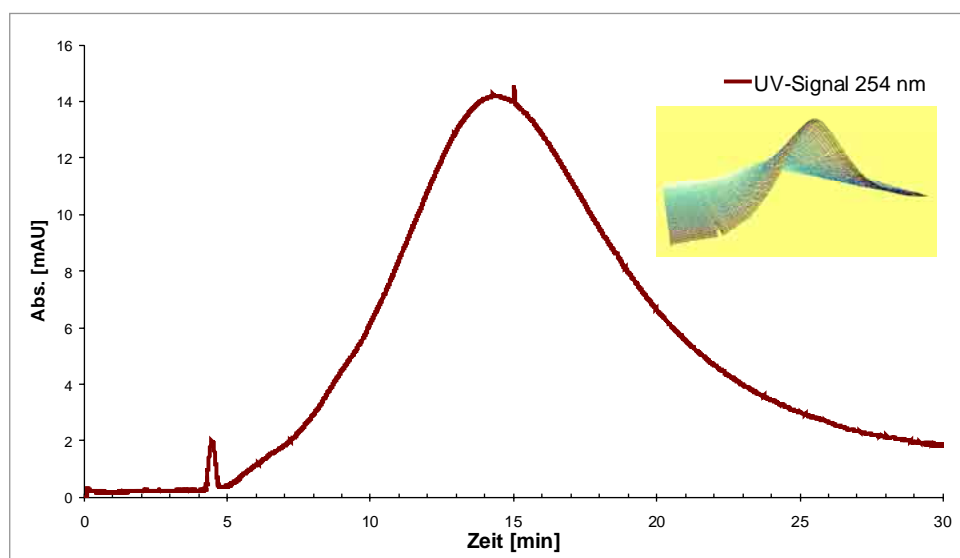
Im Folgenden wurde daher nur noch mit einem Acetatpuffer bei pH 5,1 gearbeitet. Auch bei diesem pH-Wert liegt ein deutlicher Teil der Carboxylgruppen von Huminstoffen deprotoniert vor. Eine Fraktionierung mit der CE sollte daher auch bei diesem pH-Wert möglich sein; insbesondere Fulvinsäuren sind bei diesem pH-Wert problemlos löslich [21][23].

Es wurden jedoch bei ersten Messläufen mit dem Acetatpuffer (12,5 mmol/L, pH-Wert: 5,1) keine UV-Signale erhalten. Bei pH 5,1 war der elektroosmotische Fluss aufgrund des relativ geringen Deprotonierungsgrades der Silanolgruppen der inneren Kapillaroberfläche gering. Negativ geladene Teilchen wandern bei einem positiven angelegten elektrischen Feld gegen den EOF, erscheinen also je nach Ladung und Größe später am Detektor als ein EOF-Marker. Die Huminstoffmoleküle wanderten vermutlich in zu starkem Maße gegen den EOF, als dass sie in einer Zeit von 40 Minuten detektierbar gewesen wären.

#### **3.1.3.1 Anlegen von zusätzlichem Druck zur Trennung**

Es wurde daher die Möglichkeit geprüft, während der Fraktionierung zusätzlich zur angelegten Spannung von + 30 kV einen Druck an die Probenaufgabeseite der Kapillare anzulegen, um die fraktionierte Probe in einem technisch durchführbaren Zeitraum (Stabilität der Zerstäubung, Intensität der Signale) zum Detektor zu bringen.

Dies gelang bei einem über die gesamte Fraktionierungszeit angelegten Druck von 50 mbar. Abbildung 66 zeigt beispielhaft das Elektropherogramm (UV-Signal, 254 nm) einer so fraktionierten Huminstoffprobe bei pH 5,1.



**Abbildung 66:** Elektropherogramm (UV-Signal, 254 nm) einer Huminstoffprobe unter Einsatz eines Acetatpuffers bei einem pH-Wert von 5,1 und einem zusätzlich angelegten Druck von 50 mbar

Die Fraktionierung war nach 30 Minuten weitgehend abgeschlossen. Die auf diese Weise erhaltenen UV-Signale sind denen ähnlich, die bei höheren pH-Werten ohne Druck erhalten wurden.

Anschließend wurde überprüft, inwiefern sich der angelegte Druck, der offensichtlich zu einer starken Stauchung der UV-Signale der Huminstoffe führte, auf die Signalformen und Migrationszeiten fraktionierter Arsenspezies und Metallkationen auswirkte.

Abbildung 67 zeigt die Elektropherogramme eines Cäsiumionenstandards und der drei fraktionierten Arsenspezies Arsenocholin, Arsenobetain und Dimethylarsinsäure bei einem pH-Wert des Puffers von 5,1 ohne zusätzlich angelegten Druck.

Die Cäsiumkationen migrierten am schnellsten. Arsenocholin war unter den vorliegenden Bedingungen positiv geladen und folgt auf die Cäsiumionen, Arsenobetain hatte die Funktion des EOF-Markers und Dimethylarsinsäure war ein Beispiel für eine negativ geladene Substanz. Die Migrationszeiten waren besonders für Arsenobetain und Dimethylarsinsäure mit 25 bzw. 27 Minuten sehr lang.

Insgesamt wird deutlich, dass das UV-Signal einer Huminstoffprobe, das im Elektropherogramm erst nach Arsenobetain (Neutralmarker) beginnt, ohne zusätzlichen Druck nicht erhalten werden kann.

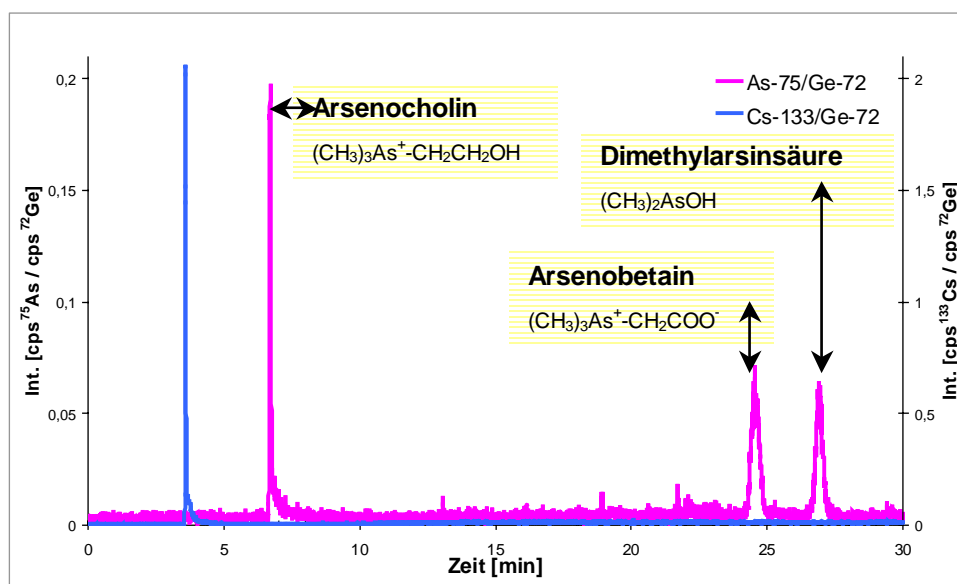


Abbildung 67: Elektropherogramme eines Cäsiumionenstandards und dreier Arsenspezies unter Einsatz eines Acetatpuffers bei einem pH-Wert von 5,1 ohne zusätzlichen Druck

Das Anlegen eines zusätzlichen Drucks von 50 mbar führte im Falle der drei Arsenspezies zu einem Elektropherogramm, das in Abbildung 68 gezeigt ist.

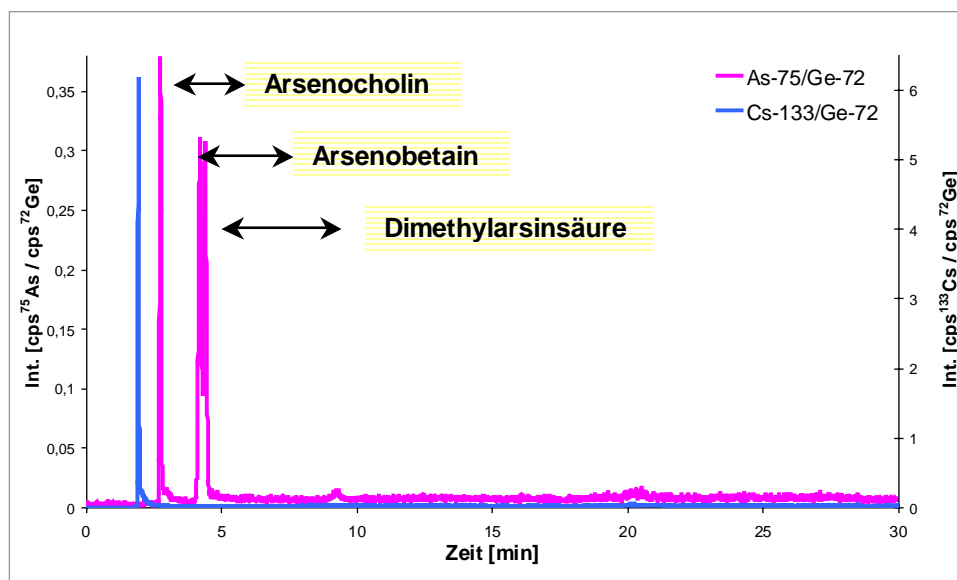


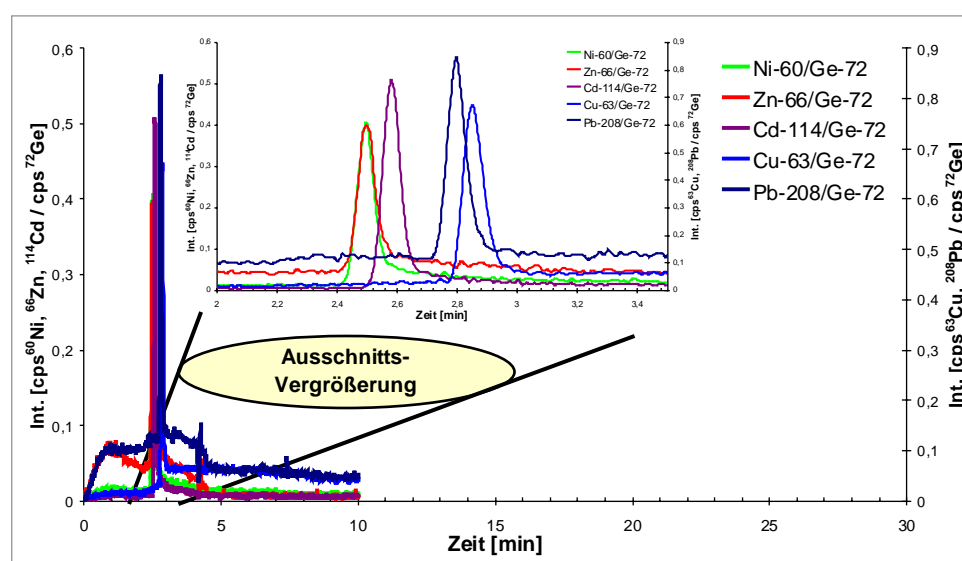
Abbildung 68: Elektropherogramme eines Cäsiumionenstandards und dreier Arsenspezies unter Einsatz eines Acetatpuffers bei einem pH-Wert von 5,1 mit zusätzlichem Druck von 50 mbar

Die einzelnen Signale ließen sich auch bei Anlegen eines zusätzlichen Druckes früher, aber in guter Qualität erhalten. Die Spezies rückten im Elektropherogramm erheblich dichter zusammen, was sich insbesondere bei den auch ohne Druck schon dicht beieinanderliegenden



Spezies Arsenobetain und Dimethylarsinsäure im neutralen und negativen Bereich bemerkbar machte. Hier zeigt sich sehr deutlich, dass der zusätzlich angelegte Druck von 50 mbar eine erhebliche Wirkung hat, die die gezeigte erfolgreiche Fraktionierung von Huminstoffproben beim pH-Wert von 5,1 ermöglicht.

Auch die Signale freier Metallkationen wurden bei Anlegen des zusätzlichen Drucks bei pH 5,1 mit einer Metallionen-Standardlösung (je 50 µg/L Nickel-, Kupfer-, Zink-, Cadmium- und Bleiionen) überprüft. In Abbildung 69 sind die Elektropherogramme der Metallionen in einem Diagramm dargestellt, das eine Fraktionierungsdauer von 30 Minuten zeigt.



**Abbildung 69: Elektropherogramme einer Standardlösung (je 50 µg/L) von Nickel-, Kupfer-, Zink-, Cadmium- und Bleiionen unter Einsatz eines Acetatpuffers bei einem pH-Wert von 5,1 und einem zusätzlichen Druck von 50 mbar**

Das große Diagramm zeigt zum besseren Vergleich mit dem UV-Signal des fraktionierten Huminstoffs eine Zeitachse von 30 Minuten. Klein dargestellt sind dieselben Signale auf einer Zeitachse zwischen 2 und 3,5 Minuten

Das UV-Signal der fraktionierten Huminstoffprobe über die dargestellte Migrationszeit von 30 Minuten ist bereits in Abbildung 66 gezeigt worden. Die Metallkationen migrieren schnell, sie erscheinen vor dem als EOF-Marker eingesetzten Arsenobetain (vgl. Abbildung 68) im Elektropherogramm. Die Migrationszeiten der neutralen bzw. größtenteils negativ geladenen Huminstoff-Grobfractionen beginnen mit der Migrationszeit des Neutralmarkers und erscheinen je nach Lagungs-/Masse-Verhältnis über einen weiten Bereich fraktioniert zu späteren Migrationszeiten.

Besonders die Ausschnittsvergrößerung in Abbildung 69 zeigt durch die Aufspreizung des x-Achsen-Abschnitts von 2 bis 3,5 Minuten, dass sich die Metallionen-Signale auch bei

Anlegen des zusätzlichen Drucks in guter Qualität erhalten ließen. Der Druck führt damit auch bei den freien Metallkationen nicht zu negativen Effekten.

*Fazit:* Ein zusätzlich angelegter Druck von 50 mbar ermöglichte bei ansonsten gleich gehaltenen Bedingungen die Fraktionierung von Huminstoffen und die UV-Detektion der Fraktionen in einem Puffer von pH 5,1 in einer Zeit von 30 Minuten. Der Druck führte erwartungsgemäß bei den Arsenspezies zu einer etwas geringeren Fraktionierungsleistung. Die Migrationszeiten der Metallkationen verringerten sich, die Signalformen blieben aber unverändert gut.

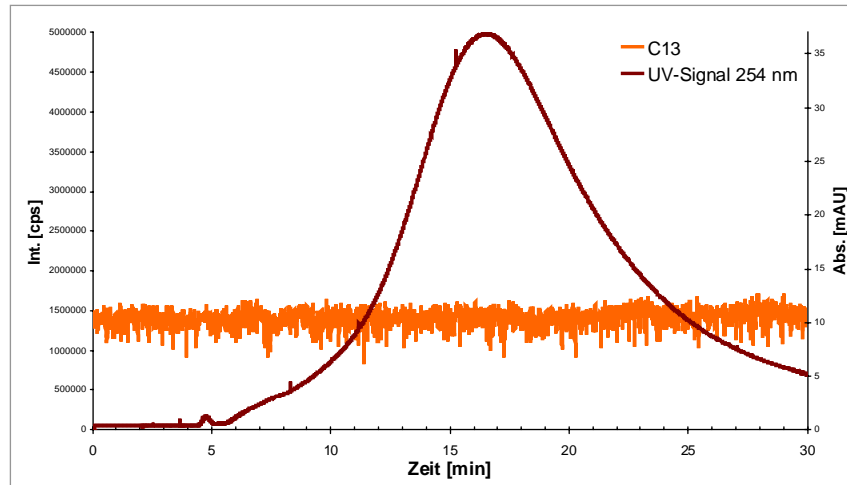
Diese Versuchsbedingungen ermöglichen damit die Fraktionierung von Huminstoffen, sowie die Detektion freier Metallionen und wurden bei den weiteren Untersuchungen verwendet.

### **3.1.3.2 Detektion von DOC mit der ICP-MS**

Die Detektion fraktionierter Huminstoffproben über das UV-Signal und die Detektion der Metallionen-Signale mit der ICP-MS war bisher aus technischen Gründen nicht exakt zeitgleich möglich, da die UV-Detektionszelle - im Gegensatz zum Interface der ICP-MS - vor dem Ende der Kapillare angebracht werden musste. Die exakt gleichzeitige Detektion von fraktionierter Huminstoffprobe und den entsprechend untersuchten Metallionen wäre aber für einen optimalen Vergleich der Signale sehr wünschenswert. Es wurde daher geprüft, ob auch der die Huminstoffe repräsentierende, gelöste organische Kohlenstoff mit der ICP-MS detektiert werden kann.

Um den Hintergrundwert für Kohlenstoff möglichst gering zu halten, wurden die Versuche anstatt im Acetatpuffer mit dem ebenfalls geeigneten Phosphatpuffer pH 4,8 durchgeführt. Die Detektion erfolgte über das  $^{13}\text{C}$ -Signal bei sehr kurzen Zählzeiten unter Nutzung des analogen Detektors, um die Beanspruchung des Digitaldetektors in Grenzen zu halten.

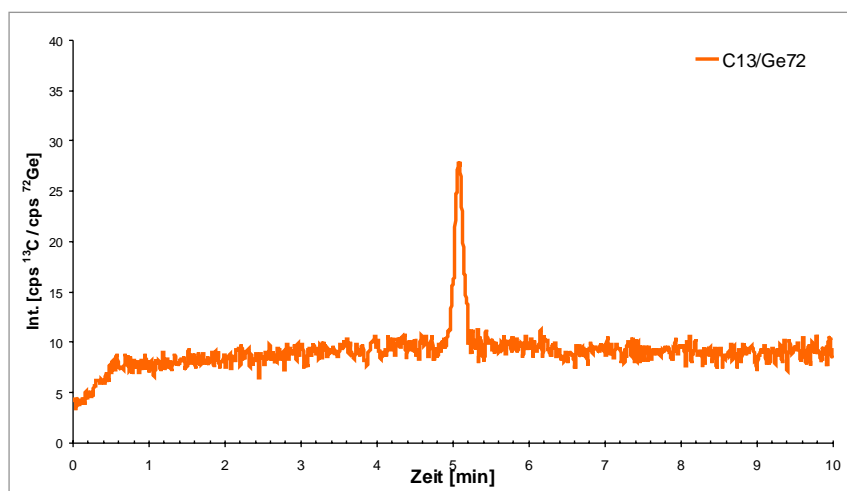
Für eine CE-fraktionierte Huminstoffprobe der Konzentration 1 mg/mL wurde das in Abbildung 70 dargestellte UV-Signal erhalten. Das gleichzeitig aufgezeichnete  $^{13}\text{C}$ -Signal ließ den fraktionierten Huminstoff aus dem Untergrund aber nicht heraustreten.



**Abbildung 70: Elektropherogramme ( $^{13}\text{C}$ -Signal und UV-Signal, 254 nm) einer Huminstoffprobe der Konzentration 1 mg/mL**

Versuchsbedingungen der DOC-Detektion mit der CE-ICP-MS: 60 cm Kapillare; Phosphatpuffer, 10 mmol/L, pH-Wert 4,8; + 30 kV; + 50 mbar

Um eine noch detektierbare Konzentration an DOC herauszufinden, wurden Lösungen kohlenstoffhaltiger Verbindungen als Probe injiziert. Abbildung 71 zeigt das  $^{13}\text{C}$ -Signal einer 1 %igen Ethanol-Lösung. Diese entspricht etwa einer DOC-Konzentration von 5 mg/mL.



**Abbildung 71: Elektropherogramm ( $^{13}\text{C}$ -Signal) einer Ethanol-Lösung (1 %ig)**

Versuchsbedingungen der DOC-Detektion mit der CE-ICP-MS: 60 cm Kapillare; Phosphatpuffer, 10 mmol/L, pH-Wert 4,8; + 30 kV; + 50 mbar

Das Signal unterschied sich noch deutlich vom Untergrund, der jedoch ausgesprochen hoch lag.

Weitere Experimente zeigten, dass eine Detektion von DOC unter einer Konzentration von etwa 5 mg/mL aufgrund des hohen Untergrundes unter den vorliegenden Versuchsbedingungen und dem eingesetzten Argon nicht mehr möglich war. Bei der Analytik und Charakterisierung von Huminstoffen werden jedoch üblicherweise Konzentrationen eingesetzt, die bei 1 mg/mL und teilweise deutlich darunter liegen. Hinzu kommt die Tatsache, dass das Signal eines CE-fraktionierten Huminstoffs sich über mehrere Minuten erstreckt und damit flacher wird.

Es musste daher unter den vorliegenden Versuchsbedingungen von der Möglichkeit einer DOC-Detektion mit der ICP-MS zur Huminstoff-Charakterisierung abgesehen werden.

### 3.1.3.3 Weitere Optimierung der Mess-Strategie

Aufgrund der Notwendigkeit, das UV-Signal zur Detektion des fraktionierten Huminstoffs heranzuziehen, entstand die Frage nach der Lokalisierung des UV-Fensters an der Kapillare.

Abbildung 72 zeigt im oberen Teil die Position des UV-Detektors in der CE-Apparatur (<sup>3D</sup>CE), unten links die Kapillarführung bei UV-Detektion und unten rechts eine Möglichkeit der Führung der Kapillare für die ICP-MS-Detektion.

Prinzipiell ergeben sich aus der Position des UV-Detektors in der CE-Apparatur für die angestrebte Charakterisierung von Huminstoffen mit UV- und ICP-MS-Detektion zwei Möglichkeiten:

- Eine geplante Versuchsdurchführung wird zweimal hintereinander vorgenommen: einmal mit "UV-Kapillare" (UV-Detektion 8,5 cm vor Kapillarende), und ein zweites Mal unter gleichen Bedingungen mit der "ICP-MS-Kapillare" gleicher Art und Länge, jedoch ohne UV-Fenster
- Die geplante Versuchsdurchführung wird mit ein und derselben Kapillare durchgeführt, wobei die UV- bzw. ICP-MS-Informationen an verschiedenen Stellen der Kapillare abgenommen werden (z.B. UV-Fenster nach exakt 20 cm bei einer 60 cm Kapillare). Das UV-Signal wird zur Vergleichbarkeit mit den ICP-MS-Signalen rechnerisch korrigiert.

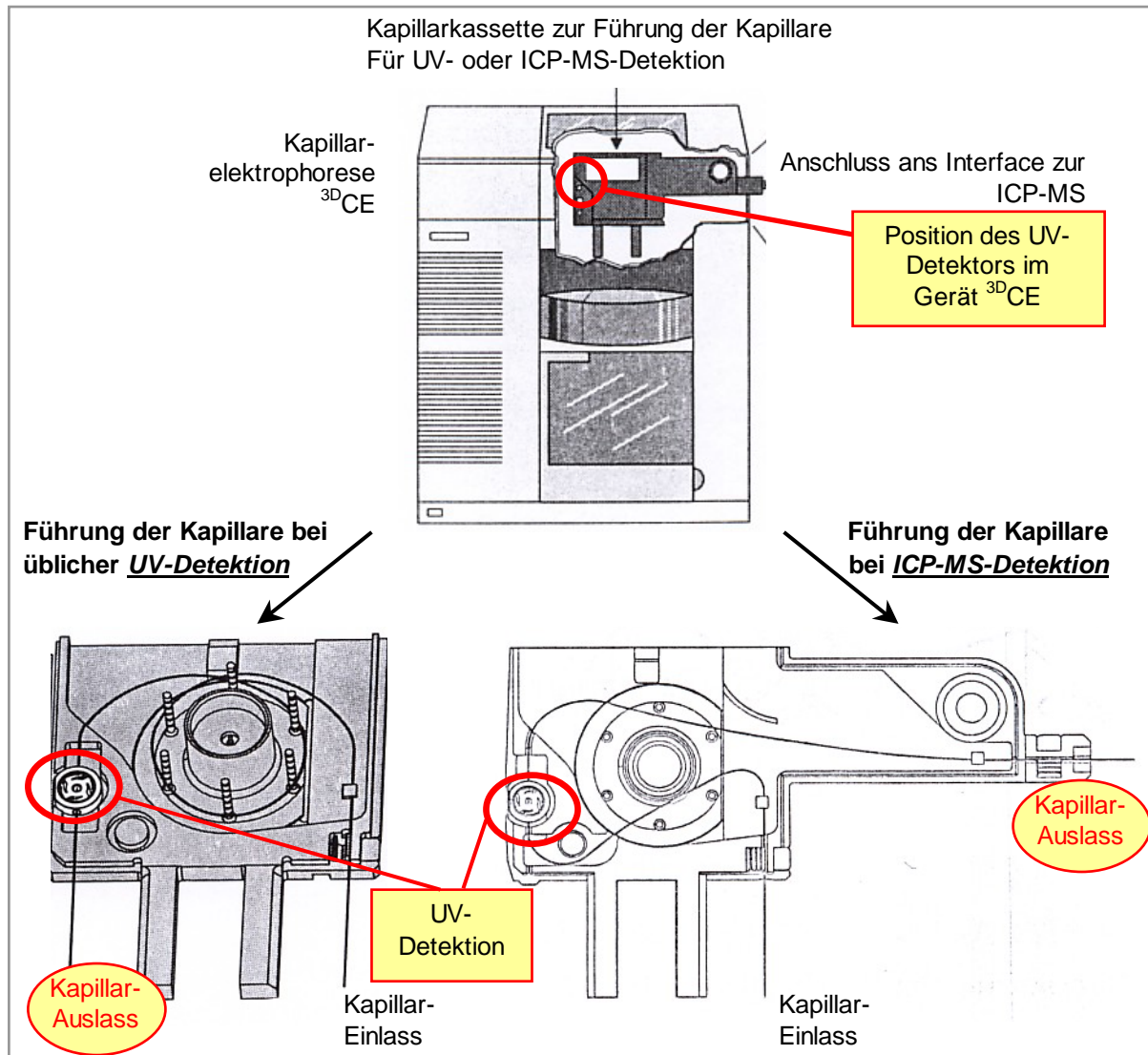


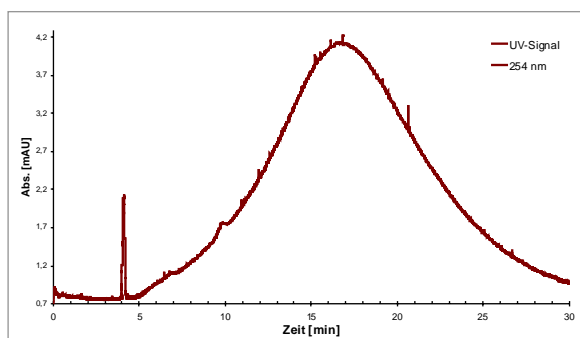
Abbildung 72: Position des UV-Detektors im Gerät <sup>3D</sup>CE und Möglichkeiten der Kapillarführung für UV-Detektion bzw ICP-MS-Detektion

Der erste Ansatz wurde bei der in Abschnitt 3.1.2.5 diskutierten ersten Charakterisierung von Huminstoffen mit der CE-UV sowie der CE-ICP-MS gewählt. Die Vorteile der Messungen mit getrennten Kapillaren liegen hauptsächlich darin, dass ein relativ weit am Kapillarende liegender UV-Detektor die korrekt fraktionierten Probenbestandteile aufzeichnet. Eine bezüglich der x-Achse absolut zeitgleiche Detektion mit den ICP-MS-Signalen erfolgt jedoch auch in diesem Fall nicht. Bei dieser parallelen Vorgehensweise besteht die Möglichkeit, die Konzentration der Probe für die UV-Detektion aufgrund ihrer geringeren Empfindlichkeit höher als für die ICP-MS-Detektion einzustellen. Diese Möglichkeit wurde allerdings aufgrund des bei verschiedenen Huminstoff-Fraktionierungen beobachteten Einflusses der Probenkonzentration auf die Fraktionierung nicht genutzt. Als deutliche Nachteile paralleler Messungen stellten sich die in den beiden Kapillaren nicht

absolut identisch einstellbaren Messbedingungen für UV- bzw. ICP-MS-Detektion und der erheblich höhere Messaufwand bei Dotierungsexperimenten dar.

Die zweite Möglichkeit besteht im Messen mit nur einer Kapillare unter Nutzung eines UV-Detektorfensters z.B. nach exakt 1/3 der Kapillarlänge und rechnerischer Korrektur der UV-Signale auf das Kapillarende (Multiplikation der Migrationszeiten sämtlicher Messpunkte mit dem Faktor 3). Der große Vorteil dieser Vorgehensweise besteht in der Existenz exakt gleicher Messbedingungen, insbesondere bezüglich des Zustandes der inneren Kapillaroberfläche. Diese Methode basiert auf der Annahme, dass die Huminstoff-Fraktionierung hinter dem UV-Fenster gleichförmig weiter verläuft wie vor dem UV-Fenster. Bei Anlegen einer Spannung stellt sich für jedes Ion nach kurzer Zeit ein Fließgleichgewicht zwischen Beschleunigungs- und Reibungskräften ein, das zu einer spezifischen Wanderungsgeschwindigkeit für dieses Ion führt (vgl. Abschnitt 2.3.4). Eine rechnerische UV-Signalkorrektur muss jedoch praktisch überprüft und abgesichert werden.

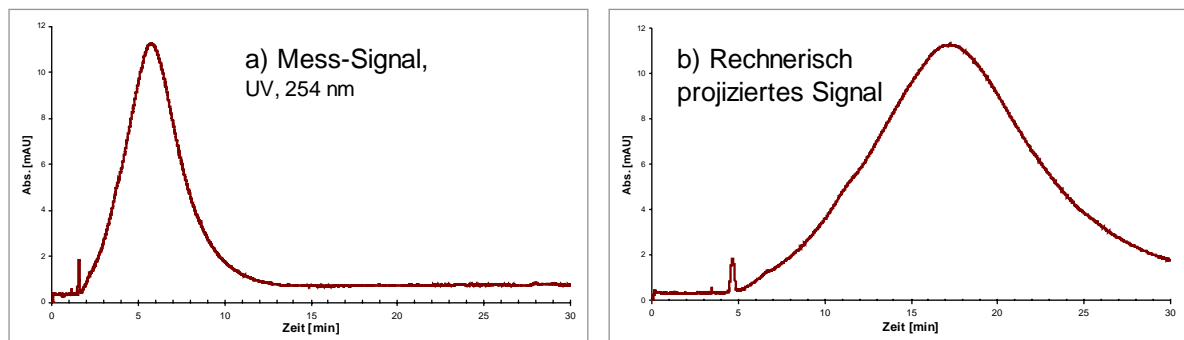
Das in Abbildung 73 dargestellte Elektropherogramm zeigt das UV-Signal einer CE-fraktionierten Huminstoffprobe, das mit einer 60 cm ‚UV-Kapillare‘ erhalten wurde, bei der das UV-Detektorfenster nach einer Distanz von 51,5 cm angebracht war. Der scharfe kleine Peak bei knapp 5 Minuten ist auf Mesityloxid als EOF-Marker zurückzuführen.



**Abbildung 73: UV-Signal (254 nm) einer CE-fraktionierten Huminstoffprobe mit einem weitgehend am Kapillarende angebrachten Detektorfenster**

Diese Anordnung mit praktisch am Kapillarende erfolgender UV-Detektion ermöglichte die maximale Fraktionierung der Probe. Das in Abbildung 73 dargestellte Elektropherogramm zeigt das bezüglich der UV-Detektion bestaufgelöste Signal der CE-fraktionierten Huminstoffprobe.

Abbildung 74 a zeigt das Elektropherogramm (UV-Signal) der gleichen Probe, abgenommen mit einer ‚ICP-MS-Kapillare‘ nach 20 cm.



**Abbildung 74: Vergleich von Mess-Signal (UV, 254 nm) und rechnerisch korrigiertem Signal einer CE-fraktionierten Huminstoffprobe unter Nutzung einer 60 cm ‚ICP-MS-Kapillare‘ mit UV-Detektion nach einer Distanz von 20 cm**

Die Migrationszeiten sind entsprechend der Detektorlokalisierung deutlich kürzer und die Peakbreite ist geringer. Abbildung 74 b stellt das Signal nach Hochrechnung auf das Kapillarende dar. Es gleicht dem in Abbildung 73 gezeigten Signal. Die Signalauflösung ist nur unwesentlich geringer.

*Fazit:* Dieser und andere Vergleiche zeigten, dass in einer Kapillare mit einem UV-Fenster bei 1/3 (20 cm) der Gesamtlänge praktisch gleiche Messbedingungen wie am Ende der Kapillare vorliegen und eine rechnerische Projektion des UV-Signals auf das Kapillarende ohne Informationsverlust möglich ist.

### 3.1.3.4 Kontrolle des EOF über das UV- und ICP-MS-Signal

Voraussetzung für den Erhalt zuverlässiger Elektropherogramme ist ein konstanter elektroosmotischer Fluss, der einen gleichbleibenden Zustand der inneren Kapillaroberfläche anzeigt und eine gleichbleibend gute Qualität der Messungen gewährleistet. Der EOF wurde daher regelmäßig über EOF-Marker sowohl für die UV-Signale (u.a. mit Mesityloxid), als auch für die ICP-MS-Signale (mit Arsenobetain) kontrolliert. Weiterhin wurde über die Migrationszeiten der EOF-Marker die im vorhergehenden Abschnitt dargestellte Korrektur der UV-Signale überprüft.

Abbildung 75 zeigt das  $^{13}\text{C}$ -Signal und das korrigierte UV-Signal einer Mesityloxid-Probe.

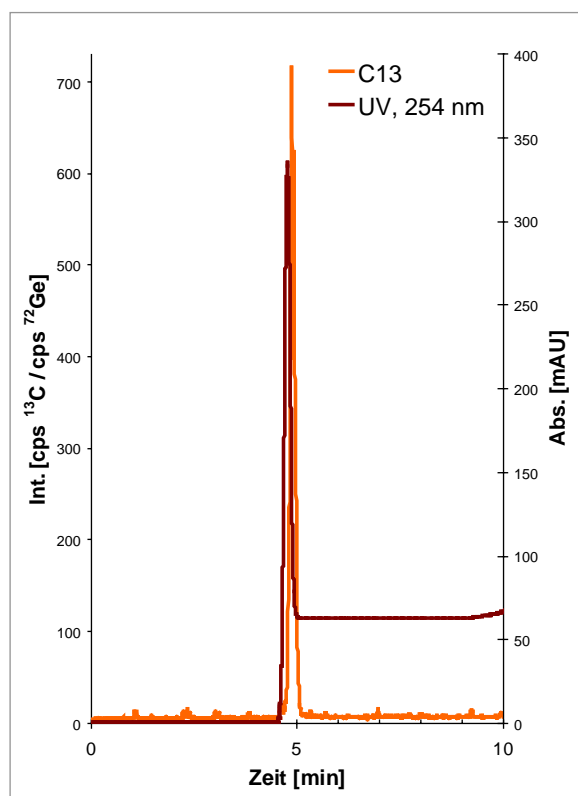


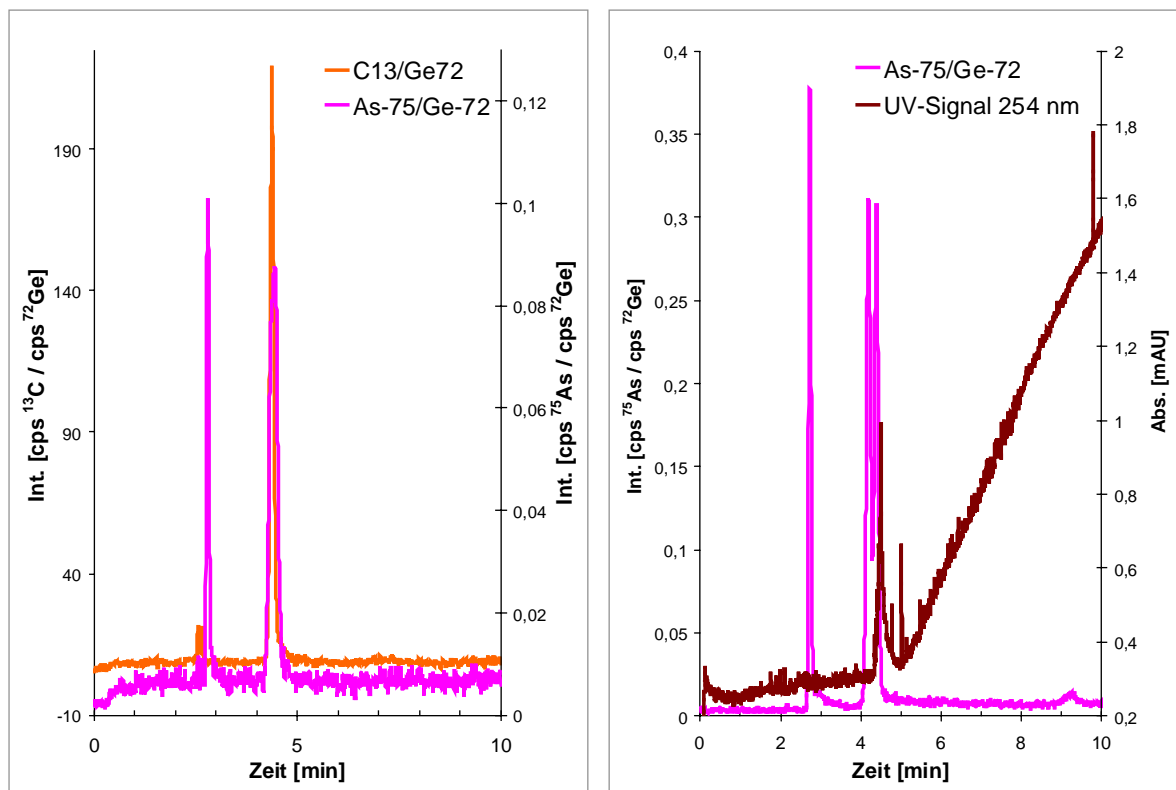
Abbildung 75:  $^{13}\text{C}$ -Signal und korrigiertes UV-Signal der Probe Mesityloxid (UV- EOF-Marker)

Die UV- und ICP-MS-Signale erscheinen zu sehr ähnlichen Migrationszeiten. Die zeitliche Deckung der Signale stützt die Möglichkeit der Korrektur der UV-Signale.

EOF-Marker müssen nach außen neutral sein, sie dürfen im angelegten elektrischen Feld keine eigene Migration aufweisen. Zur Prüfung der Eignung von Arsenobetain als EOF-Marker für die ICP-MS-Detektion bei einem pH-Wert um 5 wurden die Migrationszeiten von Arsenobetain mit denen anderer neutraler Verbindungen verglichen.



In Abbildung 76 a) sind die Signale der getrennten Arsenspezies Arsenocholin und Arsenobetain ( $^{75}\text{As}$ -Signal) und einer gleichzeitig injizierten mit dem EOF migrierenden Ethanol-Lösung ( $^{13}\text{C}$ -Signal) dargestellt.



**Abbildung 76: a)**  $^{13}\text{C}$ -Signal einer Ethanol-Probe und gleichzeitig injizierte fraktionierte Arsenspezies Arsenocholin und Arsenobetain;  
**b)** Korrigiertes UV-Signal (254 nm) von Mesityloxid und der fraktionierten Huminstoffprobe OR02RM und ICP-MS-Signal der fraktionierten Arsenspezies

Die zeitliche Übereinstimmung des Ethanol anzeigenden  $^{13}\text{C}$ -Signals mit dem Signal von Arsenobetain bestätigt die Möglichkeit, Arsenobetain bei einem pH-Wert von 5 als EOF-Marker einzusetzen.

Weiterhin muss die Migrationszeit des Signals des ICP-MS-EOF-Markers Arsenobetain mit derjenigen vom korrigierten Signal des UV-EOF-Markers Mesityloxid übereinstimmen. In Abbildung 76 b) ist der erste Teil des Elektropherogramms der fraktionierten realen Huminstoffprobe OR02RM (korrigiertes UV-Signal, 254 nm) dargestellt. Der kleine scharfe Peak zwischen 4 und 5 Minuten ist auf den EOF-Marker Mesityloxid zurückzuführen, hinter dem das Signal der früh erscheinenden Huminstoff-Fractionen beginnt (das sind wenig negativ geladene, bzw. große Fractionen, die ein hohes Masse-/Ladungs-Verhältnis aufweisen). Arsenobetain als ICP-MS-EOF-Marker erscheint im Elektropherogramm etwa gleichzeitig mit Mesityloxid als UV-EOF-Marker.

Unter der Voraussetzung der oben gezeigten Tatsache, dass Arsenobetain unter den Messbedingungen ein geeigneter EOF-Marker ist, bestätigt dieses Ergebnis, dass die Korrektur des UV-Signals praktikabel ist.

### 3.1.3.5 Absicherung des Arbeitsbereichs zu hohen Konzentrationen

Nachdem abgeklärt worden war, dass die Migrationszeiten verschiedener EOF-Markersubstanzen sowohl bei UV- als auch ICP-MS-Detektion übereinstimmten, wurde die Stabilität der Signalschärfe freier Metallionen und die Konstanz der Migrationszeiten bei hohen Konzentrationen überprüft. Die Signale freier Metallionen bei hohen Konzentrationen müssen denen bei niedrigen Konzentrationen gleichen, um bei den Dotierungsexperimenten eventuelle Verwechslungen mit Signalen Huminstoff-komplexierter Metallionen ausschließen zu können. Hierzu wurden Standardlösungen mit hohen Konzentrationen der betrachteten Metallionen angesetzt und mit der entwickelten Methode unter Einsatz des Acetatpuffers bei pH 5,1 und einem zusätzlichen Druck von 50 mbar untersucht. Die hohen Konzentrationen entsprechen dabei denen, die in den späteren Dotierungsexperimenten den Huminstofflösungen zugesetzt wurden.

Abbildung 77 zeigt beispielhaft die Reihe der Nickelsignale, die für Standardlösungen der Konzentrationen 1000, 5000 und 10000  $\mu\text{g/L}$  erhalten wurden (von links nach rechts).

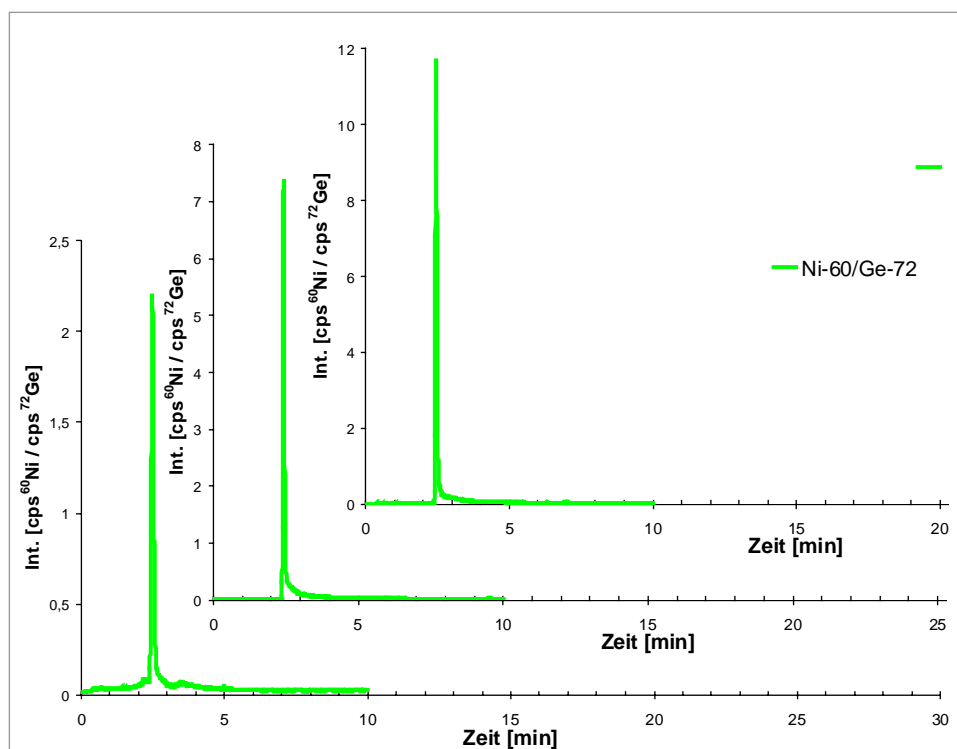
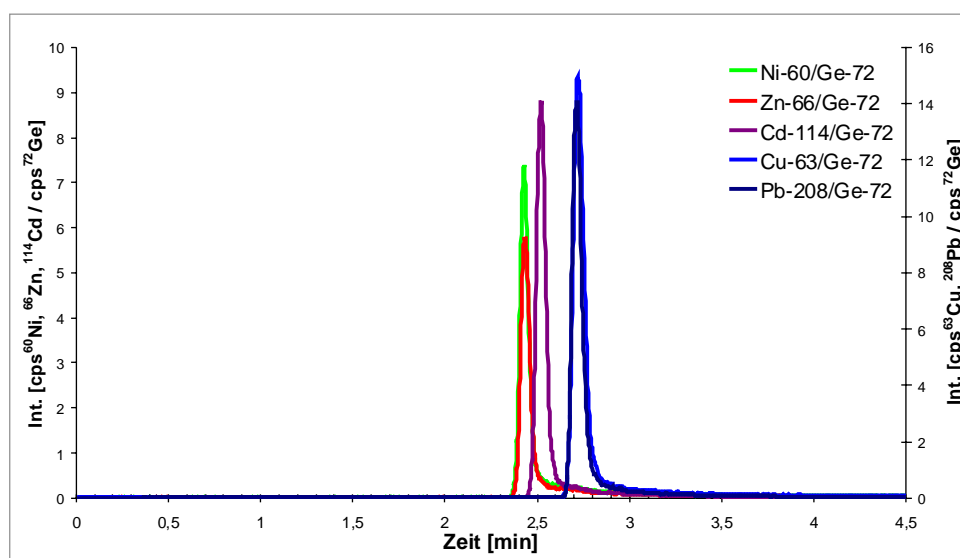


Abbildung 77: Elektropherogramme von Nickelstandardlösung der Konzentrationen 1000  $\mu\text{g/L}$ , 5000  $\mu\text{g/L}$  und 10000  $\mu\text{g/L}$  (v.l.n.r) unter den optimierten Bedingungen

Die Migrationszeiten und Formen der erhaltenen Signale sind stabil und auch in hohen Konzentrationen eindeutig den freien Metallionen zuzuordnen. Für die weiteren untersuchten Metallionen (Kupfer, Zink, Cadmium, Cäsium und Blei) wurden vergleichbare Signale erhalten.

Analog zu den Metallionenstandardlösungen geringer Konzentration (50 µg/L) sind in Abbildung 78 die Nickel-, Kupfer-, Zink-, Cadmium- und Blei- Signale bei einer Konzentration von 5000 µg/L aufgezeigt.



**Abbildung 78:** Elektropherogramme einer Standardlösung von je 5000 µg/L Nickel-, Kupfer-, Zink-, Cadmium- und Bleiionen unter den optimierten Bedingungen

Die Migrationszeiten und Signalformen sind denen bei 50 µg/L im Rahmen der technischen Möglichkeiten identisch.

Damit ist die Methode in der Lage, neben der Fraktionierung von Huminstoffen auch freie Metallionen in niedrigen und hohen Konzentrationen eindeutig getrennt von Huminstoff-komplexierten Metallionen zu detektieren.

### 3.1.3.6 Graphische Darstellung der mit der CE-UV-ICP-MS erhaltenen Informationen

Die folgenden Abbildungen geben einen kompakten Überblick über die Möglichkeiten der in den vorangegangenen Abschnitten entwickelten Methode zur Charakterisierung von Huminstoffen verschiedenen Ursprungs mit der CE-UV-ICP-MS.

Abbildung 79 zeigt die Signale eines Standards der Ionen Cu<sup>2+</sup> und Cd<sup>2+</sup> in Abwesenheit des zu untersuchenden Huminstoffs, der Vergleichbarkeit halber mit gleicher Zeitskala. Auf

den y-Achsen sind die normierten Intensitäten (Int.) der Kupfer- bzw. Cadmiumsignale in [cps] aufgetragen.

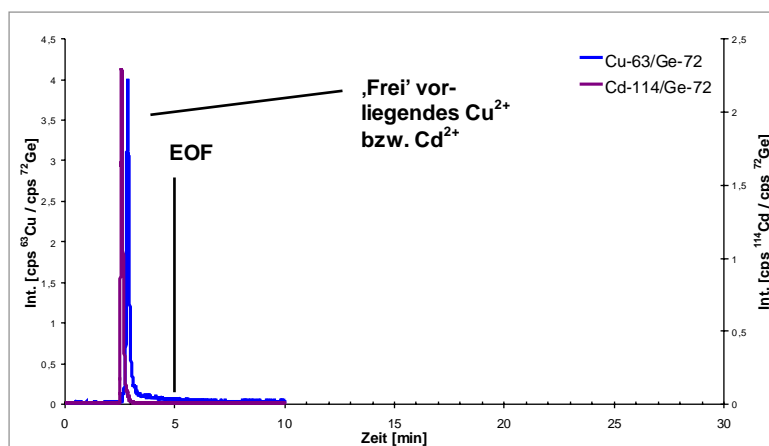


Abbildung 79: Signale eines Standards der Ionen  $\text{Cu}^{2+}$  und  $\text{Cd}^{2+}$  in Abwesenheit von Huminstoff

In Abbildung 80 sind die aufeinander abgestimmten UV (254 nm)- und ICP-MS-Signale für Kupfer und Cadmium einer originären - d.h. nicht zusätzlich mit Metallionen dotierten - Huminstoffprobe dargestellt. Letztere beschreiben also die in dieser Probe enthaltenen Mengen an  $\text{Cu}^{2+}$  und  $\text{Cd}^{2+}$ . Für das UV-Signal ist auf der zweiten y-Achse die Absorption (Abs.) bei 254 nm in [mAU] aufgetragen. Zur Erinnerung: Freie Metallionen migrieren aufgrund ihrer positiven Ladung schneller als der EOF und erscheinen daher im Elektropherogramm davor. Bei negativ geladenen Ionen, wie den Huminstoffen, ist es umgekehrt.

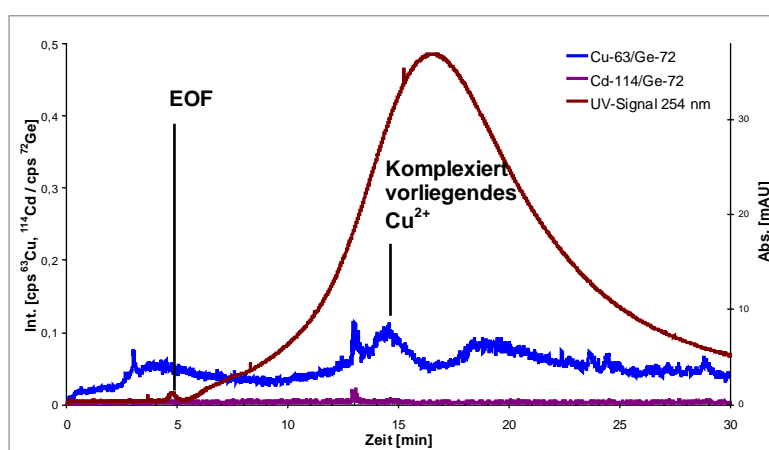


Abbildung 80: Darstellung der erhaltenen Informationen bezüglich einer bestimmten Huminstoffprobe und der in der Probe enthaltenen Metallionen

Die UV-Signale der Huminstoffe beginnen direkt hinter dem EOF, da Huminstoffe unter den vorliegenden Bedingungen neutral bzw. hauptsächlich negativ geladen sind. Früh detektierte Fraktionen des Huminstoffs verfügen über ein hohes Masse-/Ladungs-Verhältnis, wogegen später detektierte Fraktionen - bedingt durch ein kleineres Masse-/Ladungs-Verhältnis - schneller gegen den EOF wandern. Dabei ist die Breite des UV-Signals ein Maß für die Polydispersität der Huminstoffprobe.

Eine Dotierung dieses Systems mit Kupfer- und Cadmiumionen derselben Konzentration ist in Abbildung 81 gezeigt. Kupfer wurde weitgehend zu Migrationszeiten detektiert, in denen die Fraktionen des Huminstoffs im Elektropherogramm erschienen, es lag jedoch bereits ein kleiner Teil der Kupferionen frei vor, was sich durch gleiche Migrationszeiten wie die des Metallionenstandards erkennen lässt. Der Cadmium-Peak erschien ausschließlich bei der Migrationszeit des Cadmiumstandards. Interpretiert werden kann dies dahin, dass die Cadmiumionen nur zu einem minimalen Anteil durch den Huminstoff beeinflusst und gebunden wurden.

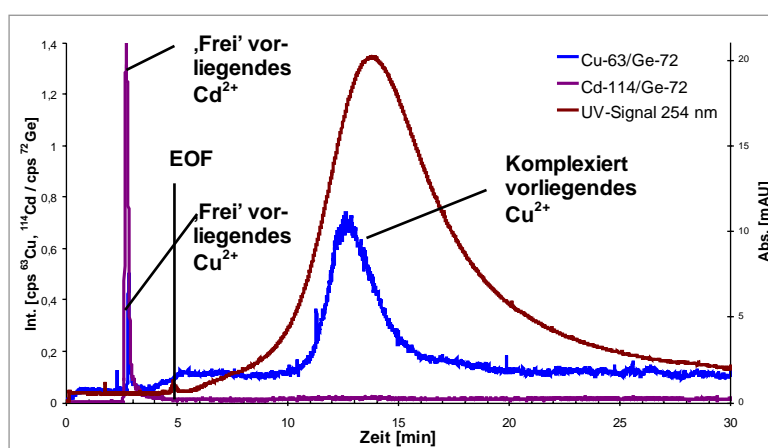


Abbildung 81: Darstellung desselben Systems nach Zugabe von Kupfer- und Cadmiumionen

Sollen weitere Metallsignale eines Messlaufs gezeigt werden, ist die Darstellung in einem Diagramm aufgrund unterschiedlicher Achsabschnitte und Unübersichtlichkeit nicht mehr so gut möglich. Die Darstellung des UV-Signals und der ICP-MS-Signale einer Messung für die sechs Elemente Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium, Cäsium und Blei erfolgt dann besser in 4 Diagrammen, wobei die Gruppierung der Metallsignale Nickel und Kupfer, Zink und Cadmium, bzw. Cäsium und Blei entsprechend ihrer Masse erfolgt. Abbildung 82 beschreibt eine derartige Darstellung.

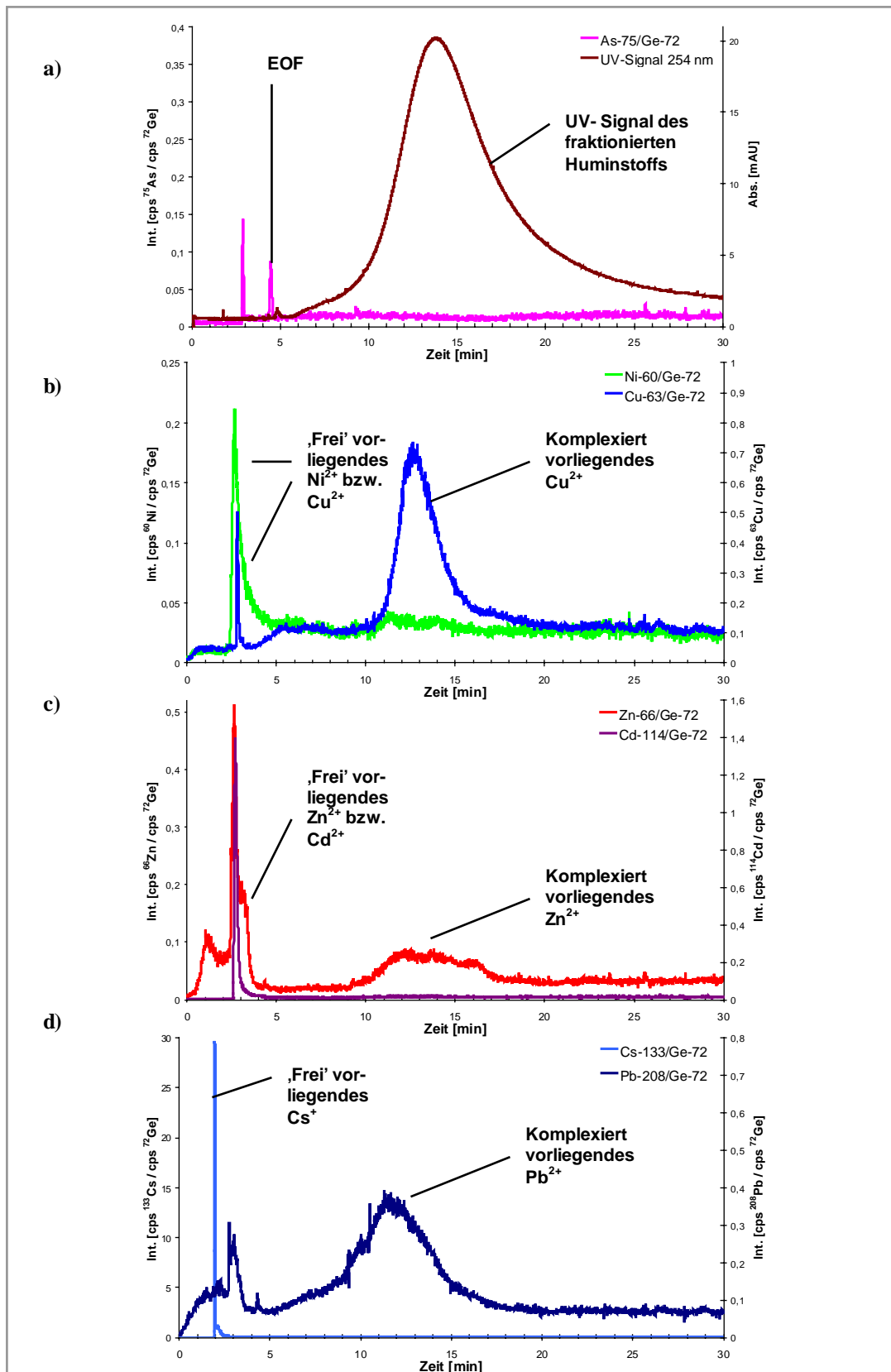


Abbildung 82: Erweiterte Art der Darstellung: Signale sämtlicher Metallionen (vgl. Abbildung 81)

### 3.1.3.7 Zusammenfassung der Optimierungsergebnisse

Bei der Entwicklung und Optimierung der Versuchsbedingungen für die Charakterisierung von Huminstoffen mit der CE-UV-ICP-MS wurden diverse Parameter optimiert. In Tabelle 10 sind die optimierten und im Folgenden genutzten Bedingungen zusammengefasst.

**Tabelle 10: Optimierte experimentelle Bedingungen zur Charakterisierung von Huminstoffen mit der CE-UV-ICP-MS**

<i>Charakterisierung von HS mit der CE-UV-ICP-MS</i>	
<i>Kapillarelektrophorese</i>	<i>Agilent 3D Capillary Electrophoresis</i>
Kapillare	Fused Silica, 60 cm Länge, 75 µm innerer Durchmesser
Puffer-Lösung	Acetat, 12,5 mmol/L, pH-Wert 5,1
Temperatur	15 °C
Spannung und Druck	30 kV; 50 mbar zusätzlich angelegter Druck
Probenaufgabe	Hydrodynamisch, 200 mbar·s (~22 nL)
UV-Detektion	254 nm, 3D
<i>Interface CE – ICP-MS</i>	
<i>Interface CE – ICP-MS</i>	<i>CETAC CEI 100</i>
Flussrate	ca. 10 µL/min
Puffer / Make-Up- Flüssigkeit	10 mmol/L Ammoniumnitrat-Lösung
Spike	10 µg/L Ge
<i>ICP-MS</i>	
<i>ICP-MS</i>	<i>Agilent 7500 S</i>
Plasma Gas	15 L/min
Auxiliary Gas	0,9 L/min
Nebulizer Gas	0,98 L/min
RF Power	1300 W
Detektierte Isotope	<sup>60</sup> Ni, <sup>63</sup> Cu, <sup>66</sup> Zn, <sup>72</sup> Ge, <sup>75</sup> As, <sup>114</sup> Cd, <sup>133</sup> Cs, <sup>208</sup> Pb

Sie ermöglichen die Charakterisierung von Huminstoffen und die Bestimmung der Schwermetallanteile, die an verschiedene Huminstoff-Grobfractionen gebunden sind. Dabei ist neben der Fraktionierung von Humin- und insbesondere Fulvinsäuren und der Bestimmung des gebundenen Schwermetallanteils auch die Detektion des freien Anteils an Metallionen in niedrigen und hohen Konzentrationen möglich.



## 3.2 Charakterisierung von Huminstoffen mit der CE-UV-ICP-MS

Nach der Entwicklung und Optimierung der CE-UV-ICP-MS wurde sie zur Charakterisierung von Huminstoffen verschiedener Herkunft eingesetzt und dabei ihre Leistungsfähigkeit demonstriert. Die Untersuchungen der **undotierten Huminstoffproben** orientierten sich an folgenden Fragen:

- Lassen sich Huminstoffe über ihr CE-Fraktionierungsverhalten beschreiben? Migrationszeiten, UV-Signalbreite und -form bilden Fingerprints.
- Lassen sich daraus Informationen über die Polydispersität und die Ladungs- / Größen-Verhältnisse bzw. Unterscheidungsmerkmale der einzelnen Huminstoffproben ableiten?
- Lassen sich die Huminstoffe über die Metallgehalte in ihren Grobfractionen charakterisieren?
- Gibt es Unterschiede im Komplexierungsverhalten der untersuchten Huminstoffe gegenüber verschiedenen Metallionen?
- Spiegeln die transienten Metallsignale qualitativ die in der Bulkanalyse gefundenen Werte wider?

Weitere Fragen ergeben sich bei einer **Dotierung der Huminstoffproben mit Metallionen**:

- Lässt sich die Komplexierung der zudotierten Metallionen nachweisen?
- Bis zu welcher Menge werden die zudotierten Metallionen komplexiert?
- Gibt es eine Konzentrationsgrenze, ab der zusätzlich zum komplexierten Metallsignal ein Signal freier Ionen auftritt?
- Lassen sich Komplexierungskapazitäten abschätzen?
- Haben verschiedene Metallionen ( $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ) ein unterschiedliches Komplexierungsverhalten und lässt sich dies thermodynamisch beschreiben?
- Lassen sich die Metallionen hinsichtlich ihres Bindungsvermögens gegenüber Huminstoffen reihen?
- Findet sich diese Reihenfolge bei verschiedenen Huminstoffproben wieder?

- Wie wirkt sich die Dotierung von Metallionen in unterschiedlichen Mengen auf das CE-Fraktionierungsverhalten der Huminstoffproben (Polydispersität bzw. Signalbreite) aus? Gibt es Unterschiede bei den einzelnen Metallionen?
- Lassen sich strukturelle Zusammenhänge zwischen dem Gehalt eines Huminstoffes z.B. an Stickstoff oder Schwefel und dem Komplexierungsverhalten gegenüber bestimmten Metallionen erkennen?
- Korrelieren die Signale einzelner Metallionen mit bestimmten Fraktionen eines Huminstoffs?
- Welchen Einfluss hat die Einwirkdauer der Huminstoff-Lösung auf die zudotierten Metallionen vor der Messung?

Alle diese Fragen wurden an originären Huminstoffproben aus einem Moorsee sowie dem Oder-Fluss-System und an in unserem Arbeitskreis hergestellten Huminstoff-Modellen studiert.

### 3.2.1 Auswahl der Huminstoffproben und Basis-Charakterisierung über DOC, Elementaranalyse, UV-VIS- und IR-Spektroskopie, sowie Metallgehalts-Bestimmung

Zunächst wurden verschiedene, in aquatischen Systemen auftretende Huminstoffe und drei Huminstoff-Modelle unterschiedlicher Zusammensetzung elementar- und strukturanalytisch charakterisiert. Tabelle 11 gibt eine Übersicht.

Tabelle 11: Huminstoffproben, die mit der CE-UV-ICP-MS charakterisiert wurden

<i>Huminstoff</i>				<i>Dotierung mit Metallionen</i>	
<i>Bezeichnung</i>	<i>Herkunft</i>			<i>Einzel</i> mit	<i>6 Metallionen, gemeinsam</i>
<u><i>HOFA13</i></u>	<i>Natürlich</i>	Moor- wasser	XAD-8	$\text{Cu}^{2+}$ bzw. $\text{Cd}^{2+}$	$\text{Ni}^{2+}$ , $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Cs}^+$ und $\text{Pb}^{2+}$
<u><i>OR02RM</i></u>		Fluss- wasser	TF-UF	$\text{Cu}^{2+}$	$\text{Ni}^{2+}$ , $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Cs}^+$ und $\text{Pb}^{2+}$
<u><i>FS-001</i></u>	<i>Modell</i>	C, H, O	XAD-8	$\text{Cu}^{2+}$ bzw. $\text{Cd}^{2+}$ bzw. $\text{Ni}^{2+}$	$\text{Ni}^{2+}$ , $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Cs}^+$ und $\text{Pb}^{2+}$
<u><i>FS-023</i></u>		C, H, O, mit N	XAD-8	$\text{Cu}^{2+}$ bzw. $\text{Cd}^{2+}$	$\text{Ni}^{2+}$ , $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Cs}^+$ und $\text{Pb}^{2+}$
<u><i>FS-018</i></u>		C, H, O, mit N, S	XAD-8	$\text{Cd}^{2+}$	$\text{Ni}^{2+}$ , $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Cs}^+$ und $\text{Pb}^{2+}$

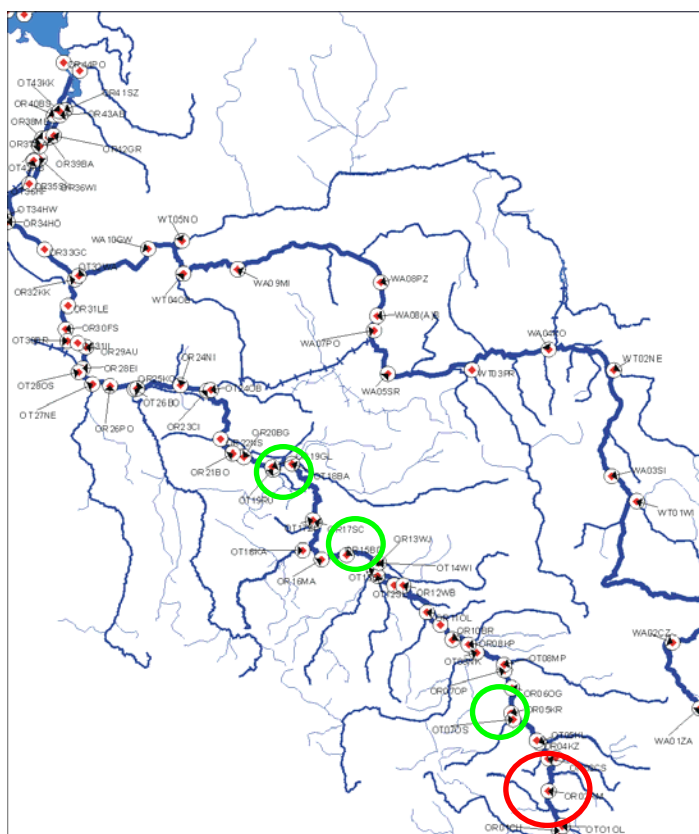
Neben der Probenbezeichnung und der Probenherkunft bzw. den Hauptcharakteristika der synthetischen Proben sind die Metallionen aufgeführt, mit denen im weiteren Verlauf der Arbeit Dotierungsexperimente durchgeführt wurden.

#### Auswahl der Huminstoffproben

Bei den natürlichen Proben handelt es sich um Natural Organic Matter- (NOM-) bzw. Fulvinsäure-Proben, die in aquatischen Systemen bei neutralen pH-Werten löslich und daher besonders mobil sind.

Der Moorwasser-Huminstoff **HOFA13** wurde von F. Miller in unserer Arbeitsgruppe mit Hilfe der XAD-8-Methode angereichert [206]. Die Probennahme erfolgte im Rahmen des DFG-Schwerpunktprogramms ROSIG in einem huminstoffreichen Schwarzwald-Moorsee, dem Hohlohsee. HOFA13 wurde durch F. Miller hinsichtlich seines Komplexierungsverhaltens elektrochemisch charakterisiert.

Die zweite natürliche aquatische Huminstoffprobe **OR02RM** entstammt der Oder. Sie wurde im Rahmen des Internationalen Oder Projektes (IOP) im Oktober 2000 im Oberlauf der Oder nahe Raciborz genommen (großer roter Kreis in Abbildung 83).



**Abbildung 83: IOP-Probennahmepunkte im Verlauf der Oder und der Warthe**

*Der große Kreis markiert die Lokalität, an der die Wasserprobe OR02RM (120 L) für die Anreicherung der Huminstoffe genommen wurde*

Während dieser Probennahme wurden drei weitere Wassergroßproben (OR05KR, OR15BD und OR19GL) genommen und die enthaltenen Huminstoffe mit Hilfe der Tangentialfluss-Ultrafiltration (TF-UF) angereichert (kleine grüne Kreise in Abbildung 83). Die vier Huminstoffe des Odersystems zeigten in der nachfolgenden Analytik große Ähnlichkeiten. Daher wurde nur die Probe OR02RM aufgrund ihres hohen DOC stellvertretend für die natürlichen aquatischen Oder-Huminstoffe in dieser Arbeit weiter untersucht.

Die Probennahme erfolgte nach Vorfiltration in vorgereinigte und mit entsprechendem Flusswasser gespülte Kanister. Die Abbildung 84 a bis d geben einen Eindruck von der Probennahme.



**Abbildung 84: IOP-Probennahme 10/00**

Aufgrund der niedrigen Konzentrationen an gelöstem organischen Kohlenstoff (DOC: etwa 5 mg/L) in natürlichen Oberflächengewässern war auch im Falle der Probe OR02RM eine Anreicherung vor der Huminstoff-Analytik unumgänglich. Die Art der Anreicherung wurde der nachfolgenden Analytik, insbesondere der CE-UV-ICP-MS, angepasst. Sie sollte den Huminstoff hinsichtlich der zu untersuchenden Parameter, besonders der Molekulargrößenverteilung und des Schwermetallgehaltes, möglichst wenig verändern. Daher wurden die aquatischen Huminstoffe mit der präparativen Tangentialfluss-Ultrafiltration mit einer hochwertigen Membrane der Ausschlussgrenze 1 kDa angereichert. Auf diese Weise wurden starke pH-Wert Schwankungen – wie sie bei der Anreicherung über XAD-8-Säulen auftreten – vermieden und damit verbundene Veränderungen in der Größenverteilung und im Metallgehalt in Grenzen gehalten. Die Anreicherung wurde durch DOC- und ICP-MS-Messungen verfolgt. Ein Schema der Huminstoff-Anreicherung mit der TF-UF zeigt Abbildung 85.

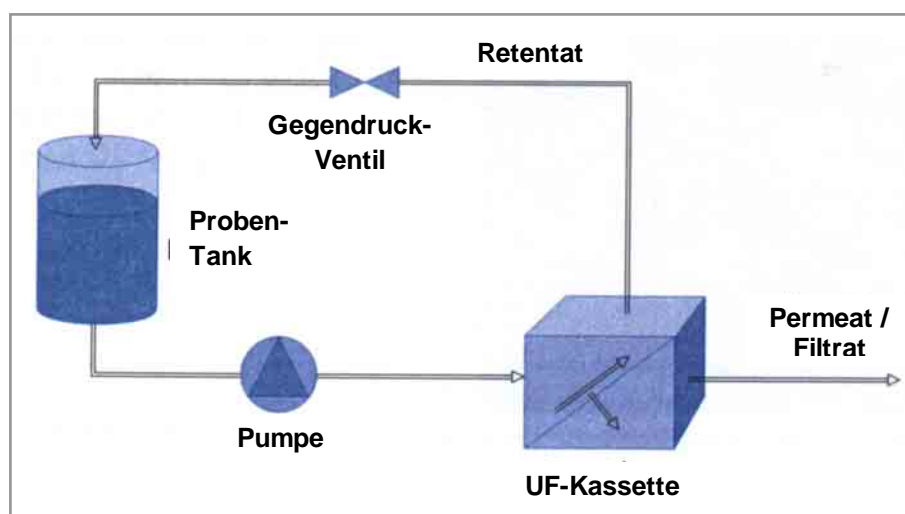


Abbildung 85: Huminstoff-Anreicherung mit der Ultrafiltration im Tangentialfluss (TF-UF)

Bei den Proben **FS-001**, **FS-023** und **FS-018** handelt es sich um Huminstoffmodelle, die von W. Herdering in unserer Gruppe aus Hydrochinon in wässriger Natriumkarbonatlösung durch Oxidation mit Luftsauerstoff synthetisiert wurden [82] [79] [80] [81]. Der Einbau von Stickstoff und Schwefel erfolgte durch Zugabe von Glycin bzw. Cystin.

Die Huminstoffmodelle, deren Struktur relativ bekannt ist, wurden hinsichtlich des Verhaltens gegenüber Metallionen mit den natürlichen Huminstoffen verglichen. Huminstoffmodelle mit N- bzw. S-Gehalt wurden ausgewählt, da beide Atomarten wichtige Donatoren für die Kationen von Übergangsmetallen darstellen und in natürlichen Huminstoffen in wechselnden Mengen vorliegen. FS-001 enthielt weder N noch S, FS-023 enthielt N, FS-018 enthielt N sowie S.

**Bestimmung des DOC.** Die Bestimmung des DOC diente der Charakterisierung des Gehalts einer Probe an gelöstem organischen Kohlenstoff und der Erarbeitung einer Bezugsgröße für die in der Probe enthaltenen oder zudosierten Metallionen.

Im Falle von OR02RM wurde der DOC der Wassergroßprobe von 5,1 mg/L mit Tangentialfluss-Ultrafiltration auf 320,4 mg/L angereichert. Ein Teil der angereicherten Lösung wurde gefriergetrocknet. Die anderen Proben (HOFA13, FS-001, FS-023 und FS-018) lagen als Feststoffe vor. Sie wurden zur Charakterisierung mit der CE-UV-ICP-MS unter Berücksichtigung des elementaranalytisch bestimmten C-Anteils auf eine DOC-Konzentration von 1 mg/mL eingewogen.

**Elementaranalyse.** Die Gehalte der Huminstoffe an Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Schwefel und Sauerstoff wurden in den getrockneten und Luft-äquilibrierten Proben in Anlehnung an [95] bestimmt. Die Ergebnisse für die fünf Probenarten sind in Tabelle 12 dargestellt.

Tabelle 12: Elementare Zusammensetzung der Huminstoffproben

<i>Huminstoffproben: Elementare Zusammensetzung</i>									
<i>HS-Probe</i>	<i>Gehalt [%]</i>						<i>Verhältnis</i>		
	C	H	N	S	O	Rest	C/H	O/N	C/N
<i><u>HOFA13</u></i>	49,9	4,5	0,6	0,5	44,3	0,3	11,1	0,9	83,2
<i><u>OR02RM</u></i>	16,7	3,0	1,1	5,2	34,4	39,7	5,6	2,1	15,2
<i><u>FS-001</u></i>	47,4	3,2	<i>n.b.</i>	<i>n.b.</i>	47,9	1,5	14,8	1,0	---
<i><u>FS-023</u></i>	51,8	3,6	4,2	<i>n.b.</i>	40,5	-0,1	14,4	0,8	12,3
<i><u>FS-018</u></i>	41,1	3,1	3,0	11,7	39,8	1,2	13,3	1,0	13,7

*n.b.* nicht bestimmt

Die beiden natürlichen Huminstoffe unterscheiden sich deutlich in ihrer elementaren Zusammensetzung. HOFA13 enthält mit knapp 50 % erheblich mehr Kohlenstoff und mit 44

% ebenfalls deutlich mehr Sauerstoff als die Probe OR02RM (16,7 bzw. 34,4 %). Die Gehalte an Stickstoff und Schwefel liegen jedoch mit 0,6 % und 0,5 % gegenüber 1,1 % und 5,2 % etwas bzw. deutlich niedriger. Auffallend hoch ist bei der Probe OR02RM mit 39,7 % der Restgehalt. Die Unterschiede der Proben zeigen sich auch in den Elementverhältnissen: Das Verhältnis von C/H liegt bei HOFA13 mit 11,1 etwa doppelt so hoch wie bei OR02RM (5,6), was auf einen erhöhten Anteil an aromatischen Bestandteilen hinweist. Das weniger als halb so große Verhältnis von O/C könnte einen relativ geringeren Anteil an funktionellen Gruppen andeuten, wogegen sich das 6-fach erhöhte C/N- Verhältnis durch den vergleichsweise geringen Gehalt an Stickstoff erklärt.

Die gezeigten Unterschiede sind neben der unterschiedlichen Probenherkunft auf die unterschiedliche Art der Probenanreicherung und Isolierung zurückzuführen. Während es sich bei HOFA13 um eine XAD-8 angereicherte klassische Fulvinsäure handelt, erfolgte die Anreicherung der Probe OR02RM durch Tangentialfluss-Ultrafiltration (Membran-Ausschlussgrenze: 1 kDa), was zu einer Anreicherung über die Molekülgröße, nicht über die Adsorptions- und Löslichkeits-Eigenschaften führte. Der hohe Restgehalt von OR02RM ist neben komplexierten Metallionen und adsorbierten Salzen vermutlich auf anhaftendes silikatisches Material zurückzuführen.

Die Gruppe der Fulvinsäuremodelle verhält sich deutlich homogener und ähnelt in der elementaren Zusammensetzung eher der natürlichen Fulvinsäureprobe HOFA13. Die deutlichsten Unterschiede finden sich, wie bei der Synthese durch die Zugabe von Glycin bzw. Cystin geplant, im Gehalt an Stickstoff und Schwefel. FS-001 enthält diese Heteroatome nicht, FS-023 enthält 4,2 % Stickstoff und FS-018 enthält sowohl Stickstoff (3,0 %), als auch Schwefel (11,7 %).

**UV-VIS-Spektroskopie.** Huminstoffe absorbieren aufgrund ihrer aromatischen Bestandteile im sichtbaren Bereich und stärker noch im UV-Bereich. Zur Quantifizierung werden die Wellenlängen 254 nm (UV) und 436 nm (gelbe Farbe) genutzt [90]. Zum Vergleich der Werte verschiedener wässriger Huminstoffproben ist es sinnvoll, die Absorptionen auf die jeweilige DOC-Konzentration zu beziehen.

Für die Huminstoffproben HOFA13, OR02RM, FS-001, FS-023 und FS-018 wurden im Bereich zwischen 200 nm und 600 nm die in Abbildung 86 dargestellten Spektren erhalten. Sie sind, wie es für Huminstoffe typisch ist, relativ wenig aussagekräftig. Die beiden senkrechten Balken markieren die zur Quantifizierung herangezogenen Absorptionen bei 254 nm und 436 nm.



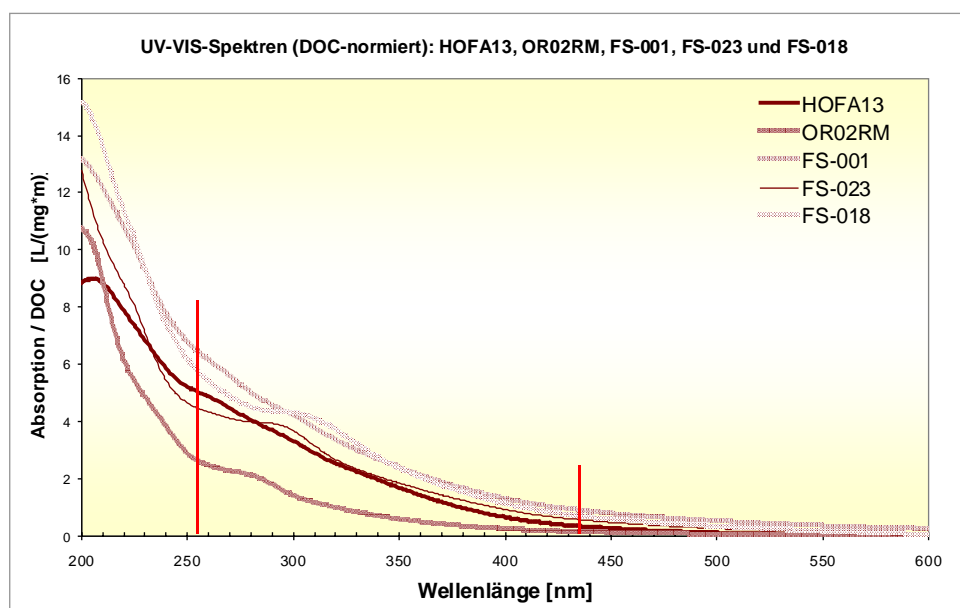


Abbildung 86: UV-VIS-Spektren der Proben HOFA13, OR02RM, FS-001, FS-023 und FS-018 (DOC-normiert)

Tabelle 13 zeigt die numerische Auswertung der Spektren. Je nach Herkunft und Art der Anreicherung des Huminstoffs variierten die Absorptionen.

Tabelle 13: Spektrale Absorptionen der Proben HOFA13, OR02RM, FS-001, FS-023 und FS-018

<i>Konzentration</i>		<i>Absorption</i>		<i>Normierte Absorption</i>		<i>Verhältnis</i>
<i>Probe</i>	<i>DOC</i> - [mg/L]	<i>Abs.</i> (254 nm) [1/m]	<i>Abs.</i> (436 nm) [1/m]	<i>Abs. (254 nm)</i> / DOC [L/mg m]	<i>Abs. (436 nm)</i> / DOC [L/mg m]	<i>Abs. (254 nm)</i> / <i>Abs. (436 nm)</i>
<b><u>HOFA13</u></b>	57,7	0,292	0,019	5,063	0,325	<b>15,6</b>
<b><u>OR02RM</u></b>	320	0,855	0,047	2,669	0,146	<b>18,3</b>
<b><u>FS-001</u></b>	47,7	0,311	0,043	6,512	0,891	<b>7,3</b>
<b><u>FS-023</u></b>	49,6	0,222	0,027	4,480	0,547	<b>8,2</b>
<b><u>FS-018</u></b>	40,8	0,237	0,028	5,815	0,685	<b>8,5</b>

Die Daten der DOC-bezogenen Absorptionen bei 436 nm (Abs. (436 nm) / DOC) spiegeln die optisch erhaltenen Eindrücke wider: Die drei synthetischen Huminstoffe sind intensiver gefärbt als die natürlichen Huminstoffproben, wobei das Huminstoffmodell FS-001, das keinen Stickstoff und Schwefel enthält, die stärksten Chromophore aufweist.

Abbildung 87 stellt die Verhältnisse graphisch dar.

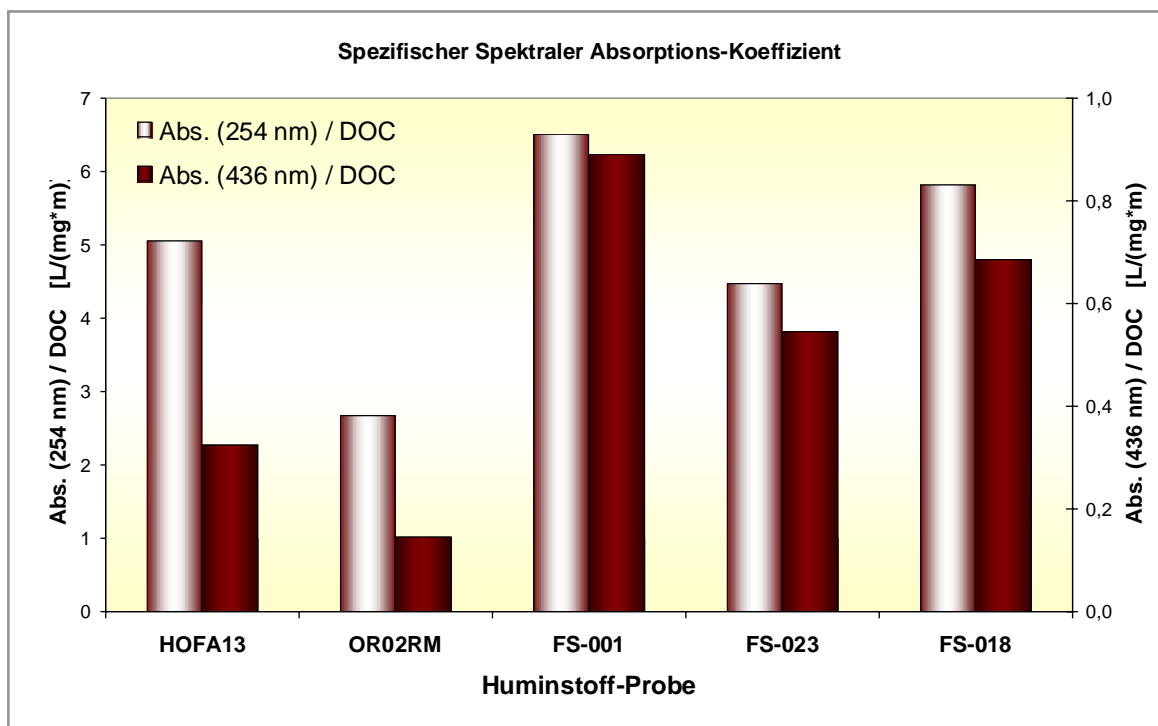


Abbildung 87: Spezifischer Spektraler Absorptions-Koeffizient der Proben HOFA13, OR02RM, FS-001, FS-023 und FS-018

Die beiden natürlichen Huminstoffe unterscheiden sich. Die über Tangentialfluss-Ultrafiltration angereicherte Probe OR02RM war nur etwa halb so stark gefärbt wie die nach der XAD-8- Methode angereicherte Probe HOFA13. Dies ist neben der Probenherkunft möglicherweise auch auf die Art der Anreicherung zurückzuführen. Auch die Elementaranalyse zeigte Unterschiede.

Die Werte der DOC-normierten Absorption bei 254 nm (Abs. (254 nm) / DOC) unterscheiden sich etwas weniger stark. Auch hier fällt jedoch die Probe OR02RM durch einen niedrigen Wert auf. Der höchste Wert fand sich bei der Probe FS-001, die möglicherweise die meisten ungesättigten Bestandteile enthält.

Bei der Bildung der Verhältnisse der Absorptionen bei 254 nm und 436 nm (Abs. (254 nm) / Abs. (436 nm)) zeigten sich sehr deutlich zwei Gruppen mit voneinander abweichenden Eigenschaften. Die Werte der natürlichen Huminstoffe lagen trotz der unterschiedlichen Art ihrer Anreicherung und Herkunft mit ungefähr 17 etwa doppelt so hoch wie die der Huminstoffmodelle.

**IR-Spektroskopie.** Die Charakterisierung der Huminstoffproben erfolgte auch mit Hilfe der Infrarot-Spektroskopie. Dabei ging es um strukturelle Informationen jeder einzelnen Probe, aber insbesondere auch um eine Charakterisierung im Sinne einer Fingerprintanalyse. Verschiedene Proben sollten über Ähnlichkeiten bzw. Unterschiede in Gruppen zusammengefasst und so Aussagen über die Art des Huminstoffs und die Anreicherung getroffen werden.

Die IR-Spektren der Proben HOFA13, OR02RM, FS-001, FS-023 und FS-018 sind in Abbildung 88 dargestellt. Allen Spektren gemein sind die breiten, auf OH-Valenzschwingungen zurückzuführenden Absorptionsbanden zwischen  $3600\text{ cm}^{-1}$  und  $3200\text{ cm}^{-1}$ . Diese Banden zeigen OH-Gruppen von phenolischen Strukturen und Alkoholen an, die in inter- und intramolekularen Wasserstoffbrücken-Bindungen vorliegen. Die Banden um  $2950\text{ cm}^{-1}$  sind durch C-H-Streckungsschwingung bedingt und zeigen aliphatische Anteile ( $-\text{CH}_2-$ ) im Huminstoff an, ebenso wie die durch symmetrische Deformationsschwingungen von  $\text{CH}_3$ -Gruppen bedingten Banden um  $1380\text{ cm}^{-1}$ .

Insgesamt fallen die deutlichen Ähnlichkeiten des Spektrums der Probe HOFA13 mit den Spektren der Fulvinsäuremodelle FS-001, FS-023 und FS-018 auf. Die auf die Streckschwingung von C=O-Gruppen von Carbonsäuren bzw. Ketonen zurückzuführende Bande um  $1720\text{ cm}^{-1}$  ist diesen Proben gemein. Die Fulvinsäuren lagen in Form ihrer Säuren vor und zeigten ausgeprägte C=O-Streckungs-Banden ihrer COOH-Funktionen. Generell ist bei den Fulvinsäuren im Vergleich zu Huminsäuren aufgrund der größeren Zahl an COOH-Gruppen die Bande um  $1720\text{ cm}^{-1}$  deutlich stärker ausgeprägt als die Bande um  $1620\text{ cm}^{-1}$  (die insbesondere durch die C=C-Valenzschwingungen aromatischer Strukturen bedingt ist). Die COOH-Bande ist bei HOFA13 und FS-001 am stärksten, bei FS-018 und FS-023 zunehmend schwächer ausgeprägt. Im Spektrum der Probe OR02RM fehlt diese Bande. Die Schultern um  $2600\text{ cm}^{-1}$  sind auf Wasserstoffbrücken gebundene O-H-Streckschwingungen von Carboxylsäuregruppen zurückzuführen. Sie treten bei dem aus der Oder angereicherten Huminstoff nicht auf. Eine weitere Gemeinsamkeit der Proben HOFA13, FS-001, FS-023 und FS-018 sind die auf C-O-Streck- und OH-Deformations-Schwingungen von COOH-Gruppen zurückzuführenden Banden um  $1200\text{ cm}^{-1}$ . Diese fehlen bei OR02RM.

Das Spektrum der Probe OR02RM zeigt ein deutlich anderes Verhalten. Die bei den Fulvinsäuren auf eine C=O-Streckschwingung von COOH- aber auch Carbonylgruppen zurückzuführende typische Bande um  $1720\text{ cm}^{-1}$  fehlt bei dem Huminstoff aus der Oder. Dies deutet darauf hin, dass statt der freien Säuren Metall-Komplexe bzw. Humate vorliegen, was bei der Art der Anreicherung mit der Tangentialfluss-Ultrafiltration bei neutralen pH-Werten (und ohne anschließenden Einsatz von Kationenaustauschern) beabsichtigt war. Bei schwächer ausgeprägter Bande um  $1720\text{ cm}^{-1}$  nimmt oft die Deutlichkeit der Banden um  $1600\text{ cm}^{-1}$  und  $1400\text{ cm}^{-1}$  zu [98]. Dies ist bei OR02RM, aber auch anderen, hier nicht gezeigten Huminstoffen aus der Oder der Fall.

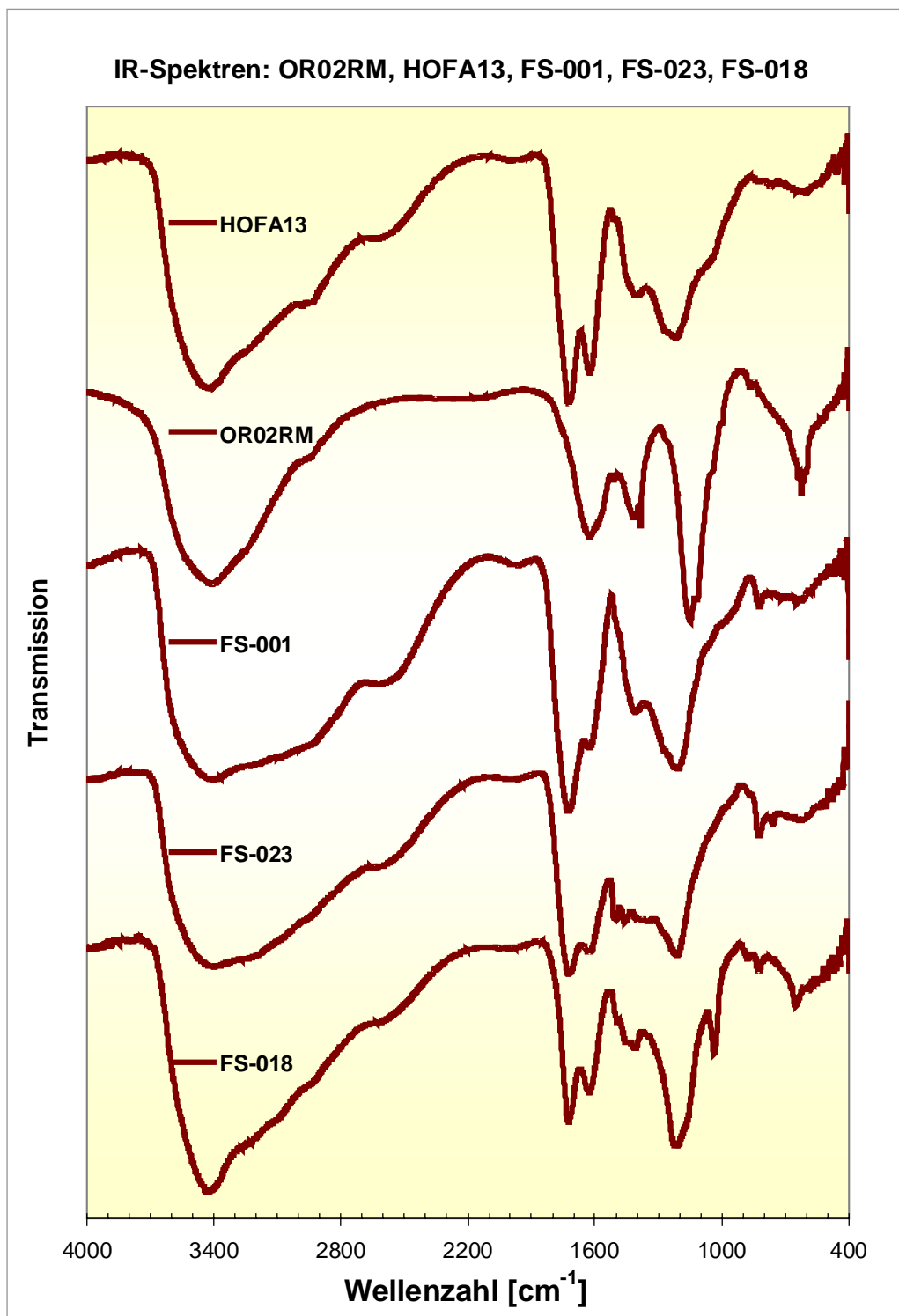


Abbildung 88: IR-Spektren der Huminstoffproben HOFA13, OR02RM, FS-001, FS-023 und FS-018

Die huminstofftypische, auf Valenzschwingungen aromatischer C=C-Bindungen sowie antisymmetrische Valenzschwingungen von Carboxylatgruppen zurückzuführende Bande um 1600 cm<sup>-1</sup> ist stark ausgeprägt.

Die Banden um  $1400\text{ cm}^{-1}$  sind vermutlich auf OH-Deformations- und C-O-Streckschwingungen phenolischer OH-Gruppen, C-H-Deformationsschwingungen von  $\text{CH}_2$ - und  $\text{CH}_3$ -Gruppen, sowie Valenzschwingungen von  $\text{COO}^-$ -Gruppen zurückzuführen. Die kleinen Banden um  $1506\text{ cm}^{-1}$  sind vermutlich durch Valenzschwingungen aromatischer C=C-Bindungen bedingt, um  $1460\text{ cm}^{-1}$  liegen die C-H-Deformationsschwingungen aliphatischer  $\text{CH}_2$ -Gruppen. Offensichtlich sind die genannten Merkmale auf das Vorliegen der Probe OR02RM als Metall-Humat zurückzuführen.

Auffallend ist bei der Probe OR02RM auch die stark ausgeprägte Bande um  $1140\text{ cm}^{-1}$ . Sie könnte auf C-O-Streckschwingungen von Polysacchariden und polysaccharidähnlichen Substanzen, auf Valenzschwingungen von Sulfonaten und Sulfaten, bzw. auf Si-O-Schwingungen silikatischer Anteile zurückzuführen sein. Vergleichsspektren von Stärke, feinst gemahlenem Quarzsand, Seesand und Silicagel zeigten jedoch nur mäßige Übereinstimmung. Starke Übereinstimmungen ergaben sich im Bereich der Banden um  $1140\text{ cm}^{-1}$  jedoch mit Vergleichsspektren von  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und besonders von  $\text{Fe(II)SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Dies deutet zusammen mit dem hohen, in der Probe OR02RM gemessenen Gehalt an Schwefel auf einen deutlichen Anteil an sulfonatischen und sulfatischen Strukturen.

**$^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie.**  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren wurden in der vorliegenden Arbeit aufgrund der geringen zur Verfügung stehenden Probenmengen und der vergleichsweise geringen zusätzlich zu erwartenden Informationen nicht aufgezeichnet. Eine Charakterisierung von anderen Fulvinsäuren und Fulvinsäuremodellen mit der NMR-Spektroskopie wurde von W. Herdering durchgeführt [83].

**Metallgehalte.** Die Bestimmung der Gesamtmetallgehalte der Huminstoffproben erfolgte mit der Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse (TRFA). Die Huminstofflösungen wurden in der Konzentration  $1\text{ mg DOC/mL}$  angesetzt und vor der Metallgehaltsbestimmung filtriert ( $0,45\text{ }\mu\text{m}$ , Polyvinylidendifluorid). Einzige Ausnahme ist die über Tangentialfluss-Ultrafiltration angereicherte Oder-Probe OR02RM, deren DOC  $0,32\text{ mg/mL}$  betrug. Tabelle 14 gibt eine Übersicht über die in den Proben bestimmten Metallionengesamtgehalte.

Die Metallionengehalte der drei synthetischen Huminstoffe FS-001, FS-023 und FS-018 ähneln sich stark, sie sind gering. Dies ist auf die wenigen, bei der Synthese eingesetzten Chemikalien, ihre Reinheit, die Art der Anreicherung der Fulvinsäuren über eine XAD-8 Säule und die anschließende Protonierung über Kationenaustauscher zurückzuführen.

Tabelle 14: Gesamtgehalte an Ni, Cu, Zn, Cs, Cd und Pb in den Huminstofflösungen

<i>Metallgehalte (gesamt) in den Huminstoffproben</i>							
<i>HS-Probe</i>	<i>DOC</i>	<i>Metalle [µg/L]</i>					
	<i>[mg/mL]</i>						
	<b>DOC</b>	<b>Ni</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>	<b>Cd</b>	<b>Cs</b>	<b>Pb</b>
<b><i>HOFA13</i></b>	<b>1</b> Angesetzt	< NG (2,7)	45,8 ± 0,79	82,3 ± 1,0	< NG (7,4)	< NG (9,6)	< NG (4,2)
<b><i>OR02RM</i></b>	<b>0,32</b> Aufkonz.	106 ± 1,8	227 ± 2,4	259 ± 2,6	< NG (7,4)	< NG (9,6)	< NG (4,2)
<b><i>FS-001</i></b>	<b>1</b> Angesetzt	2,7 ± 0,37	9,8 ± 0,48	36,4 ± 0,79	< NG (7,4)	< NG (9,6)	4,3 ± 0,81
<b><i>FS-023</i></b>	<b>1</b> Angesetzt	< NG (2,7)	4,4 ± 0,41	21,0 ± 0,66	< NG (7,4)	< NG (9,6)	< NG (4,2)
<b><i>FS-018</i></b>	<b>1</b> Angesetzt	8,3 ± 0,55	14,6 ± 0,57	40,8 ± 0,79	< NG (7,4)	< NG (9,6)	4,6 ± 0,84

Bulkanalyse mit der TRFA: Vertrauensintervall der t-Verteilung (n = 4; P = 95 %); Nachweisgrenzen nach DIN 32645 für die TRFA [207] [208] [209]

In der natürlichen Huminstoffprobe HOFA13 lagen, bezogen auf 1 mg/mL DOC, ebenfalls geringe Konzentrationen an Nickel, Cadmium, Cäsium und Blei vor. Für Kupfer wurde mit 45,8 µg/L allerdings im Vergleich zum mittleren Wert der Huminstoffmodelle ein etwa 4-fach erhöhter Wert gemessen; auch die Konzentration an Zink lag mit 82 µg/L mehr als doppelt so hoch wie in den Huminstoffmodellen. Die dennoch vorhandene grobe Ähnlichkeit der Werte ist vermutlich auf die analoge Art der Anreicherung über XAD-8 Säulen zurückzuführen, die Tendenz zu höheren Metallionenkonzentrationen in der natürlichen Huminstoffprobe HOFA13 könnte durch Reste an originär komplexierten Metallionen bedingt sein.

Auffallend sind dagegen die Nickel-, Kupfer- und Zinkionengehalte in der natürlichen Huminstoffprobe OR02RM. Sie liegen mit 106 µg/L, 227 µg/L bzw. 259 µg/L deutlich höher

als in den anderen Proben, insbesondere unter Berücksichtigung der Tatsache, dass diese Probe eine DOC-Konzentration von nur 0,32 mg/mL aufwies. Dies ist eindeutig auf die Anreicherung der „natürlichen organischen Substanzen“ über die Tangentialfluss-Ultrafiltration zurückzuführen, bei der die originär durch die Huminstoffmoleküle komplexierten Metallionen offensichtlich in größerem Maße enthalten blieben.

### 3.2.2 Charakterisierung der Huminstoffproben mit der CE-UV-ICP-MS

Nach der Basis-Charakterisierung der Huminstoffproben durch Bulkanalysen erfolgte eine eingehende erweiterte Charakterisierung durch Fraktionierung mit der Kapillarelektrophorese und UV- sowie ICP-MS-Detektion. Für die Speziation der in den Proben enthaltenen Metallionen wurde die in Kapitel 3.1 beschriebene optimierte Methode CE-UV-ICP-MS zur Huminstoff-Charakterisierung eingesetzt.

Bei den undotierten Huminstoffproben stand insbesondere die Beantwortung der folgenden Fragen im Vordergrund:

- Was charakterisiert die Original-Huminstoffprobe?
- Welche Aussagen ermöglicht dabei das UV-Signal?
- Welche Aussagen ermöglichen die ICP-MS-Signale?
- Was ergibt der Vergleich der mit der CE-UV-ICP-MS erhaltenen Elektropherogramme mit der Basis-Charakterisierung (Elementaranalyse, UV-VIS- und IR-Spektroskopie, Metallgehalte der jeweiligen Gesamtprobe)?

Die Huminstoffproben wurden in der Konzentration 1 mg/mL DOC angesetzt und wurden nicht mit Metallionen dotiert. Die über Tangentialfluss-Ultrafiltration angereicherte Huminstoffprobe der Oder, OR02RM, lag in der Konzentration 0,32 mg/mL DOC vor.

Aufgezeichnet wurden die Signale der Elemente Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium, Cäsium und Blei. Diese Metalle wurden, wie bereits im Kapitel der Methodenentwicklung erwähnt, aufgrund ihrer Umweltrelevanz und ihres chemisch teilweise sehr unterschiedlichen Verhaltens ausgewählt. Die elementspezifische Detektion erfolgte über die Massen  $^{60}\text{Ni}$ ,  $^{63}\text{Cu}$ ,  $^{66}\text{Zn}$ ,  $^{114}\text{Cd}$ ,  $^{133}\text{Cs}$  und  $^{208}\text{Pb}$ .  $^{75}\text{As}$  diente der Kontrolle der Migrationszeiten getrennter Arsenspezies und des EOF,  $^{133}\text{Cs}$  der Qualitätskontrolle.

### 3.2.2.1 HOFA13

Der natürliche Moorwasser-Huminstoff HOFA13 enthält neben etwa 50 % Kohlenstoff 44,3 % Sauerstoff, 0,6 % Stickstoff und 0,5 % Schwefel. Diese Gehalte, sowie die starke Carbonsäurefunktionen anzeigende IR-Bande um  $1720\text{ cm}^{-1}$ , ließen gute Metallionen-komplexierende Eigenschaften vermuten.

Für die nicht mit Metallionen dotierte Probe wurden die in Abbildung 89 dargestellten Elektropherogramme erhalten. Das UV-Signal zeigt das Fraktionierungsverhalten des Huminstoffes; die Form ist schlicht, es gibt nur ein Maximum bei etwa 16 Minuten. Die Breite des Signals zeigt eine relativ breite Verteilung von Molekülen mit unterschiedlichen Masse- zu Ladungs- Verhältnissen. Das Fehlen weiterer Maxima oder Schultern deutet darauf hin, dass die Probe keine besonderen, diskreten Fraktionen enthält.

Die Metallsignale von Nickel, Cadmium und Cäsium sind, den geringen in der Bulkanalyse gefundenen Konzentrationen entsprechend, unauffällig. Nickel, Cadmium, Cäsium und Blei wurden in der Bulkanalyse mit der TRFA nicht detektiert. Dennoch ermöglichte das hohe Nachweisvermögen der ICP-MS auch die Detektion der geringen Konzentration an Blei in der Probe. Im Elektropherogramm zeigt sich für Blei ein deutliches Signal zur selben Zeit, zu der die Hauptfraktionen des Huminstoffs erscheinen. Die Bleiionen liegen offensichtlich komplexiert vor. Dasselbe gilt für Nickel, allerdings in deutlich abgeschwächter Form. Für Cadmium und Cäsium wurden in der fraktionierten Huminstoffprobe auch mit der ICP-MS keine Signale erhalten.

Die in der Gesamtprobe enthaltenen, mit der TRFA bestimmten Konzentrationen an Kupfer und Zink betragen  $45,8\text{ }\mu\text{g/L}$  bzw.  $82,3\text{ }\mu\text{g/L}$  und lagen damit vergleichsweise hoch.

Dies spiegelt sich in den Elektropherogrammen der fraktionierten Huminstoffprobe in Abbildung 89 wider. Für Kupfer sowie für Zink wurden deutliche Signale erhalten, zu Migrationszeiten, bei denen das UV-Signal die Hauptfraktionen der fraktionierten Huminstoffprobe anzeigt. Dies lässt darauf schließen, dass die Kupfer- und Zinkionen in der Probe durch den Huminstoff weitgehend komplexiert vorlagen.



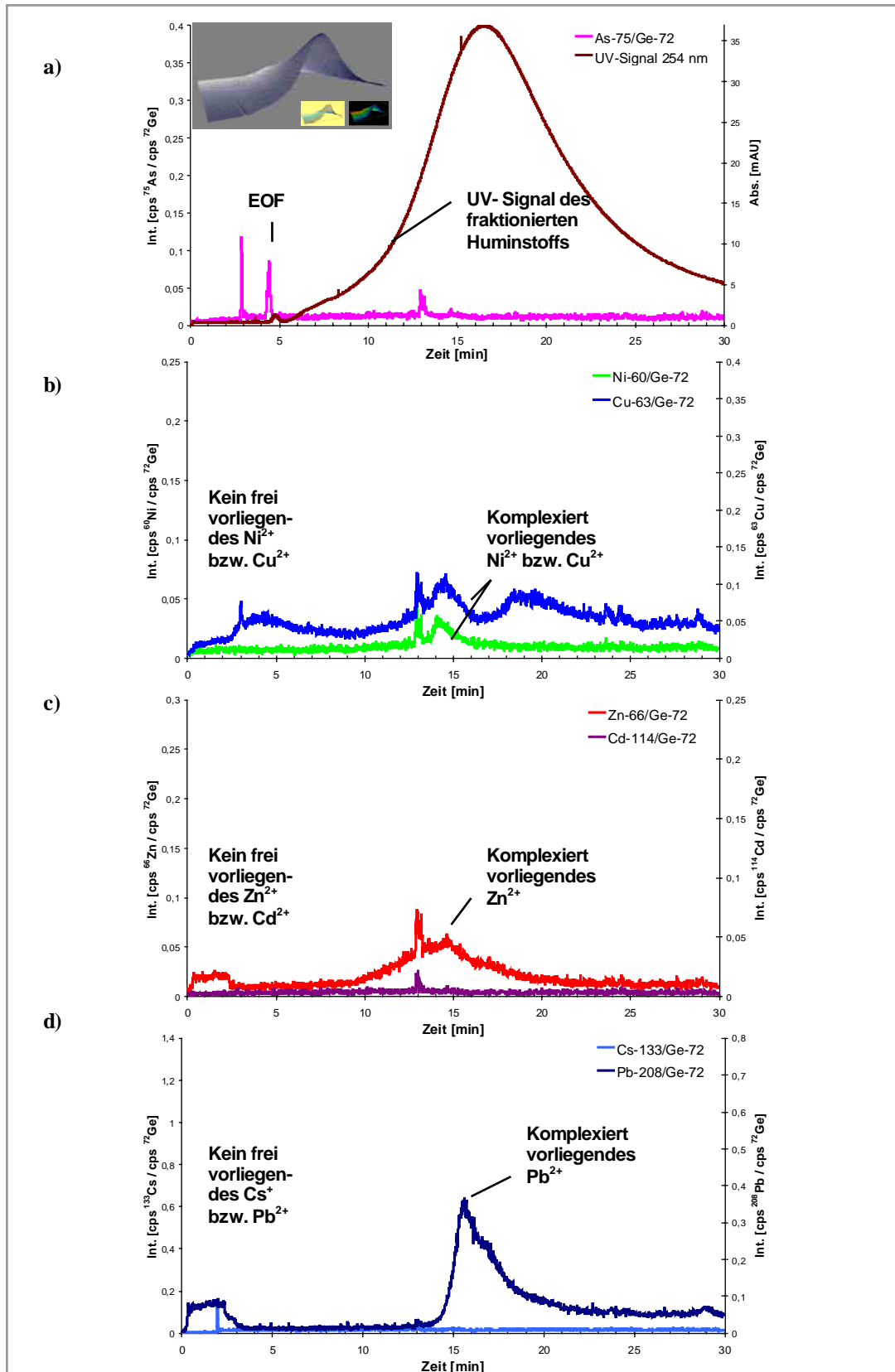


Abbildung 89: Elektropherogramme der Huminstoffprobe HOFA13

### 3.2.2.2 OR02RM

Die Flusswasser-Huminstoffprobe OR02RM lag nach der Anreicherung mit der Tangentialfluss-Ultrafiltration in einer DOC-Konzentration von 0,32 mg/mL vor. Diese Lösung wurde direkt mit der CE-UV-ICP-MS untersucht. Für diese Probe wurden die in Abbildung 90 gezeigten Elektropherogramme erhalten. Sie unterscheiden sich deutlich von denen der Probe HOFA13.

Auffallend ist das UV-Signal. Es steigt deutlich steiler an als das der Probe HOFA13, erreicht früher sein Maximum (bei knapp 11 Minuten.) und zeigt ab etwa 15 Minuten ein deutliches Tailing. Der Großteil der Huminstoffmoleküle erscheint relativ früh am Detektor, wandert also etwas weniger stark gegen den EOF als im Falle von HOFA13. Dies ist vermutlich durch ein höheres Masse- zu Ladungs-Verhältnis bedingt.

Die Anreicherung über Tangentialfluss-Ultrafiltration mit einer Membrane der Ausschlussgrenze 1 kDa könnte in der Tat zu Molekülen geführt haben, die einen großen Molekulargößenbereich bis hin zu 0,45  $\mu\text{m}$  (Vorfiltration) abdecken. Die andere mögliche Erklärung des Migrationsverhaltens von OR02RM von vergleichsweise geringer negativer Ladung der Huminstoffmoleküle könnte mit einer weiteren auffälligen Tatsache zusammenhängen: In der Gesamtprobe liegen mit 106  $\mu\text{g/L}$ , 227  $\mu\text{g/L}$  bzw. 259  $\mu\text{g/L}$  ausgesprochen hohe, mit der TRFA bestimmte Konzentrationen an Nickel, Kupfer und Zink vor, insbesondere wenn man bedenkt, dass diese Probe lediglich 0,32 mg/mL DOC enthielt. Lagen diese Metallkationen huminstoffkomplexiert vor (freie Kationen sollten die 1 kDa Membrane der Theorie nach passiert haben), waren vermutlich viele Ladungsträger des Huminstoffs wie Carboxylatgruppen durch die Komplexbildung ladungsneutralisiert.

Tatsächlich spiegeln die erhaltenen Elektropherogramme (Abbildung 90) die mit der TRFA in der Gesamtprobe bestimmten hohen Nickel-, Kupfer- und Zinkgehalte wider, es wurden klare Signale erhalten. Besonders deutlich ist das Kupferionen anzeigende Signal, das zu Migrationszeiten erscheint, zu denen das UV-Signal die Hauptfraktionen des Huminstoffs aufzeichnet. Da vor dem EOF kein Kupferpeak erscheint, kann davon ausgegangen werden, dass die in der Probe enthaltenen Kupferionen vollständig komplexiert vorliegen. Das Nickelsignal hat einen etwas anderen Verlauf. Neben einer größeren Signalfäche, die komplexiert vorliegende Nickelionen anzeigt, tritt auch das Signal frei vorliegender Nickelionen auf. Offensichtlich lagen die Nickelionen teilweise frei, aber zu einem großen Teil auch komplexiert vor.

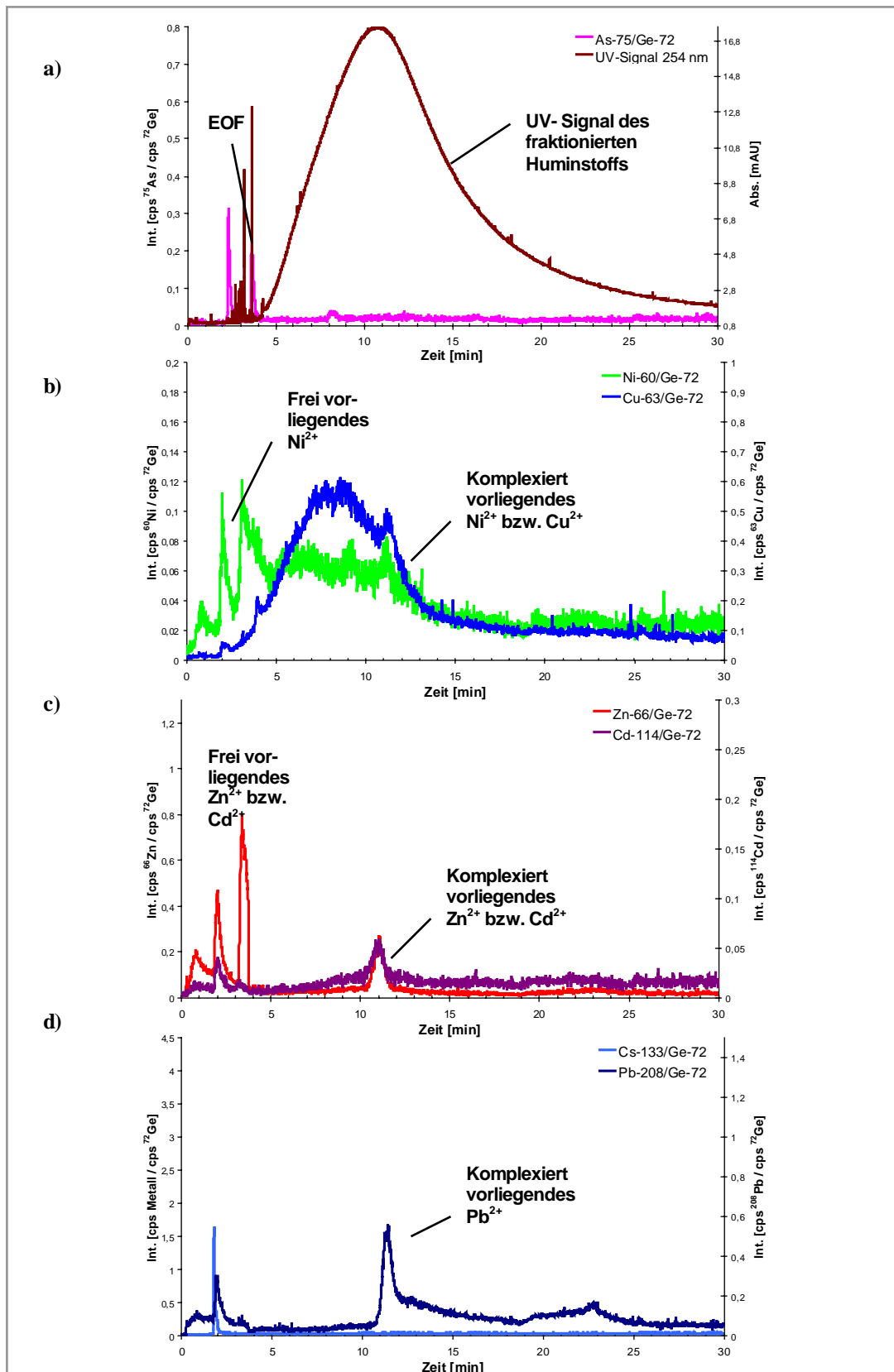


Abbildung 90: Elektropherogramme der Huminstoffprobe OR02RM

Die Verläufe von Zink, Cadmium und Blei zeigen sowohl Signale zu Migrationszeiten, die mit freien als auch mit komplexierten Metallionen korrespondieren. Die Komplexierungskapazität der Huminstoffprobe OR02RM scheint also bezüglich dieser Ionen annähernd erschöpft zu sein. Auffallend ist bei diesen drei Signalen, dass Zink-, Cadmium- und Bleiionen offensichtlich in relativ diskreten Fraktionen des Huminstoffs vorliegen und dort wahrscheinlich komplexiert werden. Dieses Verhalten hat sich auch später bei einer zusätzlichen Dotierung der Probe mit Metallionen bestätigt.

Ganz anders zeigt sich die Situation der Probe OR02RM, nachdem sie gefriergetrocknet, anschließend in einer DOC-Konzentration von 1 mg/mL angesetzt und direkt danach mit der CE-UV-ICP-MS vermessen wurde (Abbildung 91).

Besonders auffallend sind die deutlich kürzeren mittleren Migrationszeiten, vor allem eine deutlich vom Rest des Huminstoffbergs getrennte Fraktion um 5 Minuten. Ihr Signal beginnt direkt hinter dem EOF und weist damit auf ein hohes Masse- zu Ladungs-Verhältnis hin. Dieser Fraktion entsprechen scharfe Nickel- und Kupfer-Peaks, die Ionen beider Elemente scheinen in dieser Fraktion des Huminstoffs komplexiert vorzuliegen. Einige Tage nach Ansetzen der Lösung wurden wiederum Elektropherogramme erhalten, die denen der ursprünglichen Flüssigprobe glichen. Die Gefriertrocknung scheint also strukturelle Veränderungen in der Probe hervorgerufen zu haben, die nach einiger Äquilibrierzeit der Lösung reversibel waren. Dieses Verhalten wurde bei den anderen untersuchten Proben nicht beobachtet.

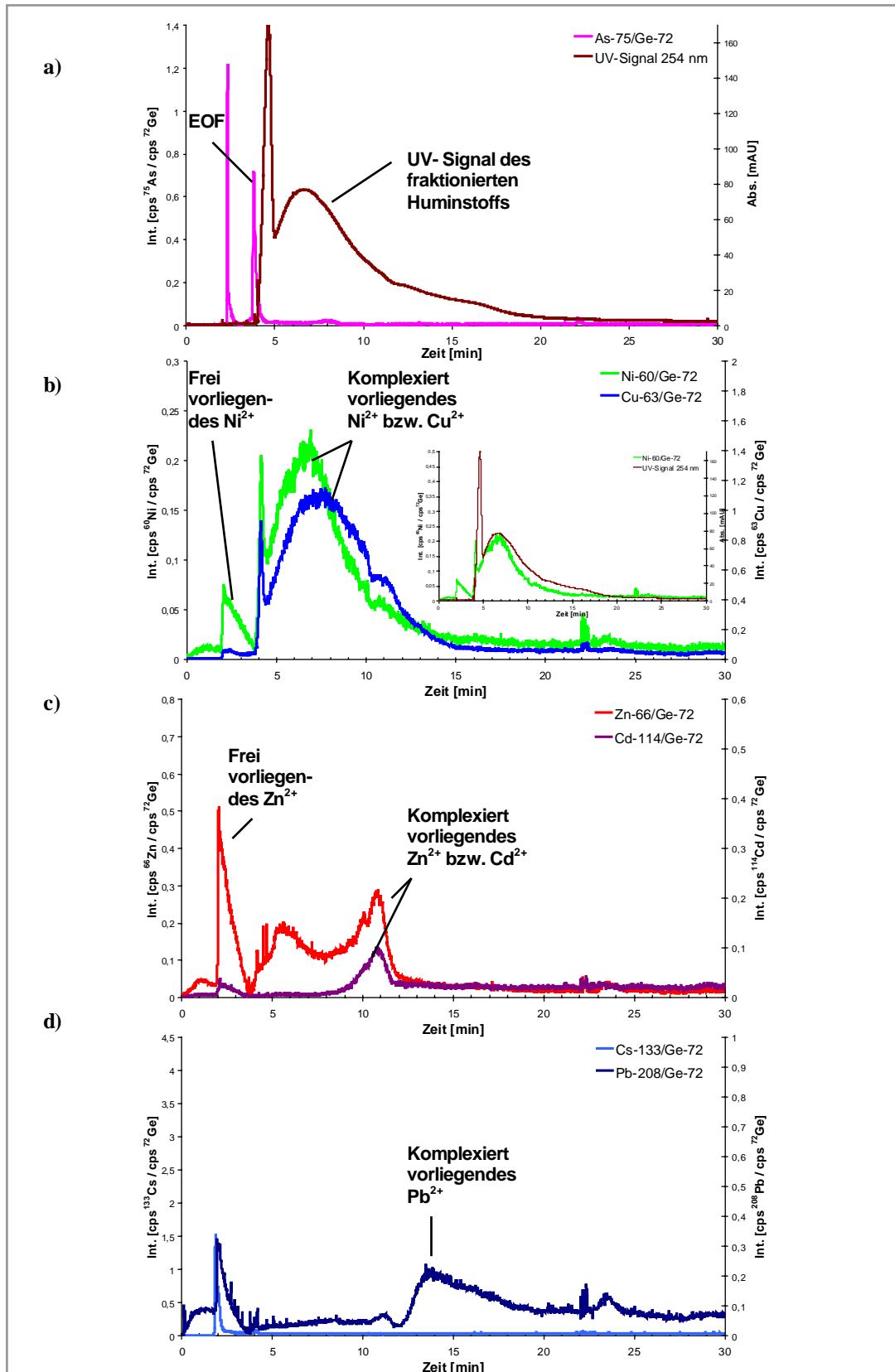


Abbildung 91: Elektropherogramme der Huminstoffprobe OR02RM nach Gefriertrocknung und Vermessen der frisch angesetzten Lösung von 1 mg/mL DOC

### 3.2.2.3 FS-001

Die elementare Zusammensetzung des synthetischen Huminstoffs FS-001 ist mit 47,4 % Kohlenstoff, 3,2 % Wasserstoff und 47,9 % Sauerstoff dem natürlichen Huminstoff HOFA13 recht ähnlich. FS-001 enthält jedoch keinen Stickstoff oder Schwefel. Dennoch weist der hohe Sauerstoffgehalt auf viele Donorstellen hin und lässt Metallionen-komplexierende Eigenschaften vermuten.

Das UV-Signal der CE-fraktionierten Huminstoffprobe FS-001 beginnt, wie Abbildung 92 zeigt, erst deutlich hinter dem EOF. Es steigt steil an, weist eine große mittlere Breite auf und fällt langsam ab. Die Huminstoff-Probenbestandteile migrieren aufgrund einer relativ hohen negativen Ladung und/oder relativ geringen Molekülgröße schnell gegen den EOF und erreichen daher verhältnismäßig spät den Detektor. Dies könnte auf eine deutliche Deprotonierung der zahlreichen Carboxylgruppen und den geringen Gehalt an (komplexierten) Metallionen (s.u.) zurückzuführen sein. Auffallend sind die zwei Maxima, die offensichtlich zwei Hauptfraktionen im synthetisierten Fulvinsäuremodell anzeigen.

Die in der gelösten Huminstoffprobe (1 mg/mL) mit der TRFA bestimmten Konzentrationen an Metallionen sind gering, Cadmium und Cäsium wurden nicht detektiert, die Konzentrationen an Nickel und Kupfer betragen 2,7 µg/L bzw. 9,8 µg/L. Allein Zink und Blei fallen mit 36,4 µg/L bzw. 4,3 µg/L auf. Die in Abbildung 92 dargestellten Elektropherogramme bestätigen diese geringen Werte. Für Nickel, Kupfer, Cadmium und Cäsium wurden annähernd Basislinien, also keine Signale freier oder huminstoffkomplexierter Metallionen erhalten. Die Elektropherogramme von Zink und Blei hingegen zeigen deutliche Signale zu Migrationszeiten, die denen des UV-Signals der fraktionierten Huminstoffprobe entsprechen. Dies deutet darauf hin, dass die in der Probe enthaltenen Zink- und Bleiionen hauptsächlich huminstoffkomplexiert vorliegen.

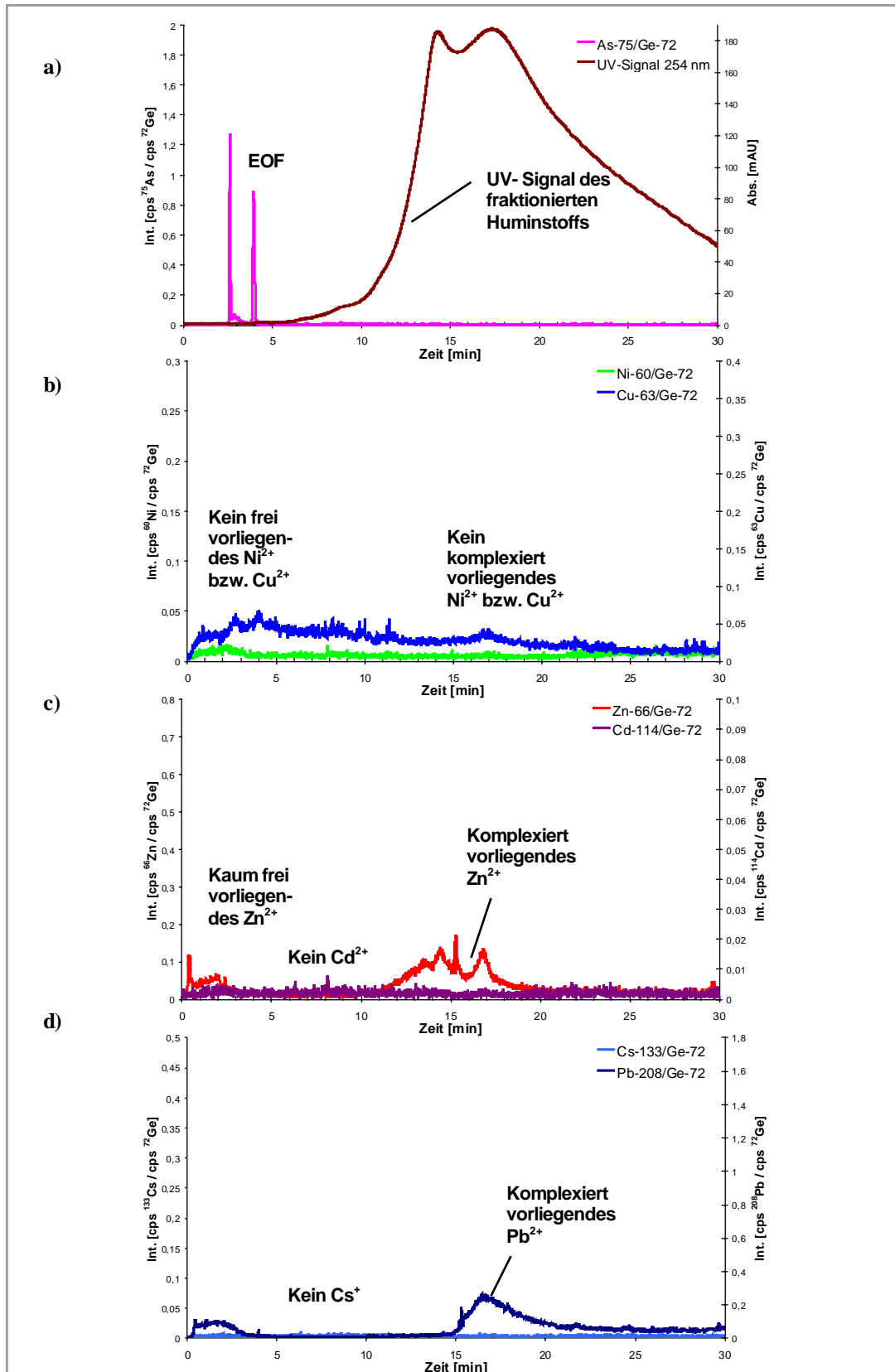


Abbildung 92: Elektropherogramme der Huminstoffprobe FS-001

### 3.2.2.4 FS-023

Der synthetische Huminstoff FS-023 enthält neben 51,8 % Kohlenstoff, 3,6 % Wasserstoff und 40,5 % Sauerstoff mit 4,2 % auch einen hohen Gehalt an Stickstoff. Der gezielt eingebaute Stickstoff führte bei den ebenfalls hohen Werten an Kohlenstoff und Wasserstoff zu einem vergleichsweise niedrigen Wert an Sauerstoff, was sich in der im Vergleich zur Probe FS-001 weniger ausgeprägten, auf C=O-Streckschwingungen von Carboxylgruppen zurückzuführenden IR-Bande um  $1720\text{ cm}^{-1}$  widerspiegelt. Dennoch wurden aufgrund des eingebauten Stickstoffs interessante komplexierende Eigenschaften erwartet.

Die CE-Fraktionierung führte zu den in Abbildung 93 gezeigten Elektropherogrammen. Das UV-Signal unterscheidet sich deutlich von dem der Probe FS-001. Das Signal ist schmaler und liegt mit einer mittleren Migrationszeit von etwa 11 Minuten deutlich weiter vorn. Es steigt fast unmittelbar nach dem EOF deutlich an und fällt hinter dem Maximum, anders als bei FS-001, ebenso steil wieder ab. Die Fraktionierung ist nach gut 20 Minuten bereits weitgehend abgeschlossen. FS-023 zeigt nur ein Maximum, es fallen jedoch zwei Schultern bei etwa 4,5 Minuten und bei etwa 6 Minuten auf. Die kurzen Migrationszeiten, die für ein hohes Masse- zu Ladungs-Verhältnis sprechen, sind vermutlich auf relativ hohe mittlere Molekulargewichte zurückzuführen, da der Gehalt der Probe an evtl. komplexierten und damit ladungsneutralisierenden Metallkationen gering ist.

Die mit der TRFA gemessenen niedrigen Konzentrationen an Metallkationen in der Gesamtlösung (4,4  $\mu\text{g/L}$  Kupfer und 21,0  $\mu\text{g/L}$  Zink; Nickel, Cadmium, Cäsium und Blei wurden nicht detektiert) führten bei der Fraktionierung der Probe mit der CE-UV-ICP-MS zu Elektropherogrammen, die sich bei Nickel, Kupfer und Cäsium kaum von einer Basislinie unterschieden (Abbildung 93). Für die Ionen dieser Metalle kann daher keine Zuordnung zu frei vorliegenden bzw. huminstoffkomplexierten Ionen vorgenommen werden. Die Elektropherogramme von Zink und Blei - und sogar das Elektropherogramm von Cadmium - zeigen dagegen eine erhöhte Signalintensität zu Migrationszeiten, die beim UV-Signal fraktionierte Huminstoff-Hauptfraktionen anzeigen. Diese Signalverläufe deuten darauf hin, dass die in der Probe enthaltenen Zink-, Cadmium- und Bleiionen huminstoffkomplexiert vorliegen. Im Zink-Elektropherogramm ist bei gut zwei Minuten zusätzlich ein kleiner Peak zu erkennen, der aufgrund der Migrationszeit einen kleinen Anteil frei vorliegender Zinkionen anzeigt.



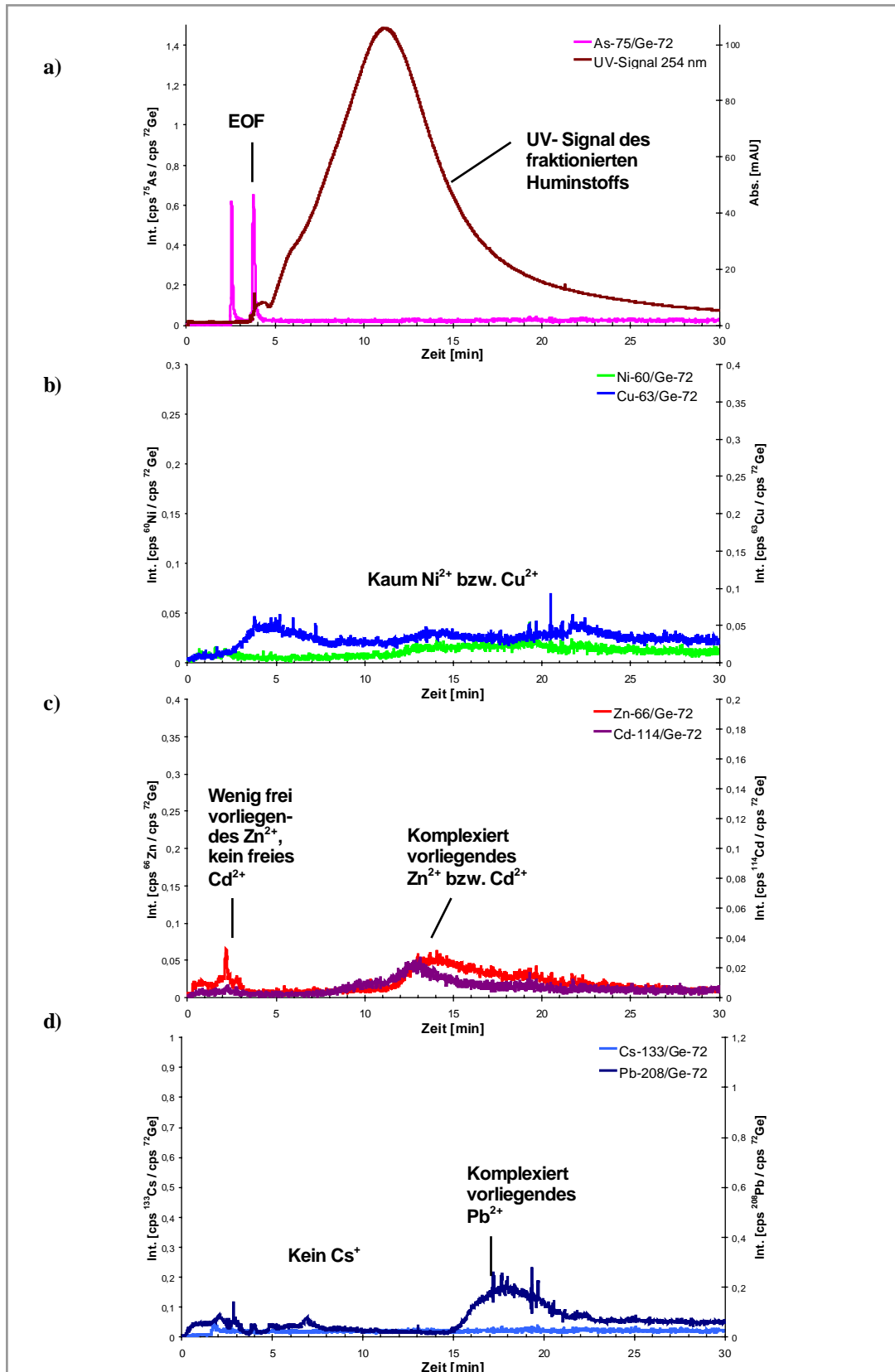


Abbildung 93: Elektropherogramme der Huminstoffprobe FS-023

### 3.2.2.5 FS-018

Die synthetische Fulvinsäure FS-018 enthält neben 3,0 % Stickstoff auch 11,7 % Schwefel. Die Gehalte an Kohlenstoff, Wasserstoff und Sauerstoff liegen daher mit 41,1 %, 3,1 % und 39,8 % erwartungsgemäß niedriger als bei der heteroatomfreien synthetischen Fulvinsäure FS-001.

Eine interessante Eigenart der Probe FS-018 zeigen die Elektropherogramme in Abbildung 94. Das UV-Signal der fraktionierten Huminstoffprobe ist breit und erreicht sein Maximum bei späten Migrationszeiten (20 Minuten). Besonders auffallend aber sind die Fraktionen bei 7 und bei 9 Minuten, die sich deutlich aus dem relativ flachen Anstieg des Huminstoffsignals abheben. Bei diesen Fraktionen scheint es Übereinstimmungen mit den erhaltenen Metallsignalen zu geben. Es handelt sich bei diesen Fraktionen möglicherweise um angereichert vorliegende Aminosäurereste, also Strukturen des bei der Synthese eingesetzten Cystins.

In der nicht-fraktionierten Probe wurden mit der TRFA für Nickel, Kupfer, Zink und Blei die Konzentrationen 8,3 µg/L, 14,6 µg/L, 40,8 µg/L bzw. 4,6 µg/L bestimmt. Diese Gesamtgehalte spiegeln sich in den Elektropherogrammen der fraktionierten Probe wider (Abbildung 94). Die Signale von Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei weisen erhöhte Intensitäten zu Migrationszeiten auf, die denen des UV-Signals entsprechen, das den fraktionierten Huminstoff anzeigt. Offensichtlich liegen die Nickel-, Kupfer-, Zink-, Cadmium- und Bleiionen huminstoffkomplexiert vor. Insbesondere die Signale von Nickel, Kupfer und Blei zeigen zwischen etwa 7 und 8 Minuten eine auffällige Übereinstimmung mit der im UV-Signal beobachteten Fraktion des Huminstoffs: Möglicherweise komplexieren die im UV-Elektropherogramm sichtbaren Fraktionen der Huminstoffprobe Metallkationen in besonderem Maße, was an dem Gehalt der Probe an Stickstoff bzw. Schwefel liegen könnte.

### 3.2.2.6 Zwischenfazit

Die Charakterisierung der undotierten Huminstoffproben über Fraktionierung und Detektion mit der CE-UV-ICP-MS ermöglicht gegenüber der Basis-Charakterisierung einen erheblich erweiterten Informationsgehalt. Über das UV-Fraktionierungsmuster können die Polydispersität der Huminstoffprobe sowie Masse- zu Ladungs-Verhältnisse der Grobfraktionen abgeschätzt und je nach Huminstoff diskrete Fraktionen erkannt werden. Über die ICP-MS-Signale ist eine Speziation der jeweiligen Metallionen im Sinne einer Zuordnung zu freien bzw. in verschiedenen Huminstoff-Grobfraktionen komplexiert vorliegenden Ionen möglich. Die in der Bulkanalyse mit der TRFA bestimmten Metallkonzentrationen werden dabei qualitativ bestätigt, können aber erheblich differenzierter ausgewertet werden.

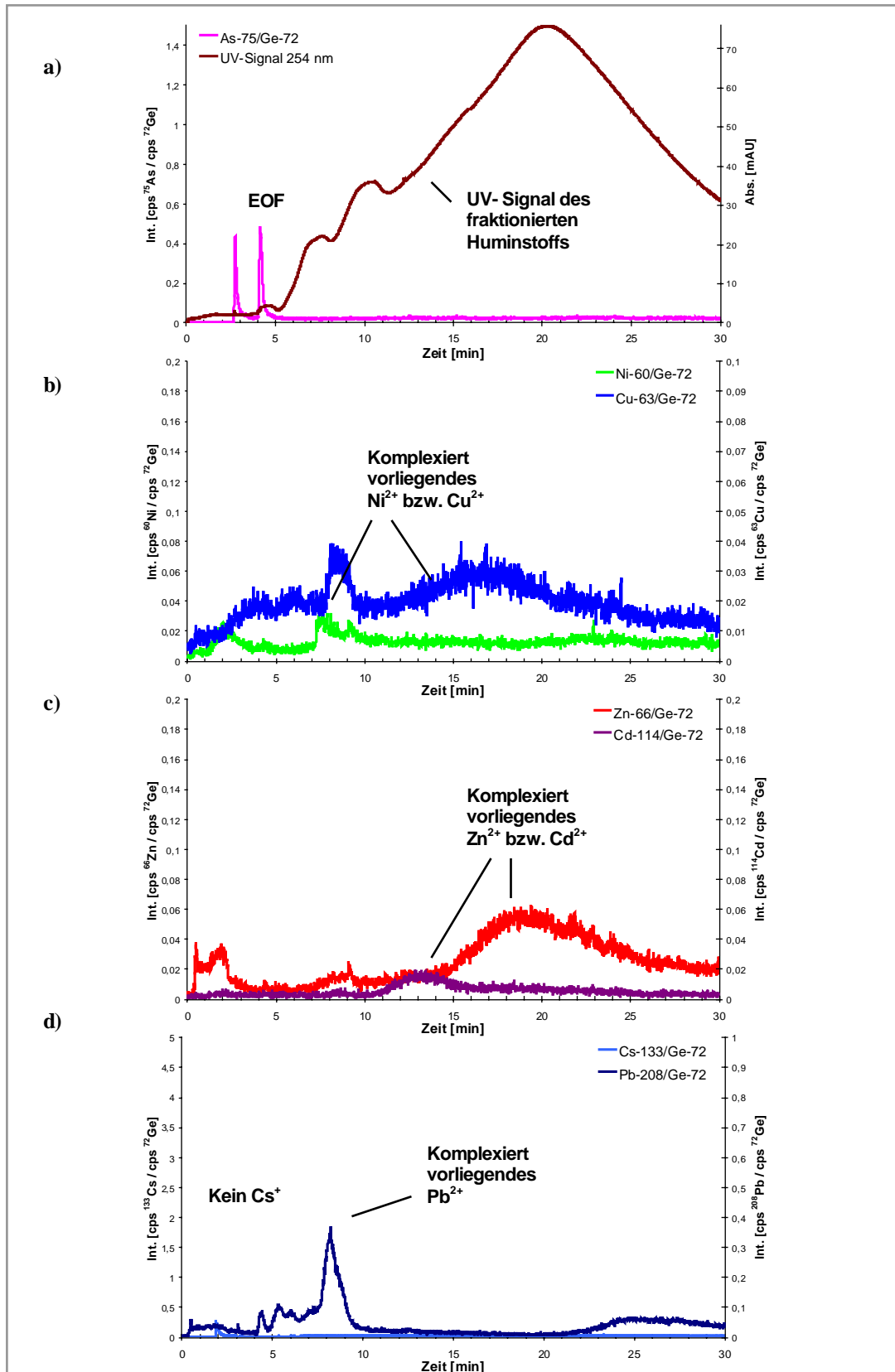


Abbildung 94: Elektropherogramme der Huminstoffprobe FS-018

### 3.2.3 Charakterisierung von Huminstoffen durch Dotierung mit einzelnen Metallionen ( $\text{Cu}^{2+}$ bzw. $\text{Cd}^{2+}$ )

Die metallionenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen haben erhebliche ökologische Relevanz. Metallionen werden in aquatischen Systemen durch Huminstoffe wesentlich in ihrer Mobilität beeinflusst, Huminstoffe übernehmen Transportfunktionen. Die Untersuchung der Komplexierungskapazität von Huminstoffen gegenüber Schwermetallionen ist damit von großer Bedeutung.

Nach der Charakterisierung der ‚originalen‘ Huminstoffproben mit der CE-UV-ICP-MS in Abschnitt 3.3.2 wurden daher die metallionenbindenden Eigenschaften der Huminstoffproben durch Dotierung mit ansteigenden Mengen an Metallionen und ihre Zuordnung zu CE-Fractionen mit Hilfe der CE-UV-ICP-MS studiert.

Die Dotierungsexperimente wurden mit Kupfer- bzw. Cadmiumionen, in einem Falle auch mit Nickelionen, durchgeführt. Bezüglich Kupferionen zeigen Huminstoffe ein starkes Bindungsverhalten. Ein Vergleich mit Ergebnissen, die durch andere Methoden erzielt wurden, ist möglich, da Kupferionen oft als Referenz zur Bestimmung von Komplexierungskapazitäten dienen. Dotierungen mit Cadmiumionen wurden durchgeführt, um die Komplexierungskapazitäten gegenüber dieser als durch Huminstoffe relativ schwer komplexierbar geltenden Ionenspezies zu untersuchen. Die mobilen Cadmiumionen hatten sich in aquatischen Systemen z.B. im Rahmen der Untersuchungen des Internationalen Oderprojekts als ökologisch sehr relevant erwiesen [210]. Aufgrund der Eigenschaften von Cadmiumionen (z.B. der Thiophilie) wurde eine deutliche Abhängigkeit des Ausmaßes einer Komplexierung von der Struktur und dem Heteroatomgehalt des jeweiligen Huminstoffs vermutet. Im Falle der Huminstoffprobe FS-001 erfolgte zusätzlich eine Dotierung mit Nickelionen, für die eine zwischen Kupfer- und Cadmiumionen liegende Stärke der Komplexierung durch den Huminstoff erwartet wurde.

Damit stand die Beantwortung folgender Fragen im Vordergrund der weiteren Untersuchungen:

- Inwieweit verändert sich das UV-Signal mit zunehmender Metallionen-Dotierung, d.h. welchen Einfluss hat die Metallionenzugabe auf das Fraktionierungsverhalten der Huminstoffe? Gibt es generelle Tendenzen? Gibt es Abhängigkeiten vom jeweiligen Metallion, d.h. ist der Einfluss der  $\text{Cu}^{2+}$ -Zugabe auf das Fraktionierungsverhalten ein anderer als der von  $\text{Cd}^{2+}$ -Ionen?
- Welche Veränderungen zeigen sich für Kupfer- bzw. für Cadmiumionen mit zunehmender Dotierung? Bei welchen Konzentrationen beginnen die jeweiligen Metallionen unkomplexiert vorzuliegen? Bei welcher Metallionenkonzentration ist

die Komplexierungskapazität des jeweiligen Huminstoffs gegenüber Kupfer- bzw. Cadmiumionen erschöpft?

Zur Beantwortung dieser Fragen wurden die Huminstoffproben HOFA13, OR02RM, FS-001, FS-023 und FS-018 mit ansteigenden Mengen der jeweiligen gelösten Metallsalze dotiert und jeweils eine Stunde nach der Dotierung mit Hilfe der CE-UV-ICP-MS analysiert. Die Untersuchungen erfolgten derart, dass zunächst die undotierten Huminstoffproben analysiert wurden. Es folgten Untersuchungen von Lösungen mit zunehmend metallionendotierten Huminstoffproben. Zur besseren Vergleichbarkeit sind dabei die Konzentrationen der Metallionen in der Einheit mmol Metallion/g DOC angegeben. Der Bereich der Zudosierung erstreckte sich von 0,0001 bis 3 mmol/g DOC und wurde derart gewählt, dass sowohl bei den niedrigen zugesetzten Mengen die schlecht komplexierbaren Ionen wie  $\text{Cd}^{2+}$ , als auch sehr gut huminstoffkomplexierbare Kationen wie  $\text{Cu}^{2+}$  differenziert in ihren Signalverläufen und Grenzen der Komplexierbarkeit verfolgt werden konnten.

### 3.2.3.1 HOFA13, Dotierung mit $\text{Cu}^{2+}$ - bzw. $\text{Cd}^{2+}$ -Ionen

Die natürliche Huminstoffprobe HOFA13 wurde mit ansteigenden Mengen an Kupfer- bzw. Cadmiumionen dotiert. Die Zugabe der  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen erfolgte in den Konzentrationsschritten 0,0005 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC, 0,005 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC, 0,01 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC, 0,05 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC, 0,1 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC, 0,5 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC und 3 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC. Die erhaltenen Elektropherogramme sind in Abbildung 95 bis Abbildung 102 zusammen mit dem Elektropherogramm der undotierten Probe dargestellt.

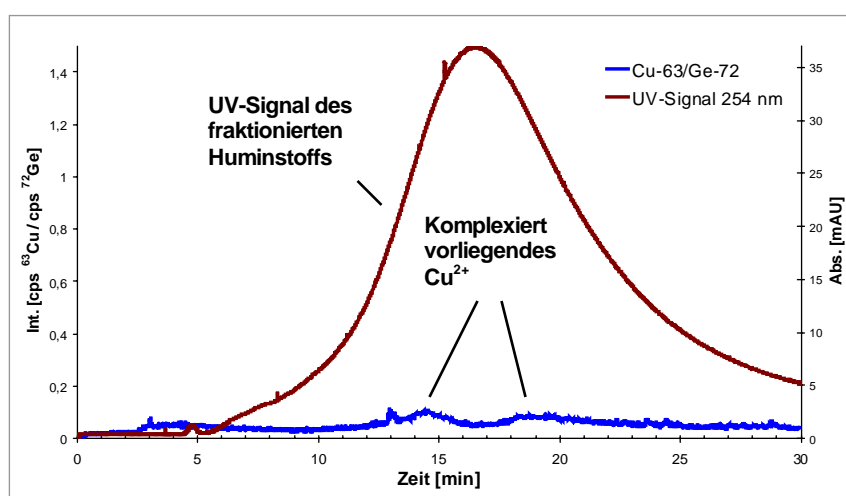


Abbildung 95: Elektropherogramme der undotierten Huminstoffprobe HOFA13

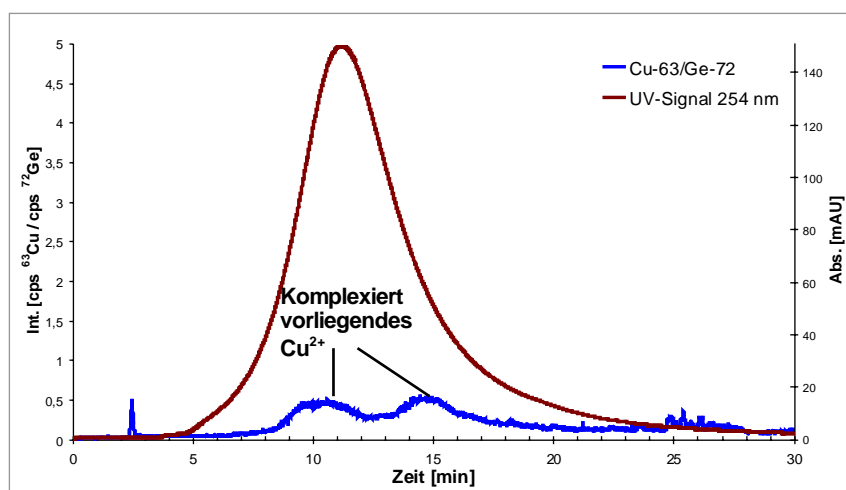


Abbildung 96: Elektropherogramme der auf 0,0005 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe HOFA13

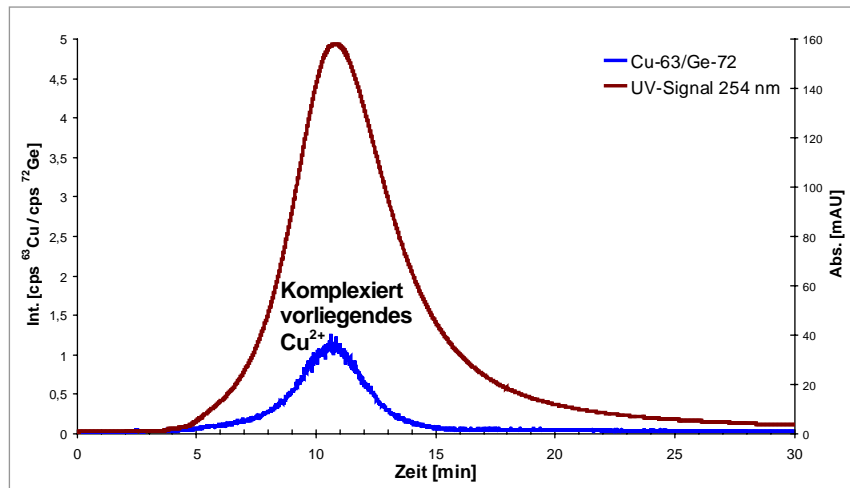


Abbildung 97: Elektropherogramme der auf 0,005 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe HOFA13

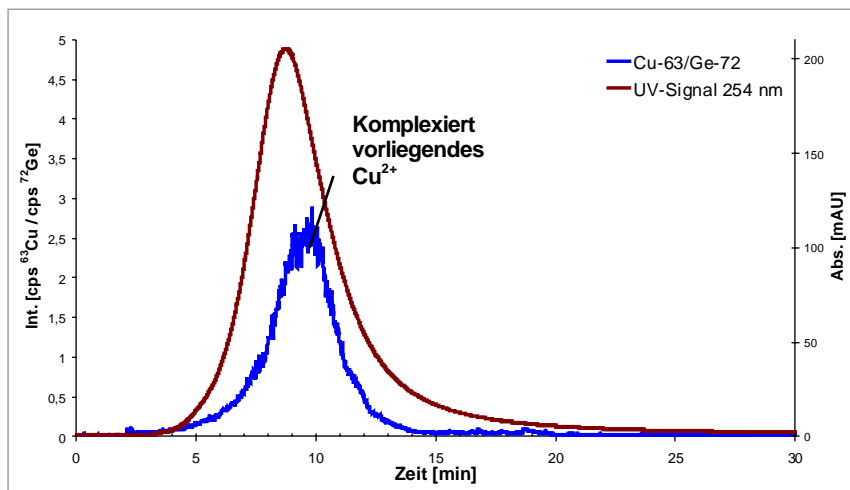


Abbildung 98: Elektropherogramme der auf 0,01 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe HOFA13

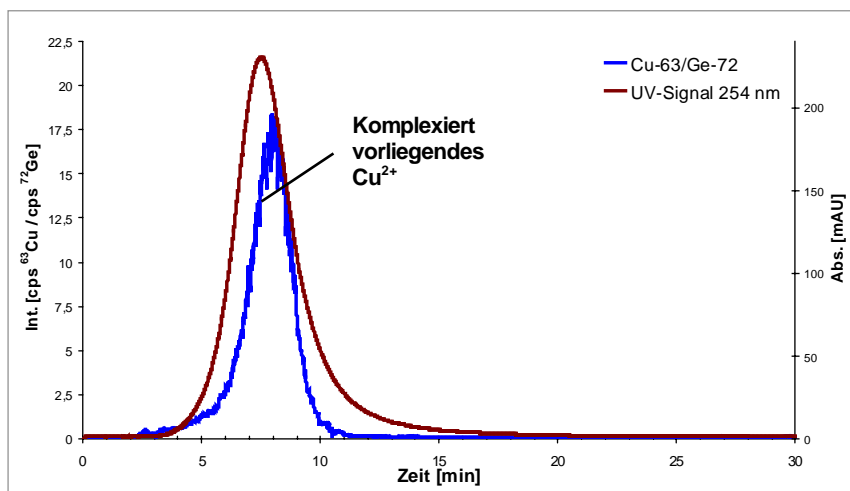


Abbildung 99: Elektropherogramme der auf 0,05 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe HOFA13

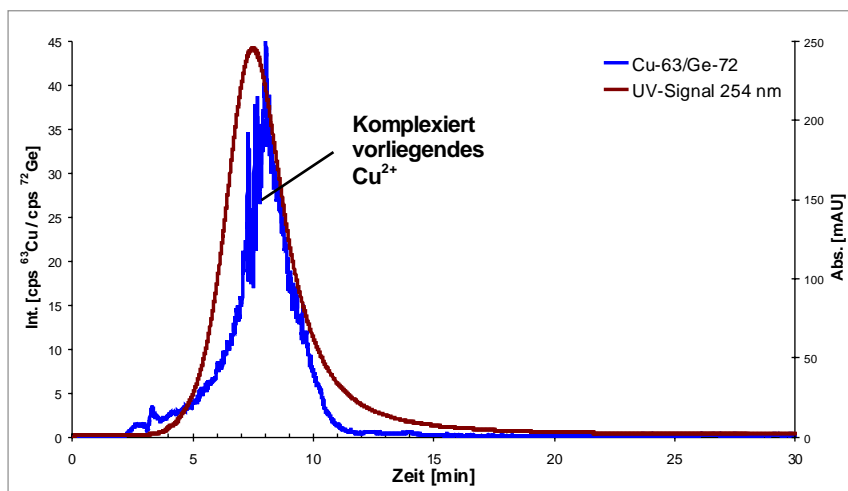


Abbildung 100: Elektropherogramme der auf 0,1 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe HOFA13

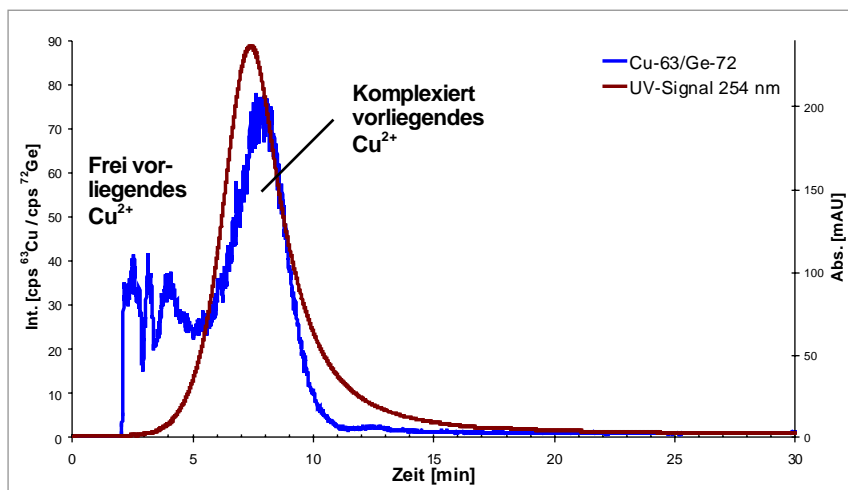


Abbildung 101: Elektropherogramme der auf 0,5 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe HOFA13

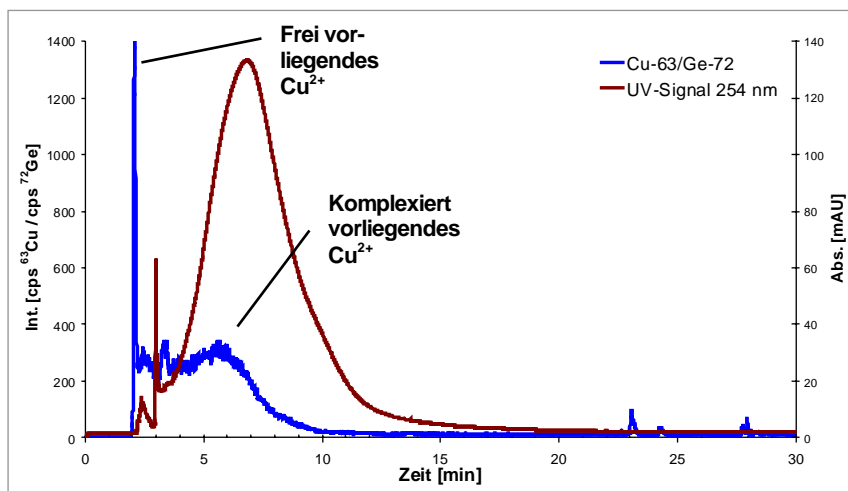


Abbildung 102: Elektropherogramme der auf 3 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe HOFA13



Bereits bei der ersten Dotierungsstufe (0,0005 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC) änderte sich das UV-Signal. Es erfolgte eine Signalverschiebung zu geringeren Migrationszeiten, wobei die mittlere Signalbreite deutlich abnahm. Diese Tendenz der Signalverschiebung zu niedrigeren Migrationszeiten und der Verringerung der Signalbreite setzte sich mit zunehmender Dotierung fort. Eine Konstanz an mittlerer Migrationszeit und Signalbreite setzte ab einer Dotierung auf 0,05 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC ein. Das UV-Signal erreichte sein Maximum in diesem Fall bei knapp 8 Minuten. Bei den Dotierungen auf 0,1 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC, 0,5 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC und 3 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC traten im UV-Signal kaum weitere Veränderungen auf.

Da früh am Detektor erscheinende (negativ geladene) Huminstoff-Fractionen der CE-Theorie nach ein hohes Masse- zu Ladungs-Verhältnis haben, könnte die beobachtete UV-Signalveränderung bei zunehmender Dotierung mit Kupferionen auf Koagulationsprozesse und Neutralisierung negativer Ladungen des Huminstoffs durch Komplexierung der Metallkationen zurückzuführen sein.

Das Kupfersignal der undotierten Probe zeigt bei 14 und 18,5 Minuten zwei leichte Erhebungen, die aufgrund der Migrationszeiten auf komplexiertes Cu<sup>2+</sup> schließen lassen. Nach Dotierung der Probe auf 0,0005 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC wurde ein ähnliches Signal erhalten; die Dotierung führte erwartungsgemäß zu einer deutlichen Erhöhung der Intensität des Kupfersignals, aber auch zu einer Verschiebung des Gesamtsignals zu niedrigeren Migrationszeiten, entsprechend den Beobachtungen bezüglich des UV-Signals. Weitere Dotierungen ließen die beiden Kupferfraktionen zu einer komplexierten Hauptfraktion verschmelzen, wobei die Intensitäten der Kupfersignale etwa proportional mit den vorliegenden Kupferkonzentrationen stiegen.

Die zudotierten Kupferionen führten bis zu einer Konzentration von 0,1 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC zu Signalen, deren Migrationszeiten denen der UV-Signale entsprechen, die den fraktionierten Huminstoff darstellen. Daher liegen die Kupferionen wahrscheinlich vollständig komplexiert vor. Ab einer Konzentration von 0,5 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC wird bei einer Migrationszeit zwischen zwei und drei Minuten das Signal freier Kupferionen sichtbar, wobei der Hauptteil der Kupferionen aber komplexiert verbleibt. Bei Zugabe auf 3 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC liegt ein wesentlicher Teil der Kupferionen frei vor.

Weiterhin wurde die Probe HOFA13 mit Cd<sup>2+</sup>-Ionen dotiert. Die dabei eingestellten Konzentrationen wurden den cadmiumspezifischen Eigenschaften angepasst, also nach unten verschoben; sie betragen 0,0001 mmol/g DOC, 0,0005 mmol/g DOC und 0,005 mmol/g DOC. Die Darstellung der Elektropherogramme erfolgt zusammen mit dem der undotierten Probe in Abbildung 103 bis Abbildung 106.

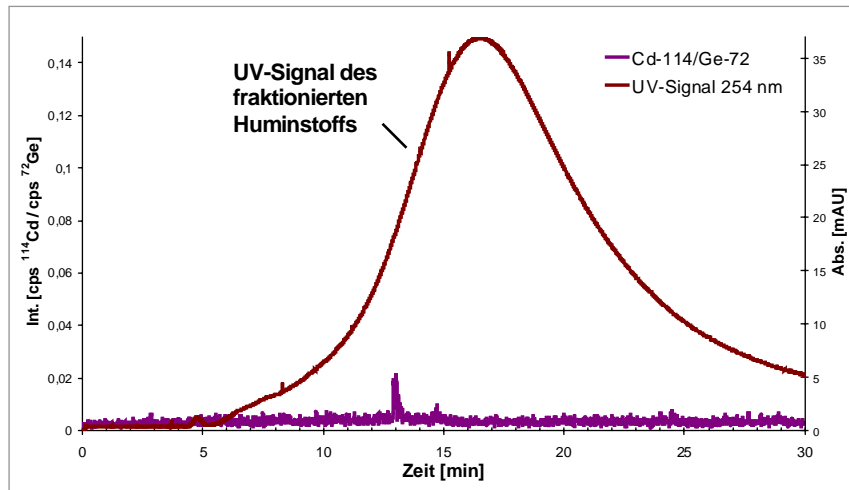


Abbildung 103: Elektropherogramme der undotierten Huminstoffprobe HOFA13

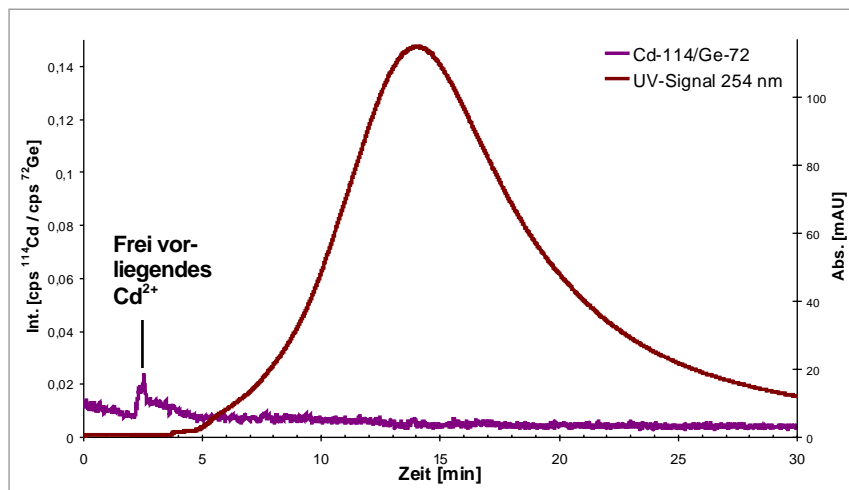


Abbildung 104: Elektropherogramme der auf 0,0001 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe HOFA13

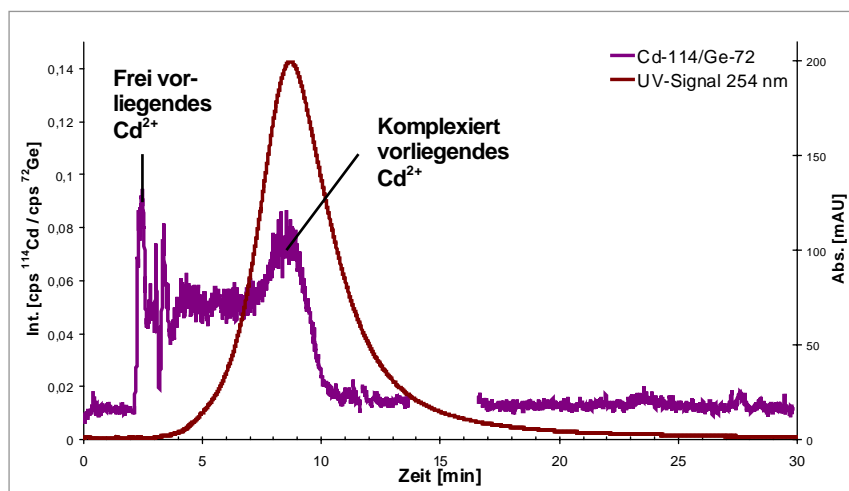
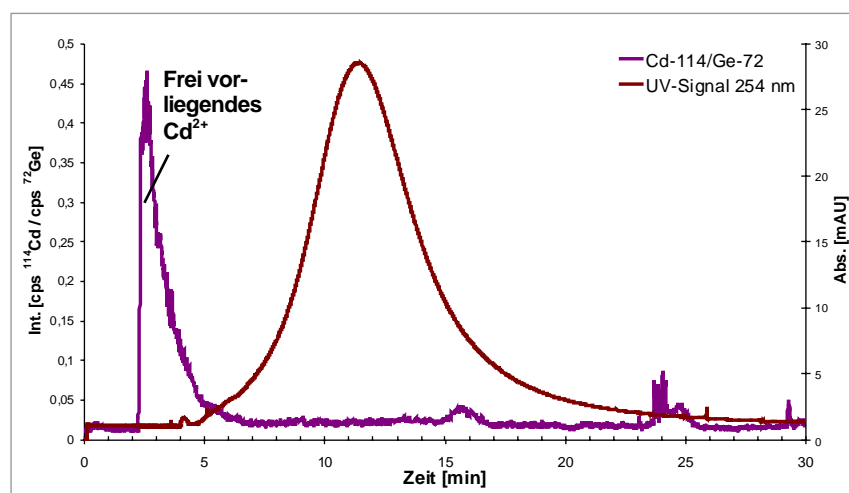


Abbildung 105: Elektropherogramme der auf 0,0005 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe HOFA13



**Abbildung 106: Elektropherogramme der auf 0,005 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe HOFA13**

Bereits bei der ersten Dotierungsstufe (0,0001 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC) änderte sich das UV-Signal, es erscheint im Elektropherogramm bei kürzeren Migrationszeiten, wobei das Minimum bei 0,0005 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC auftrat. Bei dieser Konzentration ist neben dem komplexierte Cadmiumionen anzeigenden Signal bereits ein Signal zwischen zwei und drei Minuten zu sehen, das freien Cadmiumionen zuzuordnen ist.

Die Komplexierungskapazität der Probe HOFA13 war also bezüglich der Cadmiumionen unter den vorliegenden Bedingungen bereits bei einer Konzentration von 0,0005 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC erschöpft. Bei weiteren Dotierungen auf deutlich höhere Cadmiumkonzentrationen wurden fast nur noch die Signale frei vorliegender Cadmiumionen erhalten. Die mittlere Breite und die Migrationszeiten der UV-Signale waren wieder leicht erhöht.

*Fazit:* Die Dotierung der Huminstoffprobe HOFA13 mit Cu<sup>2+</sup>- bzw. Cd<sup>2+</sup>-Ionen führte zu Änderungen im Fraktionierungsverhalten. Unter den vorliegenden Bedingungen konnte die Probe HOFA13 Kupferionen bis zu einer Konzentration zwischen 0,5 und 3 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC komplexieren. Dieser Wert für die Komplexierungskapazität gegenüber Kupferionen liegt damit in demselben Bereich, der in der Literatur mit anderen Methoden für ähnliche oder gleiche Huminstoffproben angegeben wird. So nennt G. Marx in [144] für aquatische Huminstoffe Komplexierungskapazitäten von 1 – 3 mmol Cu<sup>2+</sup> / g DOC, in [132] und [214] sind für aquatische Huminstoffe durch Polarographie bestimmte Komplexierungskapazitäten im Bereich von 1 bis 2,5 mmol Cu<sup>2+</sup> / g DOC angegeben. Bezüglich Cadmium komplexierte HOFA13 etwa 0,0005 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC.

### 3.2.3.2 OR02RM, Dotierung mit $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen

Zur Charakterisierung der kupferbindenden Eigenschaften des natürlichen Huminstoffs OR02RM wurde die Probe OR02RM mit  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen auf die vergleichsweise hohen Konzentrationen 0,01 mmol/g DOC, 0,1 mmol/g DOC und 0,5 mmol/g DOC dotiert. Bei niedrigeren Dotierungen wurden wegen der hohen Grundbeladung der Probe an Kupferionen von 0,011 mmol/g DOC keine Veränderungen im Vergleich zur undotierten Probe festgestellt. Aufgrund der äußerst schwachen Komplexierung von Cadmiumionen durch OR02RM, die sich auch bei der gemeinsamen Dotierung mit den Ionen von sechs Metallen (vgl. Abschnitt 3.2.4) zeigte, und wegen des knappen Probenmaterials wurde eine Dotierung allein mit  $\text{Cd}^{2+}$ -Ionen nicht durchgeführt. Abbildung 107 bis Abbildung 110 zeigen die erhaltenen Elektropherogramme der  $\text{Cu}^{2+}$ -Dotierung.

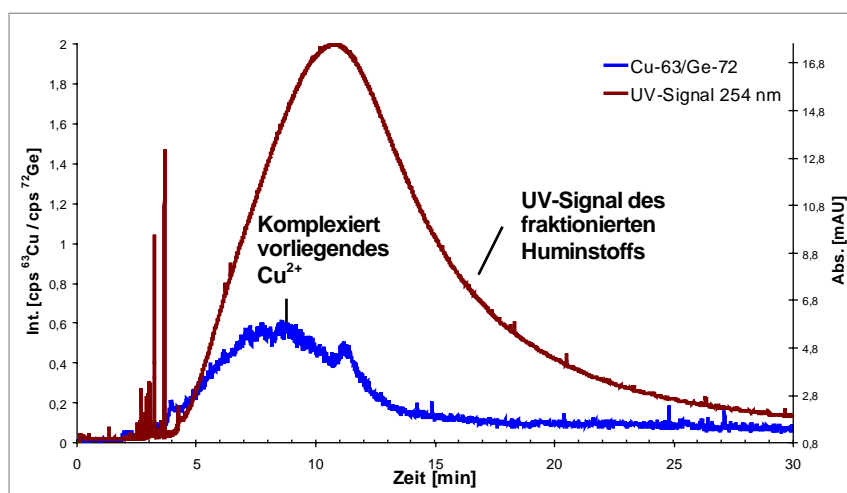


Abbildung 107: Elektropherogramme der undotierten Huminstoffprobe OR02RM

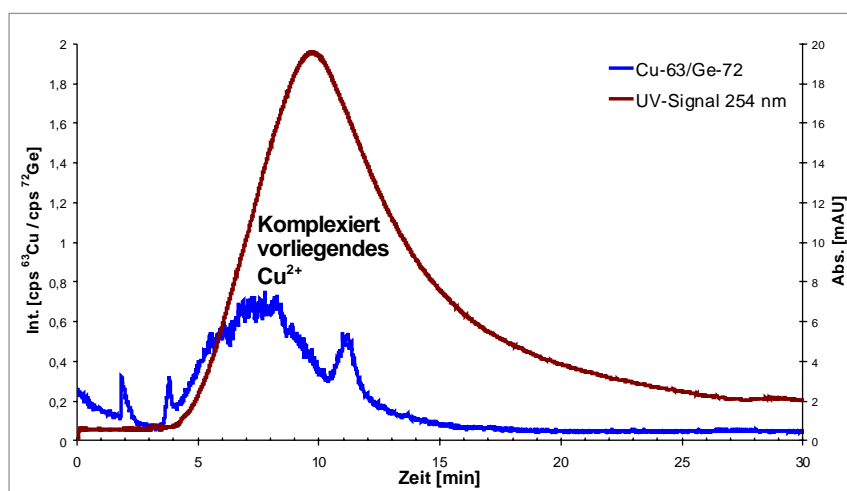


Abbildung 108: Elektropherogramme der auf 0,01 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe OR02RM

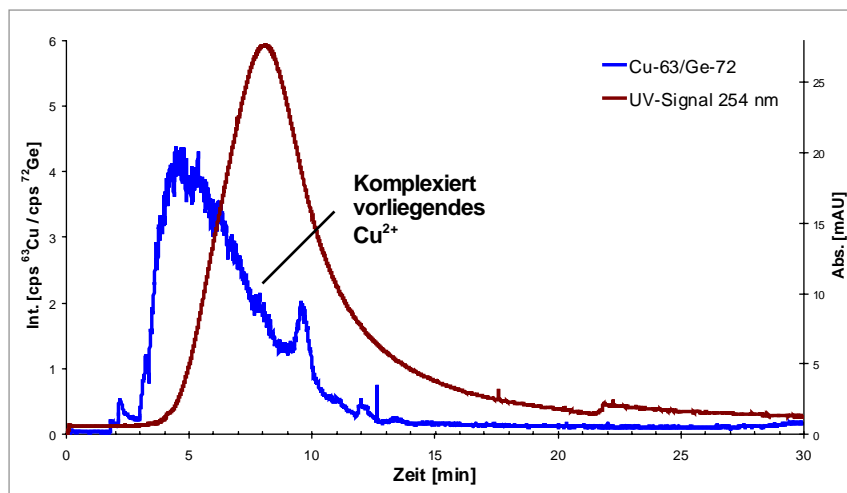


Abbildung 109: Elektropherogramme der auf 0,1 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe OR02RM

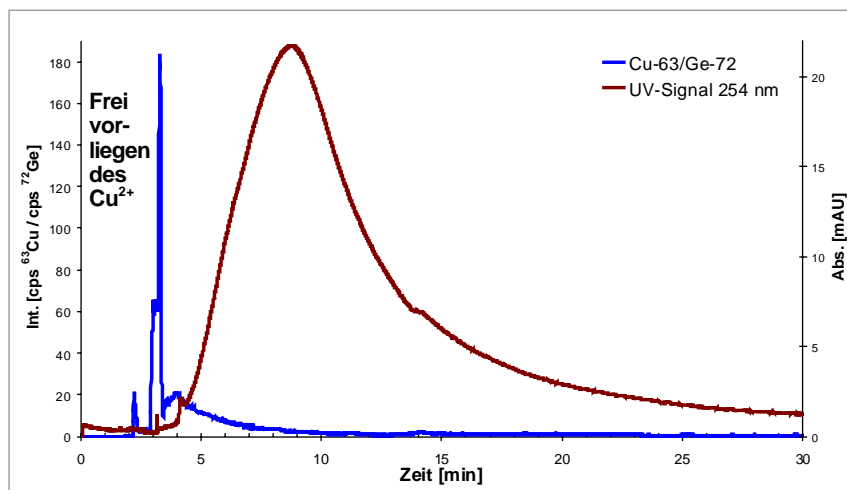


Abbildung 110: Elektropherogramme der auf 0,5 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe OR02RM

Erst bei einer Dotierung auf 0,01 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC verändern sich die Elektropherogramme. Das UV-Signal verschiebt sich leicht zu geringeren Migrationszeiten und die Intensität des Kupfersignals steigt etwas an gegenüber der ohnehin bereits hohen Intensität bei der undotierten Probe. Auffallend ist, dass es offensichtlich Fraktionen der Huminstoffprobe OR02RM gibt, die Metallionen bevorzugt komplexieren. Bei der undotierten Probe liegt dieser zusätzliche Peak komplexierter  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen bei 11 Minuten, ebenso wie bei der Dotierung auf 0,01 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC. Auch nach Dotierung auf 0,1 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC ist dieses gesonderte Signal um 10 Minuten noch vorhanden.

Die Dotierung auf 0,1 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC führte zu einer weiteren Reduzierung der Migrationszeit und mittleren Breite des UV-Signals. Das Kupfersignal beginnt aber bereits in

kleinen Teilen zu Migrationszeiten, an denen freie  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen migrieren, erstreckt sich allerdings noch vor allem über Migrationszeiten komplexiert vorliegender Kupferionen. Bei 0,1 mmol  $\text{Cu}^{2+}/\text{g}$  DOC ist offensichtlich die Komplexierungskapazität der Probe OR02RM bezüglich Kupferionen erreicht, denn bei weiterer Dotierung auf 0,5 mmol  $\text{Cu}^{2+}/\text{g}$  DOC lagen die Signale bevorzugt bei Migrationszeiten freier  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen. Die mit etwa 0,1 mmol  $\text{Cu}^{2+}/\text{g}$  DOC relativ geringe Komplexierungskapazität der Probe OR02RM im Vergleich zur Probe HOFA13 dürfte hauptsächlich auf die bereits vor der Kupferionenzugabe gebundenen verschiedenen Metallionen zurückzuführen sein.

*Fazit:* Auch bei der Dotierung des Huminstoffs OR02RM mit  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen ergaben sich Änderungen im Fraktionierungsverhalten. Unter den vorliegenden Bedingungen konnte die Probe zusätzlich zu den bereits gebundenen 0,011 mmol  $\text{Cu}^{2+}/\text{g}$  DOC noch etwa 0,1 mmol  $\text{Cu}^{2+}/\text{g}$  DOC komplexieren.

### 3.2.3.3 FS-001, Dotierung mit $\text{Cu}^{2+}$ -, $\text{Cd}^{2+}$ - bzw. $\text{Ni}^{2+}$ -Ionen

Die heteroatomfreie synthetische Huminstoffprobe FS-001 wurde mit  $\text{Cu}^{2+}$  bzw.  $\text{Cd}^{2+}$ -Ionen ansteigend bis zu verschiedenen Konzentrationen dotiert. Aufgrund der interessanten Eigenschaften dieser Probe wurden zusätzlich Dotierungen mit  $\text{Ni}^{2+}$ -Ionen durchgeführt, für die eine zwischen den Kupfer- und Cadmiumionen liegende Stärke der Komplexierung erwartet wurde. In Abbildung 111 bis Abbildung 114 sind die Elektropherogramme der undotierten Probe, sowie der  $\text{Cu}^{2+}$ -Dotierungen auf 0,0005 mmol  $\text{Cu}^{2+}/\text{g}$  DOC, 0,1 mmol  $\text{Cu}^{2+}/\text{g}$  DOC und 0,5 mmol  $\text{Cu}^{2+}/\text{g}$  DOC dargestellt.

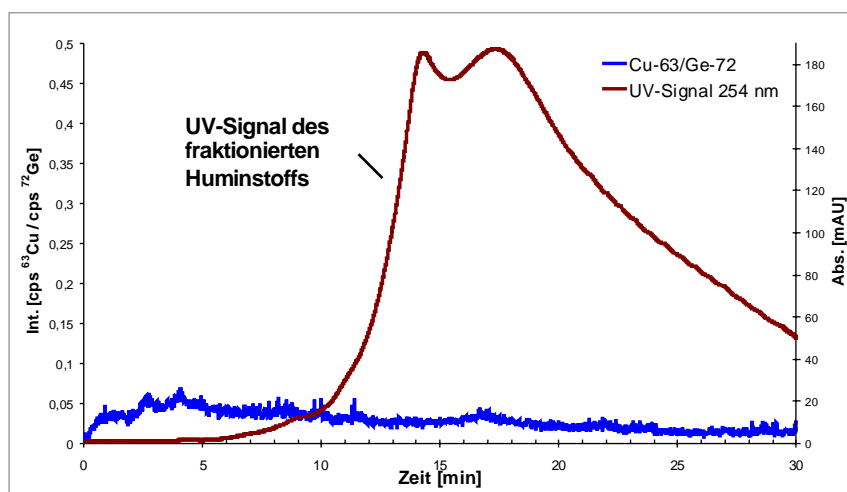


Abbildung 111: Elektropherogramme der undotierten Huminstoffprobe FS-001

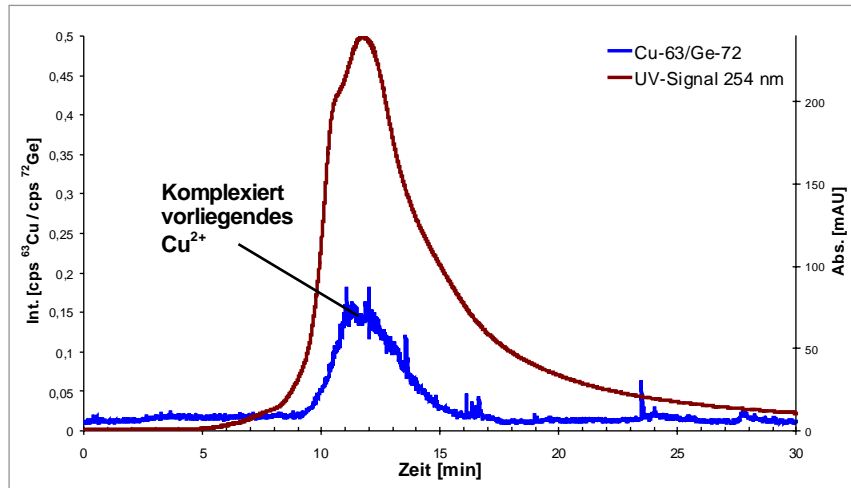


Abbildung 112: Elektropherogramme der auf 0,0005 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-001

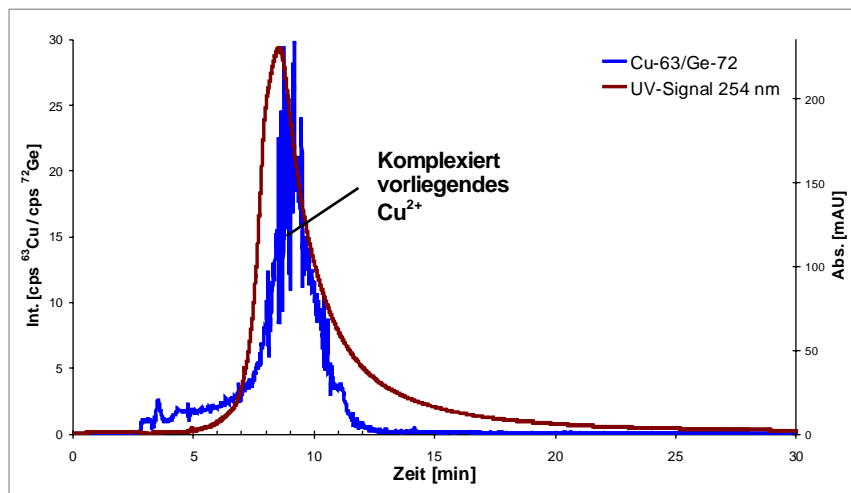


Abbildung 113: Elektropherogramme der auf 0,1 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-001

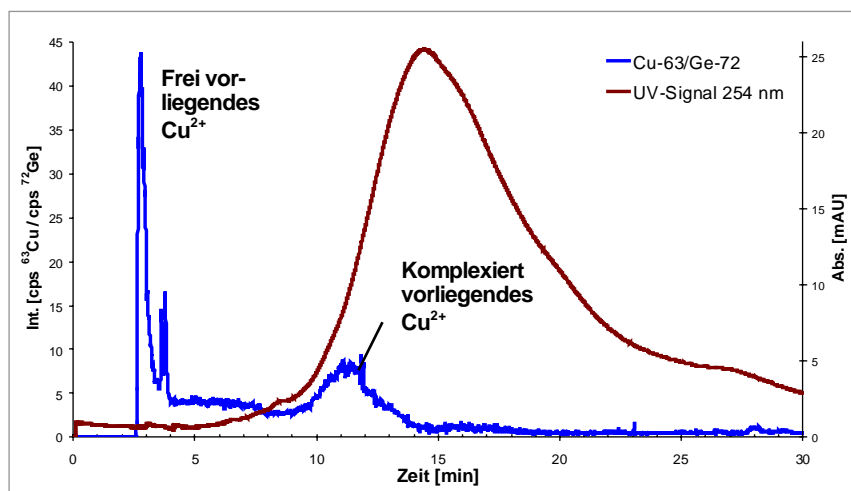


Abbildung 114: Elektropherogramme der auf 0,5 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-001

Bereits nach der geringen Dotierung der Probe FS-001 auf 0,0005 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC gibt es gegenüber der undotierten Probe deutliche Veränderungen in den Elektropherogrammen. Es erfolgte eine Stauchung des UV-Signals, das sein mittleres Maximum bei geringeren Migrationszeiten erreicht. Die beiden Signalmaxima im Elektropherogramm der undotierten Probe sind bereits bei dieser Dotierung erheblich weniger deutlich ausgeprägt. Das Kupfersignal zeigt ausschließlich komplexierte Cu<sup>2+</sup>-Ionen an. Der Unterschied gegenüber dem Signal der fast kupferfreien undotierten Probe FS-001 ist evident. Mit diesem Verhalten unterscheidet sich die Probe erheblich von der Probe OR02RM, bei der aufgrund der hohen Grundbeladung mit Kupferionen Unterschiede im Kupfersignal bei geringen Dotierungen kaum auszumachen waren.

Bei weiteren Dotierungen gab es bis zur Konzentration von 0,1 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC nur geringfügige Änderungen. Eine weitere Erhöhung der Dotierung auf 0,5 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC führte zu einer Überladung des Huminstoffs. Es trat das Signal freier Kupferionen bei einer Migrationszeit von etwa drei Minuten auf.

Bis zur Konzentration 0,1 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC waren die Cu<sup>2+</sup>-Ionen praktisch vollständig durch Fulvinsäuremoleküle komplexiert.

Die Probe FS-001 wurde weiterhin mit Cd<sup>2+</sup>-Ionen auf verschiedene, steigende Konzentrationen dotiert. In Abbildung 115 bis Abbildung 119 sind die Elektropherogramme der undotierten Probe, sowie der Konzentrationsschritte 0,001 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC, 0,01 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC, 0,05 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC und 0,5 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC dargestellt.

Die Dotierungen mit verschiedenen Mengen an Cadmiumionen führten zu deutlich geringeren Veränderungen im Fraktionierungsverhalten als die mit Kupferionen. Bis zu einer Cadmiumionenkonzentration von 0,05 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC lagen deutliche Anteile der Cd<sup>2+</sup>-Ionen komplexiert vor, wie die großen Signalflächen zwischen 11 und 16 Minuten unter den UV-Signalen des Huminstoffs zeigen. Allerdings begann schon bei Zugabe von 0,0005 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC das Signal freier Cadmiumionen aufzutreten, das auch bei den höheren Konzentrationen präsent blieb und an Einfluss gegenüber dem Signal der komplexierten Ionen zunahm. Die Angabe eines Wertes für die Komplexierungskapazität gegenüber Cadmiumionen ist damit nur unscharf möglich. Ab einer Konzentration von 0,05 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC blieb die komplexierte Cadmiumionen anzeigende Signalfläche konstant. Bei weiterer Dotierung nahm lediglich die Signalfläche frei vorliegender Cadmiumionen zu.

In grober Annäherung kann das Verhältnis der Signalflächen von frei/komplexiert vorliegenden Cd<sup>2+</sup>-Ionen zur Abschätzung von Komplexierungskapazitäten herangezogen werden.



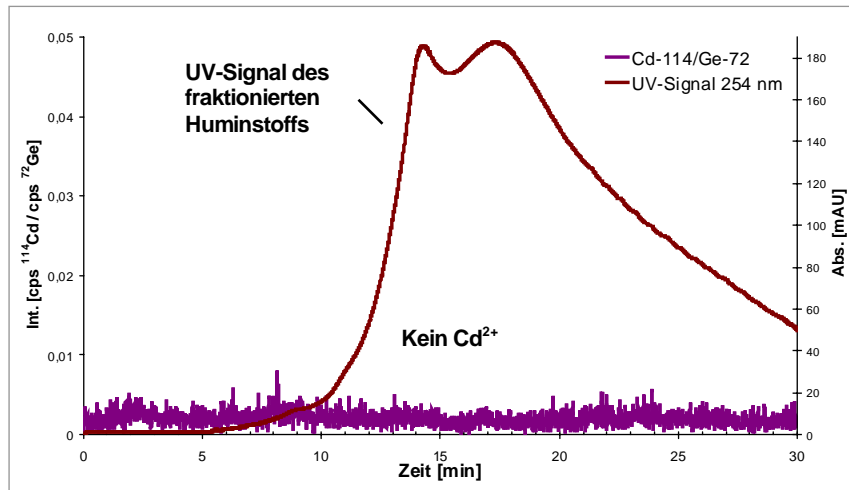


Abbildung 115: Elektropherogramme der undotierten Huminstoffprobe FS-001

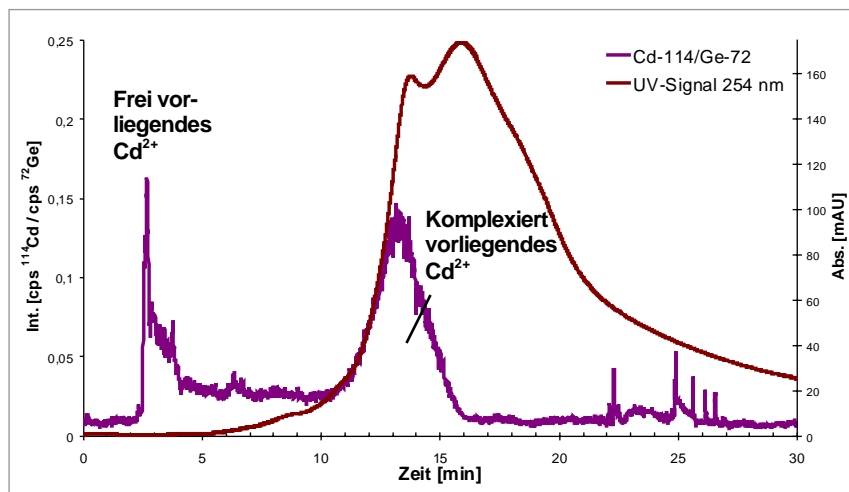


Abbildung 116: Elektropherogramme der auf 0,001 mmol  $\text{Cd}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-001

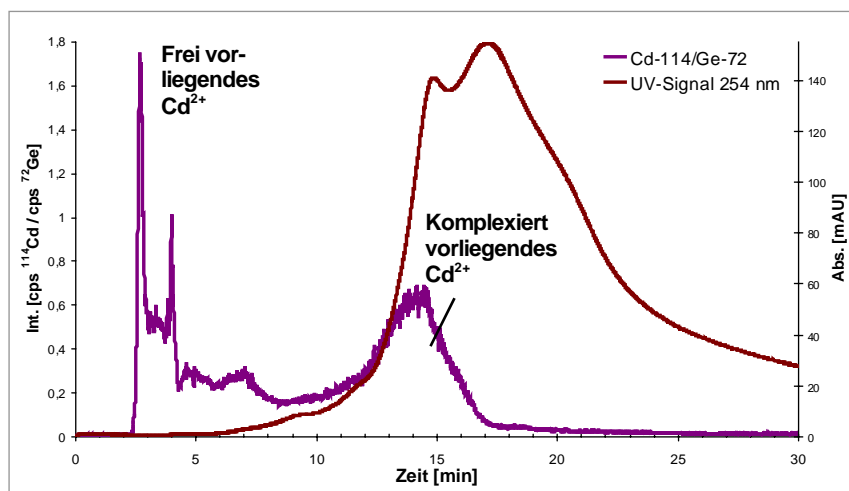


Abbildung 117: Elektropherogramme der auf 0,01 mmol  $\text{Cd}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-001

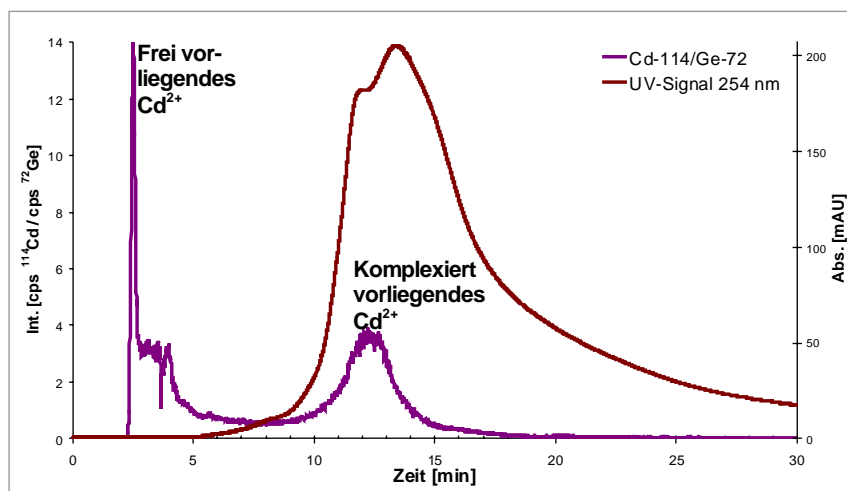


Abbildung 118: Elektropherogramme der auf 0,05 mmol  $\text{Cd}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-001

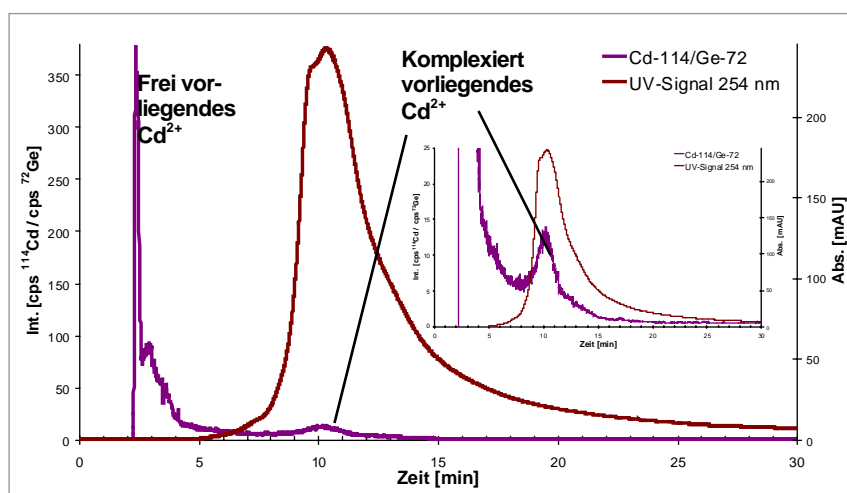


Abbildung 119: Elektropherogramme der auf 0,5 mmol  $\text{Cd}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-001

Zusätzlich wurde die Probe FS-001 aufgrund des auch bei der gemeinsamen Dotierung (Abschnitt 3.2.4) festgestellten interessanten Komplexierungsverhaltens mit  $\text{Ni}^{2+}$ -Ionen versetzt, um abzuklären, ob die Komplexierungsstärke von FS-001 gegenüber Nickelionen zwischen derjenigen gegenüber Kupfer- bzw. Cadmiumionen liegt. In Abbildung 120 bis Abbildung 123 sind die Elektropherogramme der undotierten Probe FS-001 und der Probe nach Dotierung mit 0,005, 0,05 und 0,5 mmol  $\text{Ni}^{2+}$ /g DOC dargestellt.

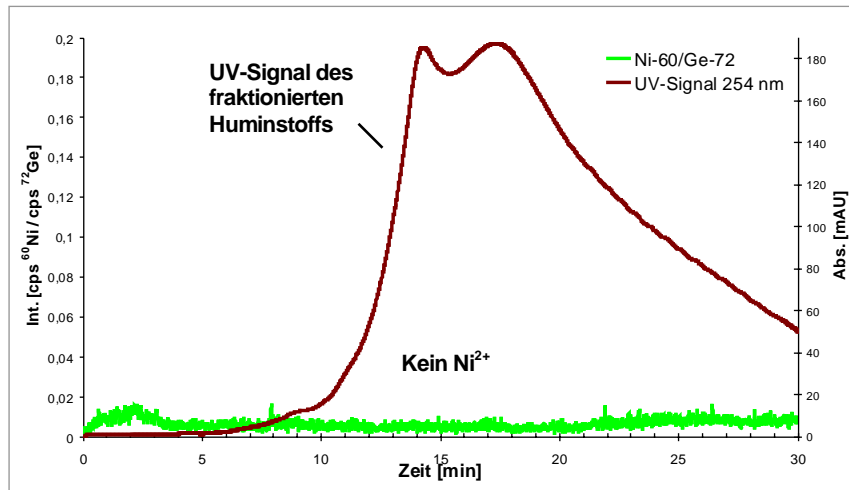


Abbildung 120: Elektropherogramme der undotierten Huminstoffprobe FS-001

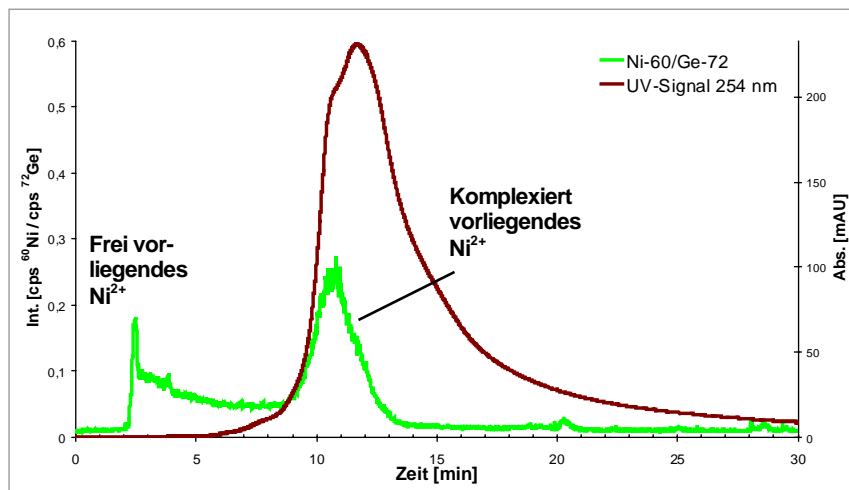


Abbildung 121: Elektropherogramme der auf 0,005 mmol Ni<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-001

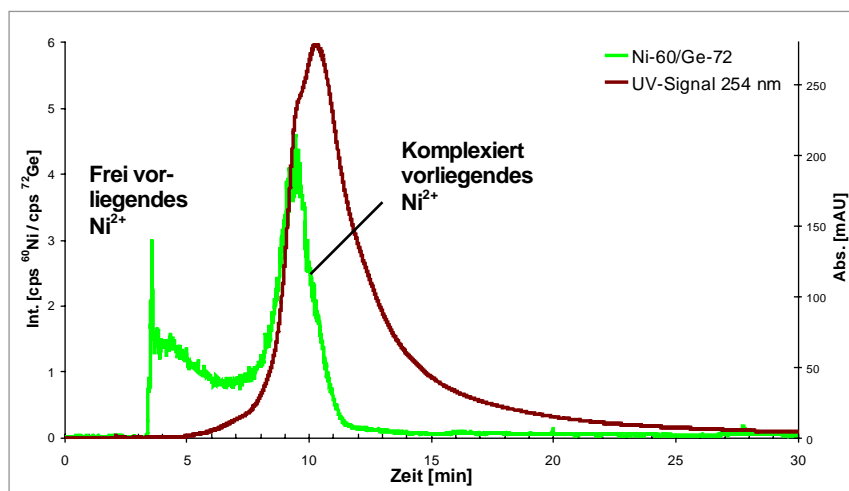


Abbildung 122: Elektropherogramme der auf 0,05 mmol Ni<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-001

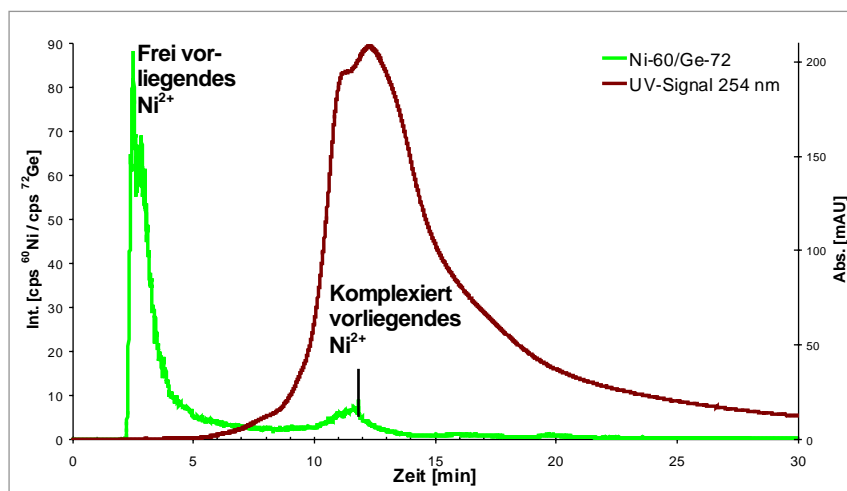


Abbildung 123: Elektropherogramme der auf 0,5 mmol  $\text{Ni}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-001

Es zeigen sich deutlich stärkere Änderungen im Fraktionierungsverhalten der Fulvinsäure als gegenüber Cadmiumionen. Ab einer Konzentration von 0,005 mmol  $\text{Ni}^{2+}$ /g DOC wurden die zugegebenen Nickelionen nicht mehr vollständig komplexiert, ein kleiner Teil der  $\text{Ni}^{2+}$ -Ionen lag frei vor, wie das freie Nickelionen anzeigende Signal zwischen zwei und drei Minuten verdeutlicht. Allerdings lag auch nach Dotierung auf 0,05 mmol  $\text{Ni}^{2+}$ /g DOC der Hauptteil der  $\text{Ni}^{2+}$ -Ionen noch komplexiert vor. Erst ab dieser Konzentration blieb das Signal der komplexierten Nickelionen etwa konstant. Höhere Dotierungen führten zu Elektropherogrammen, die vom Signal der freien Nickelionen dominiert wurden.

*Fazit:* Die Dotierung der Probe FS-001 mit  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ - bzw.  $\text{Ni}^{2+}$ -Ionen bewirkte unterschiedlich starke Änderungen im Fraktionierungsverhalten der Fulvinsäure. Kupferionen führten zu den deutlichsten, Cadmiumionen zu den am wenigsten starken Veränderungen der UV-Signale. Unter den vorliegenden Bedingungen komplexierte die Probe FS-001 zwischen 0,1 und 0,5 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC, zwischen 0,0005 und 0,05 mmol  $\text{Cd}^{2+}$ /g DOC bzw. etwa 0,005 bis 0,05 mmol  $\text{Ni}^{2+}$ /g DOC. Besonders gegenüber Cadmiumionen hat der Huminstoff FS-001 damit ein vergleichsweise hohes Komplexierungsvermögen.

### 3.2.3.4 FS-023, Dotierung mit $\text{Cu}^{2+}$ - bzw. $\text{Cd}^{2+}$ -Ionen

Die stickstoffhaltige synthetische Huminstoffprobe FS-023 wurde mit Kupfer- bzw. Cadmiumionen dotiert. Die Zugabe von  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen erfolgte in den Konzentrationsschritten 0,005 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC, 0,01 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC, 0,05 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC, 0,1 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC, 0,5 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC und 3 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC. Die erhaltenen Elektropherogramme sind in Abbildung 124 bis Abbildung 130 dargestellt.

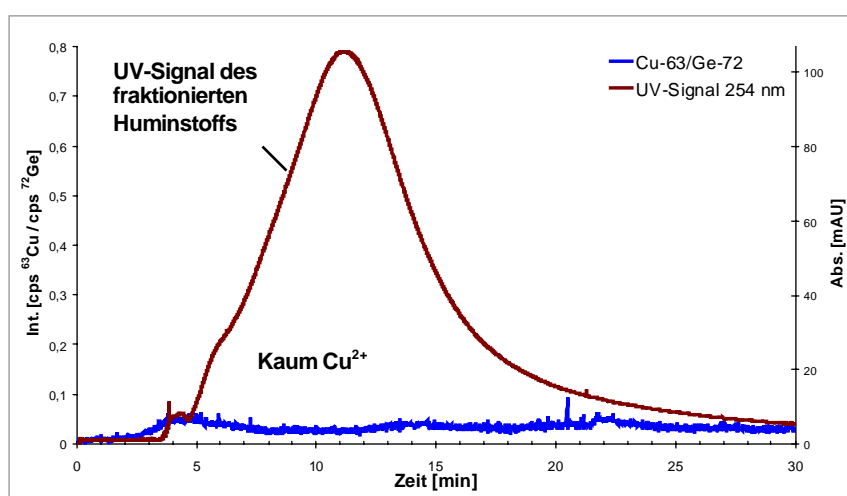


Abbildung 124: Elektropherogramme der undotierten Huminstoffprobe FS-023

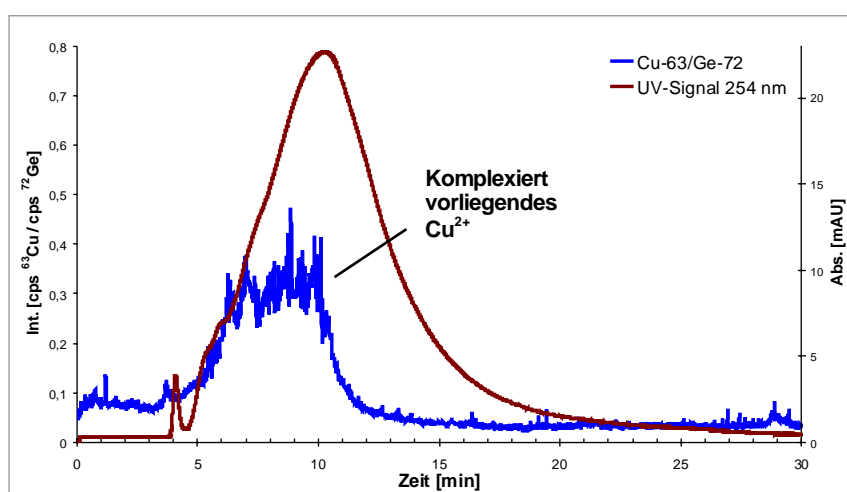


Abbildung 125: Elektropherogramme der auf 0,005 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-023

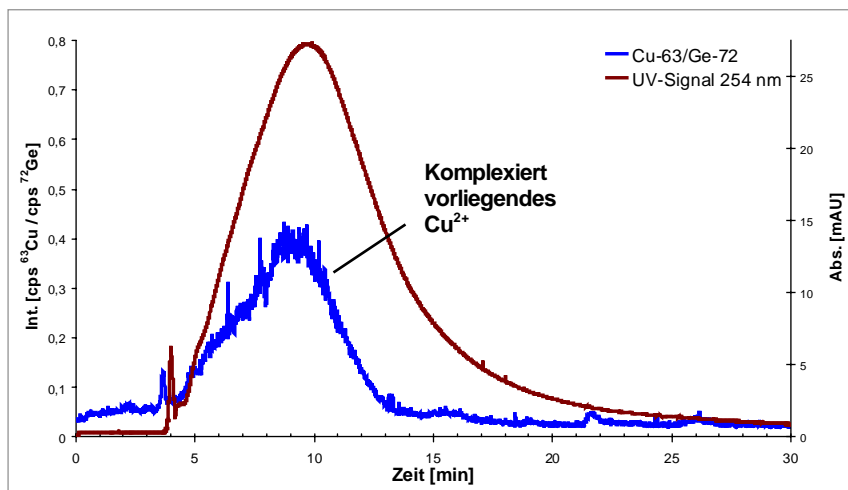


Abbildung 126: Elektropherogramme der mit 0,01 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-023

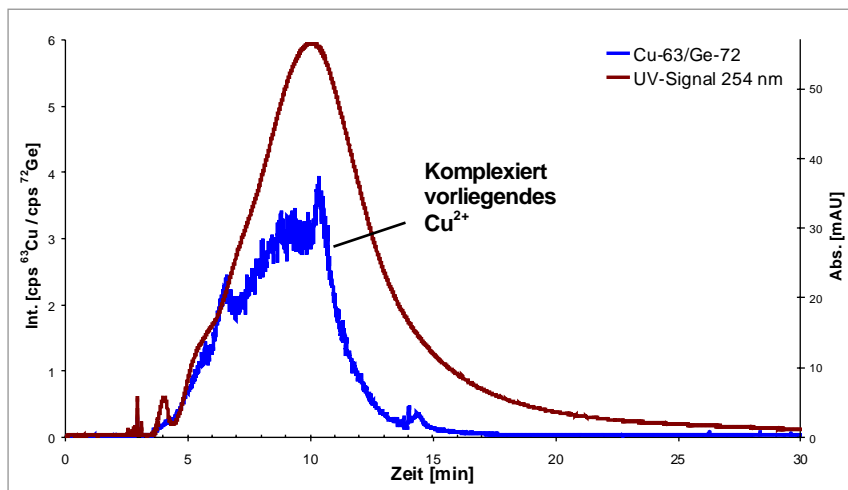


Abbildung 127: Elektropherogramme der auf 0,05 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-023

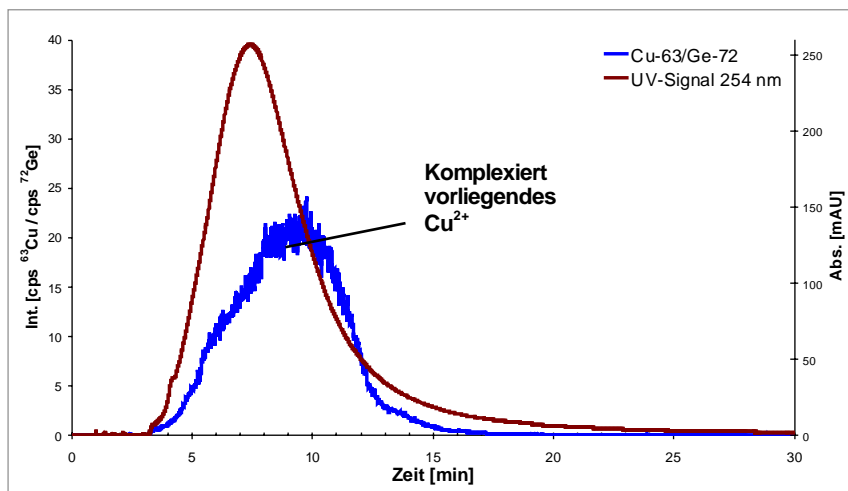


Abbildung 128: Elektropherogramme der auf 0,1 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-023

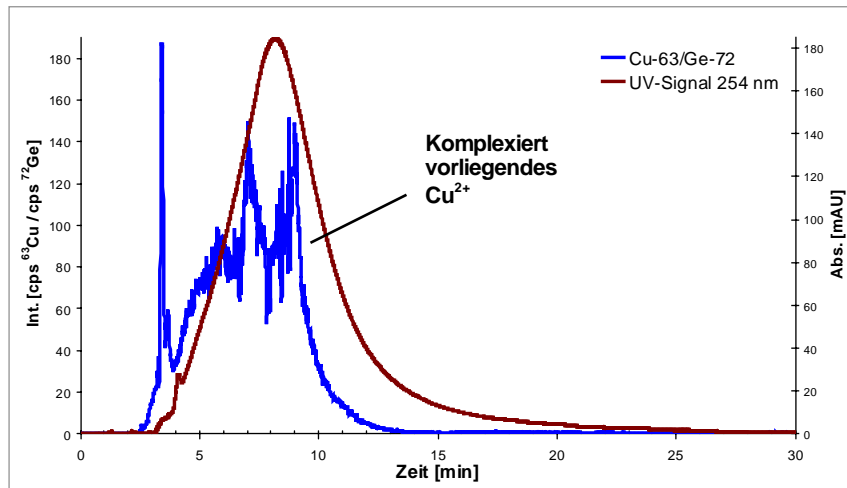


Abbildung 129: Elektropherogramme der auf 0,5 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-023

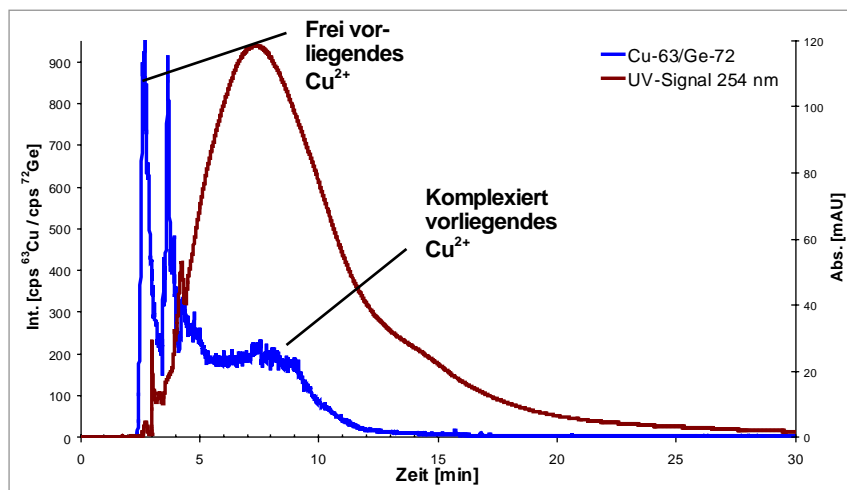


Abbildung 130: Elektropherogramme der auf 3 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-023

Bei der undotierten Probe zeigte sich die geringe in der Gesamtlösung mit der TRFA bestimmte Kupferkonzentration von  $4,4 \mu\text{g/L}$  in Form eines Kupfersignals, das nahezu eine Parallele zur x-Achse darstellt (Abbildung 124). Die Dotierungen auf 0,005, 0,01 und 0,05 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC (10-fache Zugabe an Kupferionen) unterscheiden sich fast ausschließlich in der bis zu 10-fachen Intensität des Kupfersignals; die Kupferionen dürften vollständig komplexiert worden sein. Eine vollständige Komplexierung erfolgte bei Dotierungen bis zu 0,5 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC, wobei die Signalform leicht variierte. Erst bei der höchsten Dotierung mit 3 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC wurde ein sehr deutliches Signal frei vorliegender  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen bei Migrationszeiten von zwei bis drei Minuten erhalten.

Die Dotierung der Probe mit Cadmiumionen wurde wiederum mit niedrigeren Konzentrationen begonnen. In den Abbildung 131 bis Abbildung 137 sind die Elektropherogramme der undotierten Probe FS-023 und der Dotierungen mit 0,0002, 0,0005, 0,001, 0,005, 0,01 und 0,1 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC dargestellt.

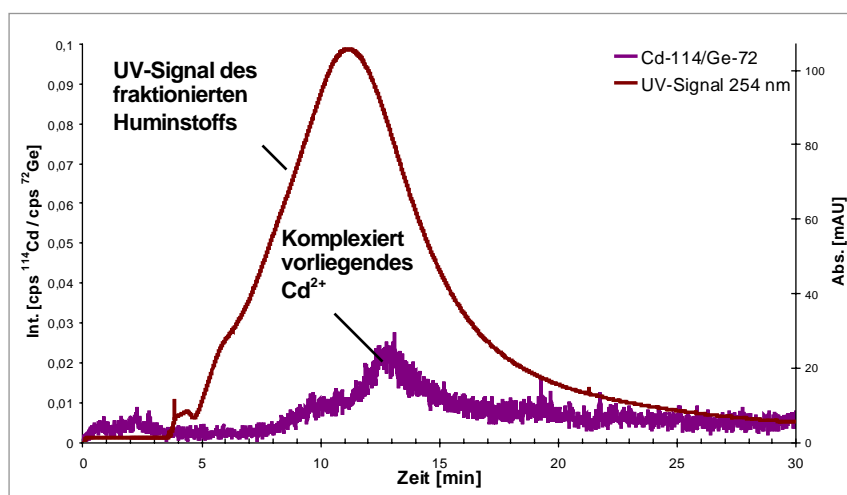


Abbildung 131: Elektropherogramme der undotierten Huminstoffprobe FS-023

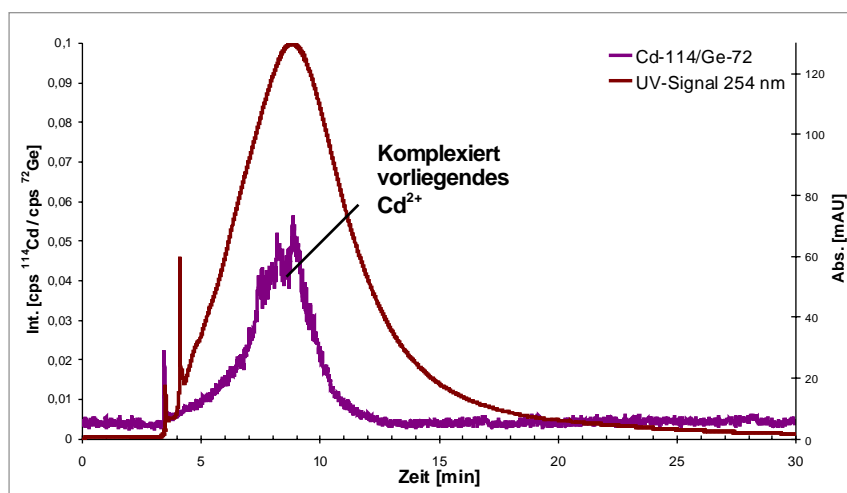


Abbildung 132: Elektropherogramme der auf 0,0002 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-023



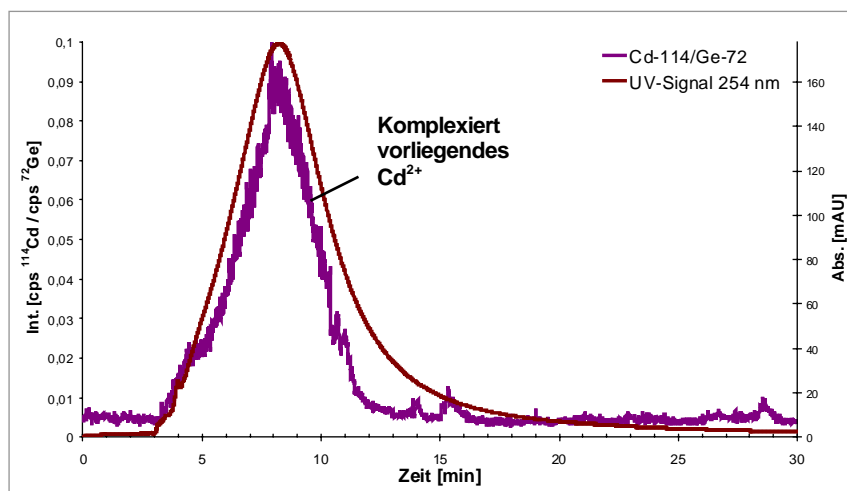


Abbildung 133: Elektropherogramme der auf 0,0005 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-023

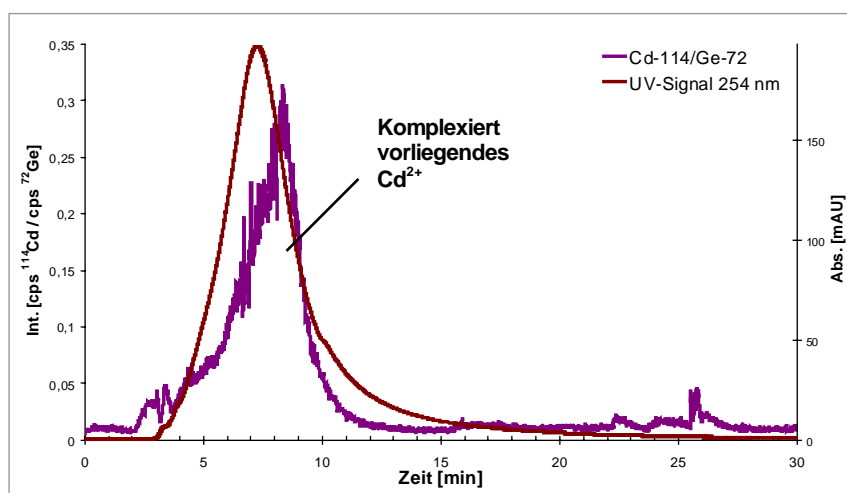


Abbildung 134: Elektropherogramme der auf 0,001 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-023

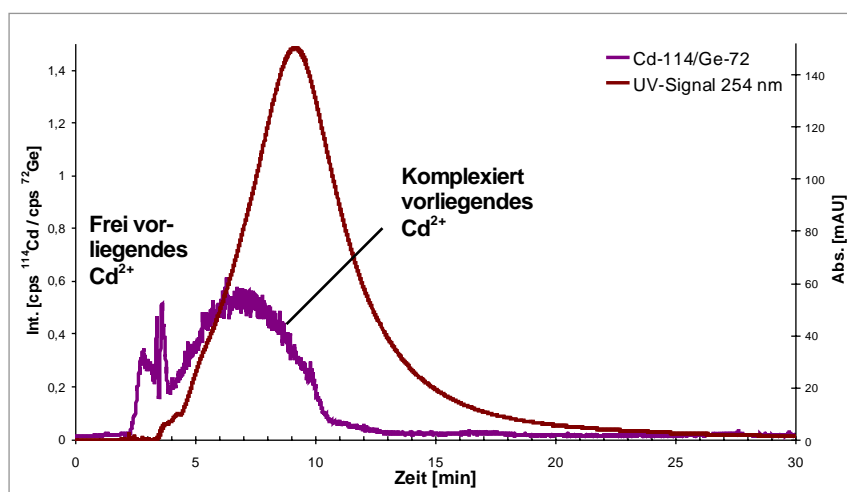


Abbildung 135: Elektropherogramme der auf 0,005 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-023

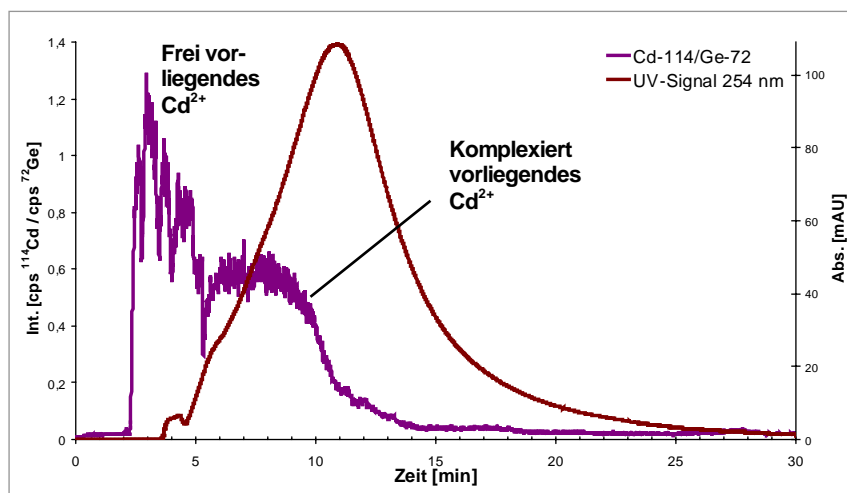


Abbildung 136: Elektropherogramme der auf 0,01 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-023

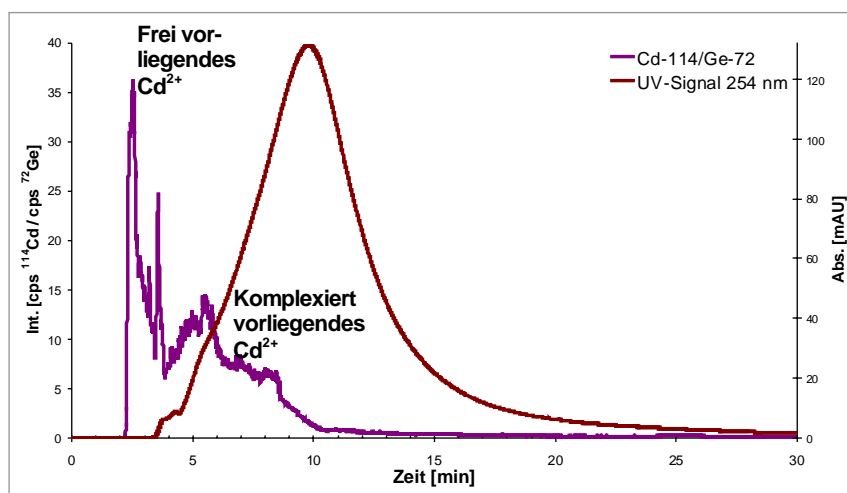


Abbildung 137: Elektropherogramme der auf 0,1 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-023

Die ersten drei Dotierungen auf 0,0002, 0,0005 und 0,001 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC führten zu einer 5-fachen Intensivierung des Signals, das die komplexierten Cadmiumionen anzeigt. Anders als bei anderen Proben lagen bis zu dieser Konzentration keine freien Cd<sup>2+</sup>-Ionen vor. Erst ab einer Konzentration von 0,005 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC begann sich das Signal frei vorliegender Cadmiumionen im Elektropherogramm abzuzeichnen. Damit zeigte FS-023 insbesondere auch gegenüber Cd<sup>2+</sup>-Ionen ausgesprochen stark komplexierende Eigenschaften.

*Fazit:* Die Dotierung der Huminstoffprobe FS-023 mit Cu<sup>2+</sup>- bzw. Cd<sup>2+</sup>-Ionen führte zu vergleichsweise geringen Änderungen im Fraktionierungsverhalten. Das Komplexierungsvermögen lag mit etwa 0,5 - 3 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC bzw. 0,005 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC insbesondere gegenüber den Cd<sup>2+</sup>-Ionen sehr hoch.

### 3.2.3.5 FS-018, Dotierung mit $\text{Cd}^{2+}$ -Ionen

Die synthetische, stark stickstoff- und schwefelhaltige Huminstoffprobe FS-018 wurde mit Cadmiumionen dotiert, da aufgrund der Menge und Vielschichtigkeit der potentiellen Donoratome (O, N, S) relativ stark komplexierende Eigenschaften besonders in Bezug auf Cadmiumionen vermutet wurden. Bemerkenswerte Komplexbildungseigenschaften bestimmter Huminstoff-Fractionen insbesondere bezüglich Cadmiumionen zeigten sich auch bei der gemeinsamen Dotierung mit den Ionen von sechs Metallen (vgl. Abschnitt 3.2.4). Dotierungen mit Kupferionen konnten aufgrund der geringen vorhandenen Probenmenge nicht durchgeführt werden. Die Dotierung wurde mit niedrigen  $\text{Cd}^{2+}$ -Mengen begonnen. In Abbildung 138 bis Abbildung 143 sind die Elektropherogramme der undotierten Probe FS-018 und der Dotierungen auf 0,0001, 0,0002, 0,0005, 0,001 und 0,05 mmol  $\text{Cd}^{2+}$ /g DOC dargestellt.

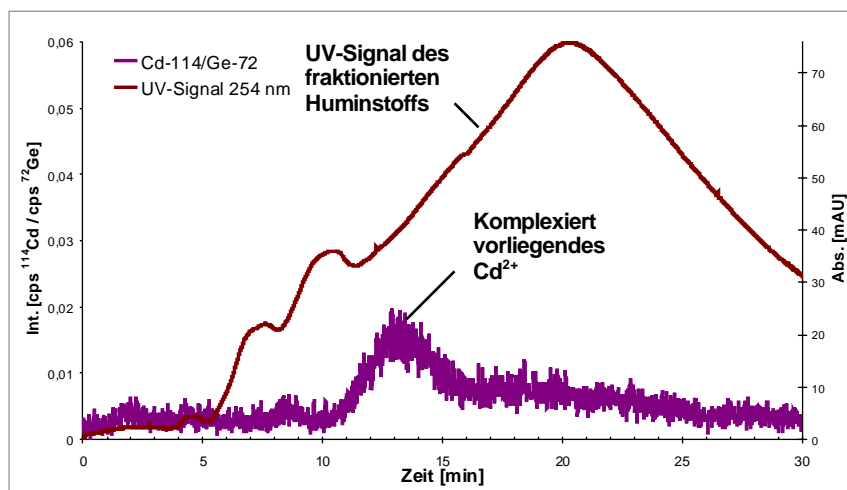


Abbildung 138: Elektropherogramme der undotierten Huminstoffprobe FS-018

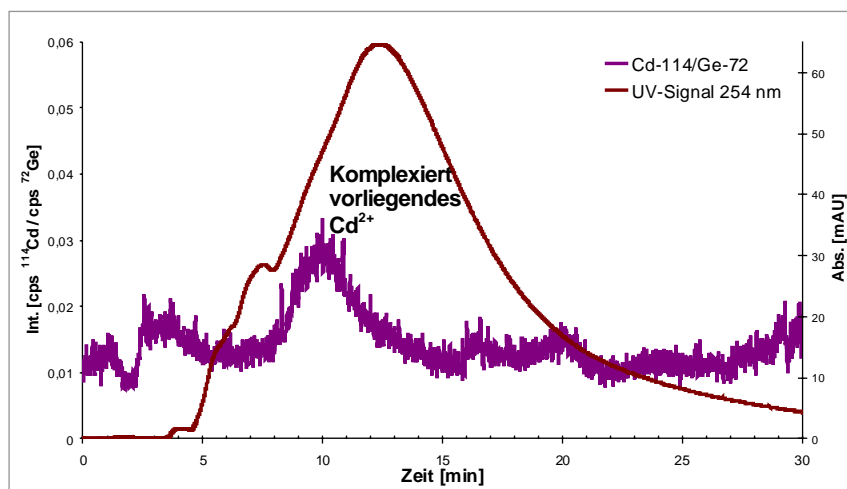


Abbildung 139: Elektropherogramme der auf 0,0001 mmol  $\text{Cd}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-018

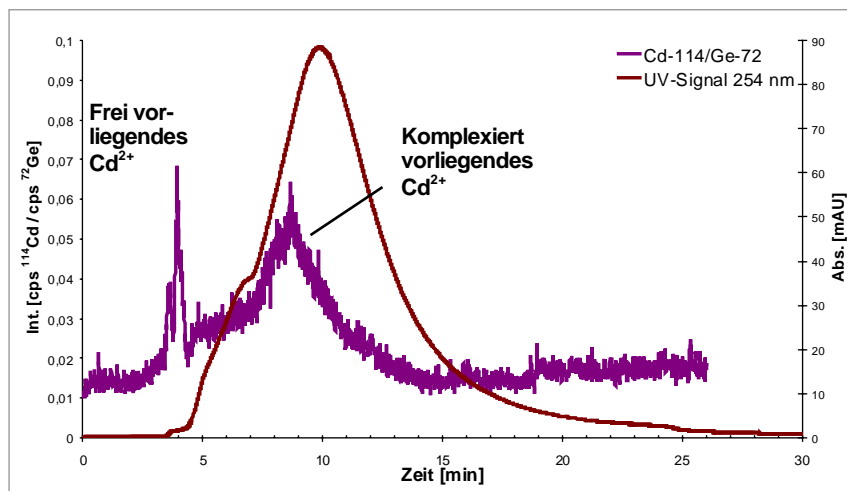


Abbildung 140: Elektropherogramme der auf 0,0002 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-018

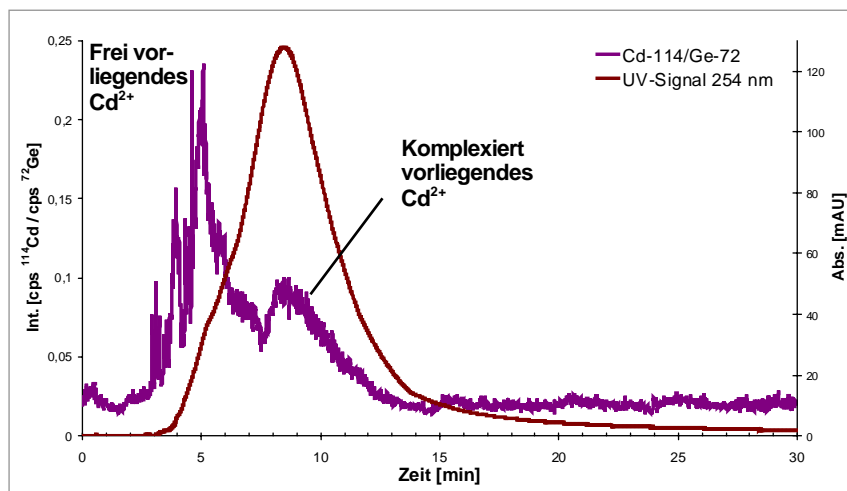


Abbildung 141: Elektropherogramme der auf 0,0005 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-018

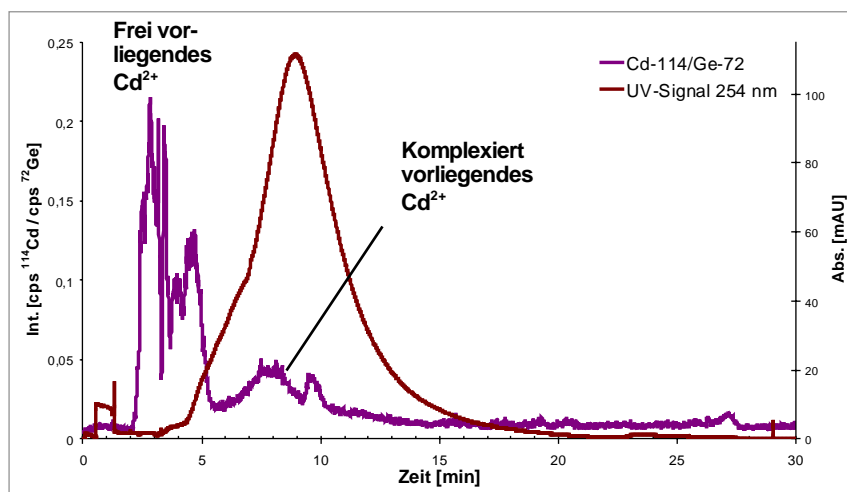


Abbildung 142: Elektropherogramme der auf 0,001 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-018

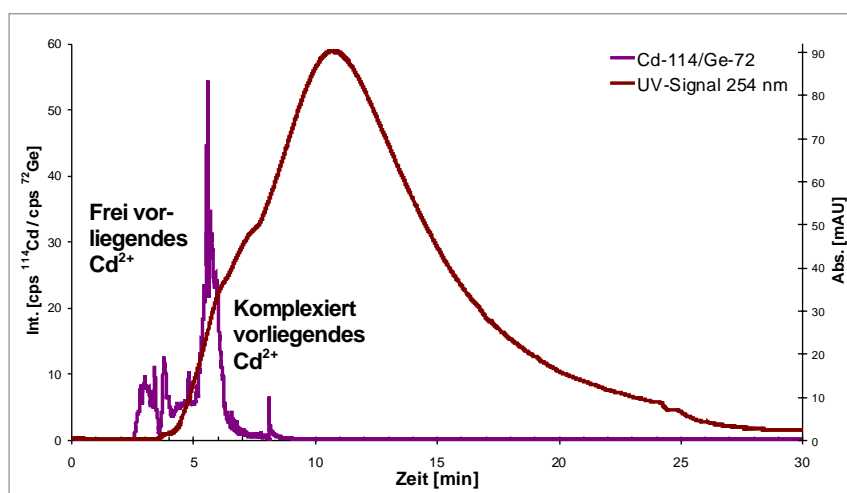


Abbildung 143: Elektropherogramme der auf 0,05 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-018

Das Fraktionierungsverhalten änderte sich mit zunehmender Dotierung wiederum deutlich. Die mittlere Migrationszeit sank gegenüber der undotierten Probe, die Signalbreite verringerte sich. Die im vorderen Bereich des UV-Signals liegenden Schultern waren bei ansteigender Cd<sup>2+</sup>-Dotierung weniger stark ausgeprägt.

Bereits das Zufügen von Cadmiumionen auf eine Konzentration von 0,0001 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC führte zu Veränderungen im Cadmium-Elektropherogramm. Bei weiteren Dotierungen auf 0,0002 bzw. 0,0005 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC wurden Signale erhalten, die eine Komplexierung der Cadmiumionen durch den stark heteroatomhaltigen Modellhuminstoff anzeigten, wobei offensichtlich verschiedene Fraktionen von FS-018 die Cadmiumionen in unterschiedlich starkem Maße zu binden vermögen. Bei den hoch dotierten Proben zeigten sich jeweils Signale frei vorliegender Cadmiumionen. Auffallend ist jedoch, dass bis zu einer Konzentration von 0,05 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC noch ein deutlicher Teil der Cadmiumionen komplexiert in früh im Elektropherogramm erscheinenden Fraktionen vorzuliegen scheint.

*Fazit:* Das Komplexierungsvermögen der Huminstoffprobe FS-018 gegenüber Cadmiumionen ist groß. 0,0005 mmol Cd<sup>2+</sup>/g DOC wurden vollständig komplexiert. Auch bei höheren Konzentrationen an Cadmiumionen verbleiben in bestimmten Fraktionen deutliche Anteile komplexierter Cadmiumionen.

### 3.2.4 Charakterisierung von Huminstoffen durch gemeinsame Dotierung mit den Metallionen $\text{Ni}^{2+}$ , $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Cs}^+$ und $\text{Pb}^{2+}$

Nachdem sich gezeigt hatte, dass das Komplexierungsverhalten von Huminstoffen gegenüber Kupfer- bzw. Cadmiumionen mit der CE-UV-ICP-MS auch bei Dotierungsexperimenten zu einer großen Informationsvielfalt führte, wurden synergetische Effekte studiert und dazu das metallionenbindende Verhalten der Huminstoffe gegenüber gemeinsam vorliegenden Metallionen untersucht. Ein derartiger Ansatz kommt der real in aquatischen Systemen vorliegenden Situation relativ nahe.

Die Huminstoffproben HOFA13, OR02RM, FS-001, FS-023 und FS-018 wurden hierzu mit unterschiedlichen Mengen an gemeinsam vorliegenden  $\text{Ni}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -,  $\text{Cd}^{2+}$ -,  $\text{Cs}^+$ - und  $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen versetzt und eine Stunde nach der Dotierung mit Hilfe der CE-UV-ICP-MS analysiert. Die Auswahl der zusätzlichen Metallionen ( $\text{Ni}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -,  $\text{Cs}^+$ - und  $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen) erfolgte aufgrund ihrer ökologischen Relevanz und des zu erwartenden Spektrums an unterschiedlichen komplexierenden Eigenschaften. Die Zahl von sechs verschiedenen gemeinsam vorliegenden Metallionen wurde gewählt, um einerseits vielfältige Informationen über ein umfangreiches System zu erhalten, und um andererseits das Quadrupol-MS nicht zu überladen (s. Abschnitt 3.1.2).

Bei der gemeinsamen Dotierung stand die Beantwortung der folgenden Fragen im Vordergrund:

- Inwieweit verändert sich das UV-Signal mit zunehmender Metallionen-Dotierung? Welchen Einfluss hat die gemeinsame Dotierung mit Metallionen auf das Fraktionierungsverhalten des jeweiligen Huminstoffs?
- Welche Veränderungen zeigen sich mit zunehmender gemeinsamer Dotierung bezüglich der einzelnen Metallionen?
- Bei welchen zudotierten Mengen an Metallionen beginnen diese unkomplexiert vorzuliegen?
- Wann ist die Komplexierungskapazität des jeweils betrachteten Huminstoffs unter den Bedingungen der gemeinsamen Dotierung erschöpft?
- Liegen die Werte der Komplexierungskapazität gegenüber den jeweiligen Metallionen bei der Konkurrenzsituation einer gemeinsamen Dotierung niedriger als bei alleiniger Dotierung (Abschnitt 3.2.3)?
- Ist der Unterschied bei verschiedenen Metallionen aufgrund unterschiedlicher Synergieeffekte verschieden groß?

- Wie sieht bei der jeweils untersuchten Huminstoffprobe die Reihenfolge der Komplexierungskapazitäten für die verschiedenen Metallionen aus (Vergleich des Bindungsverhaltens mit den untersuchten Metallionen)?

Die Untersuchung erfolgte wiederum derart, dass nach den undotierten Proben die Untersuchungen der Lösungen der mit zunehmenden Metallionenmengen dotierten Huminstoffproben analysiert wurden. Dabei wurden die  $\text{Ni}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -,  $\text{Cd}^{2+}$ -,  $\text{Cs}^+$ - und  $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen jeweils gemeinsam und in denselben Stoffmengen (z.B. 0,0005 mmol/g DOC) zugegeben. Der Stoffmengenbereich der dotierten Metallionen erstreckte sich von 0,0005 bis 0,1 mmol/g DOC und wurde damit in Anlehnung an die Dotierung mit einzelnen Metallionen so gewählt, dass sowohl bei den niedrigen zugesetzten Mengen die schlecht komplexierbaren Cadmiumionen, als auch die sehr gut huminstoffkomplexierbaren Kupferionen in ihren Signalverläufen und Grenzen der Komplexierbarkeit untersucht werden konnten.

#### **3.2.4.1 HOFA13**

Die Dotierungen der natürlichen Huminstoffprobe HOFA13 mit Kupfer- bzw. Cadmiumionen bestätigten bereits ihre nach der Basis-Charakterisierung vermuteten stark Metallionen-komplexierenden Eigenschaften. Sie wurde daher zusätzlich mit einem Gemisch der Metallionen  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$  der Stoffmengen von jeweils 0,001 mmol/g DOC, 0,005 mmol/g DOC, 0,01 mmol/g DOC, 0,05 mmol/g DOC und 0,1 mmol/g DOC dotiert. Die Elektropherogramme der dotierten Proben sind in Abbildung 144 bis Abbildung 148 dargestellt. Die der undotierten Probe HOFA13 wurden bereits in Abschnitt 3.2.2.1 gezeigt.

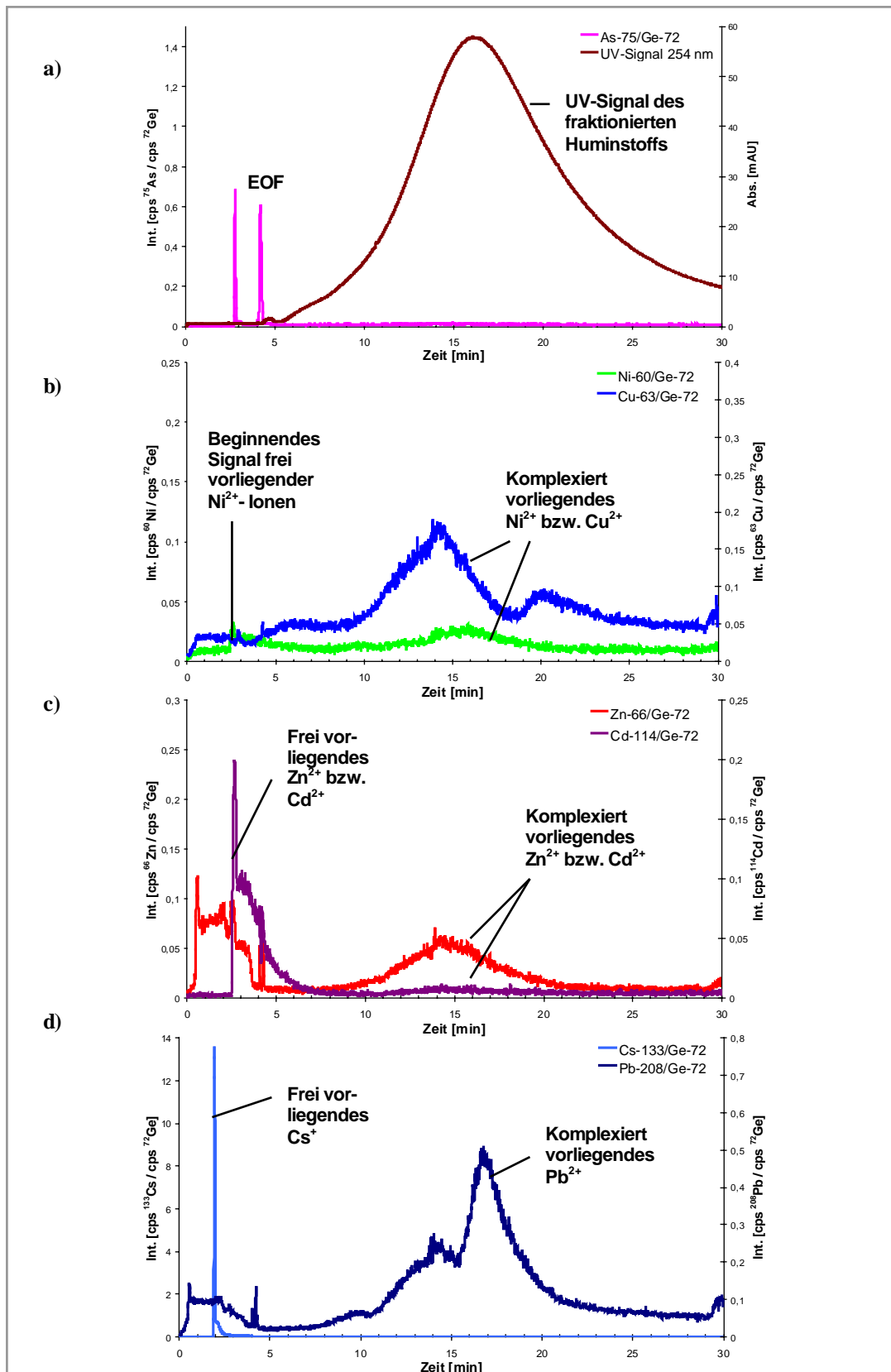


Abbildung 144: Elektropherogramme der auf 0,001 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe HOFA13



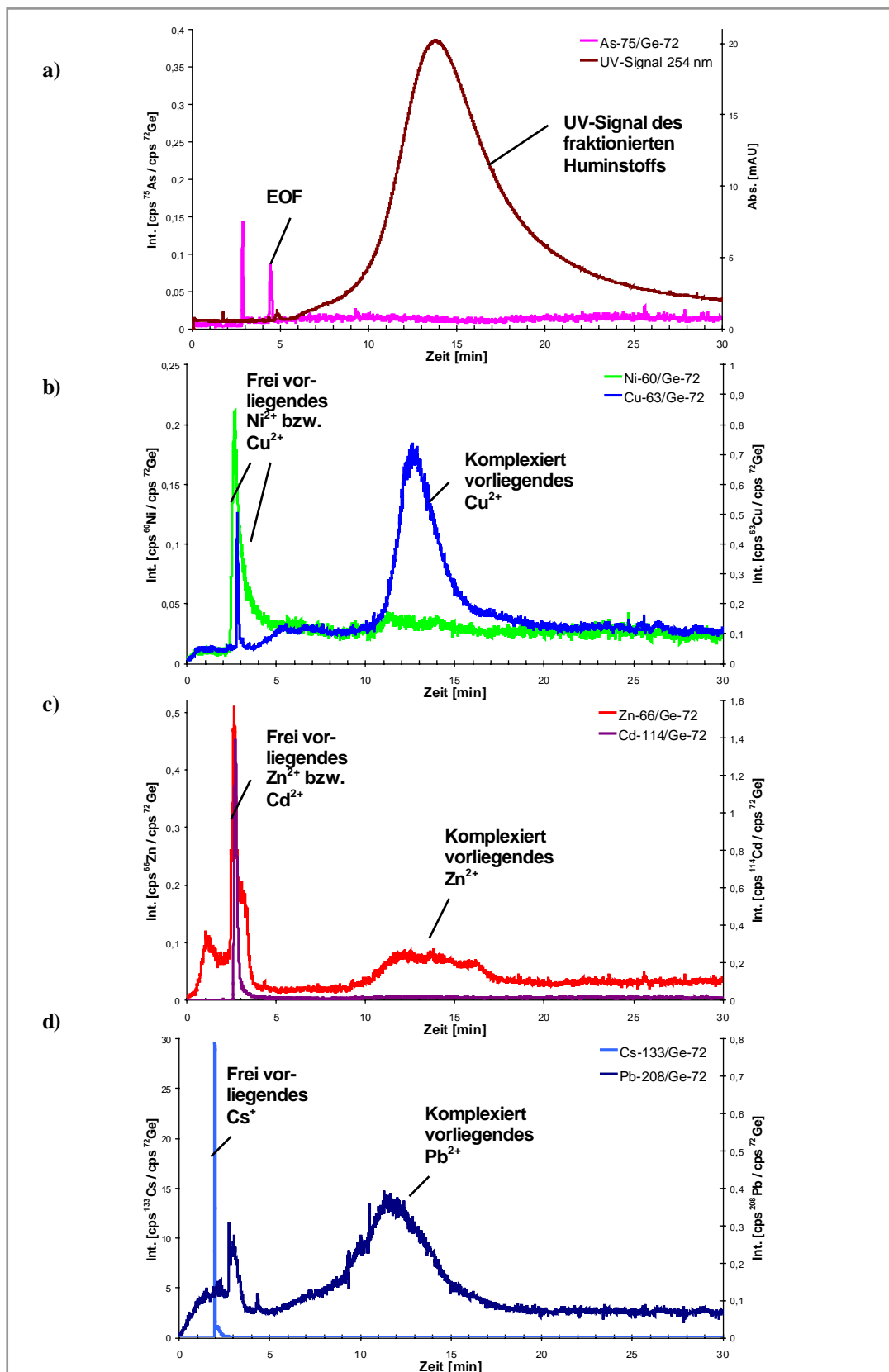


Abbildung 145: Elektropherogramme der auf 0,005 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe HOFA13

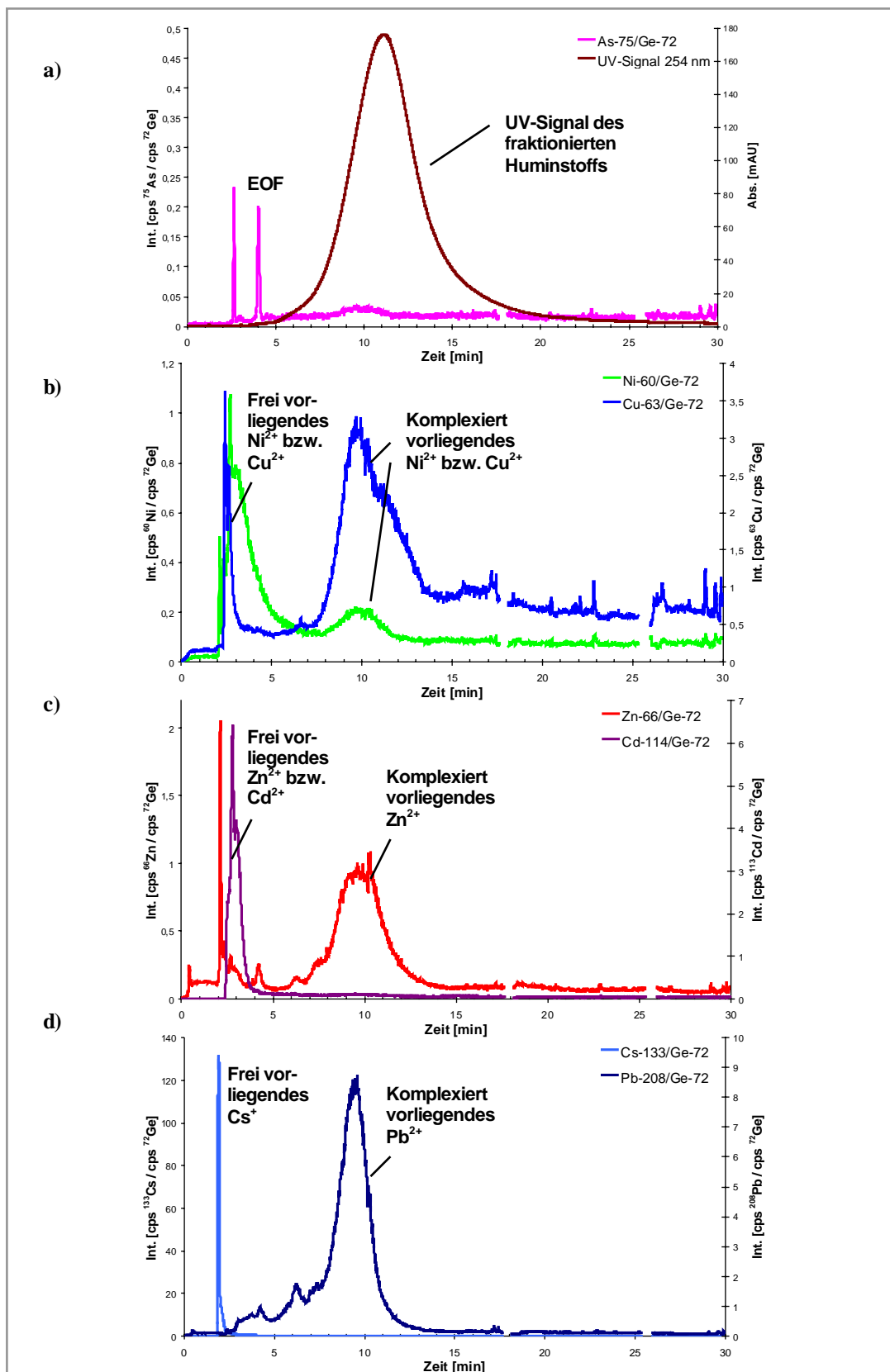


Abbildung 146: Elektropherogramme der auf 0,01 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe HOFA13

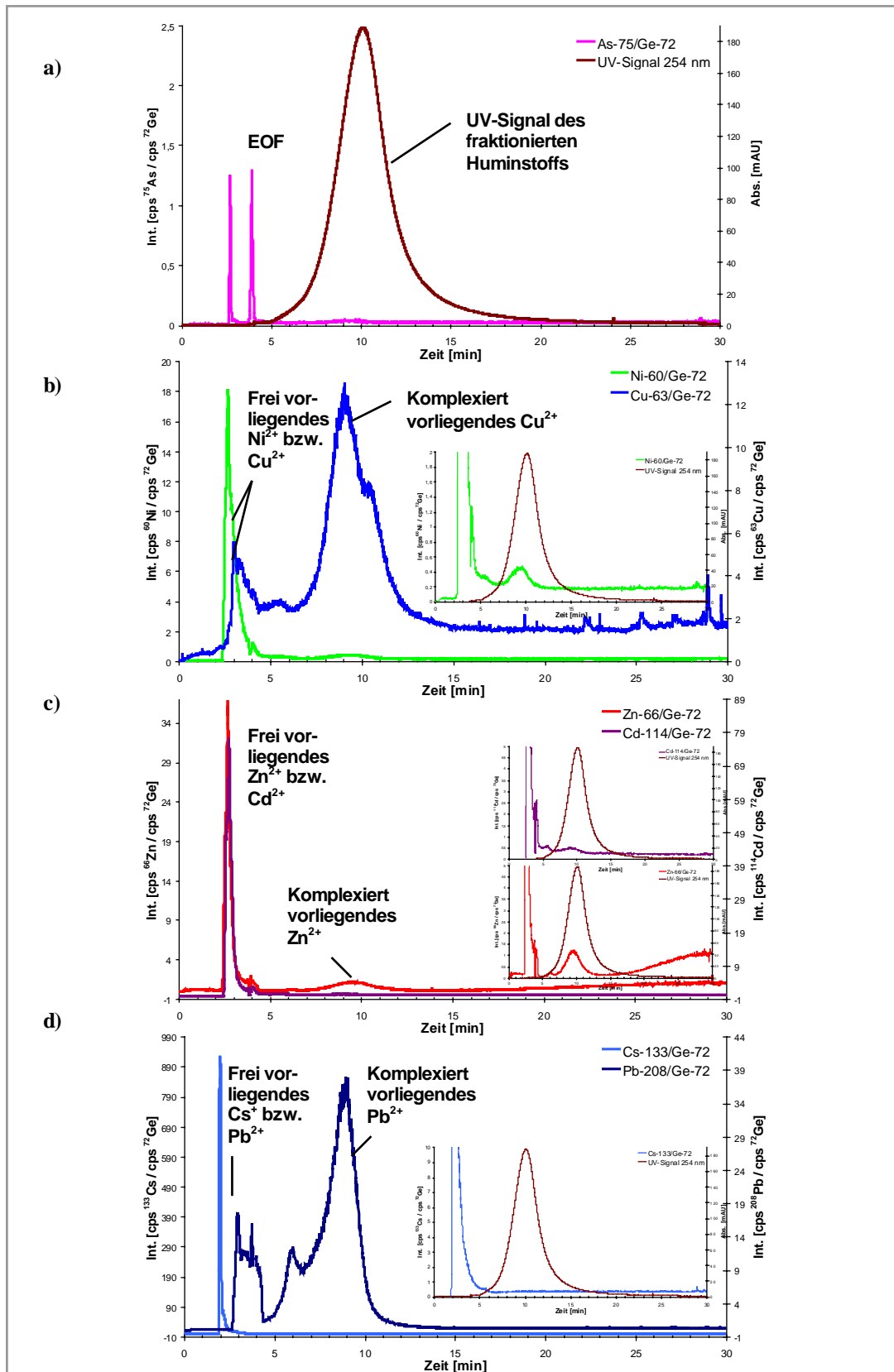


Abbildung 147: Elektropherogramme der auf 0,05 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe HOFA13

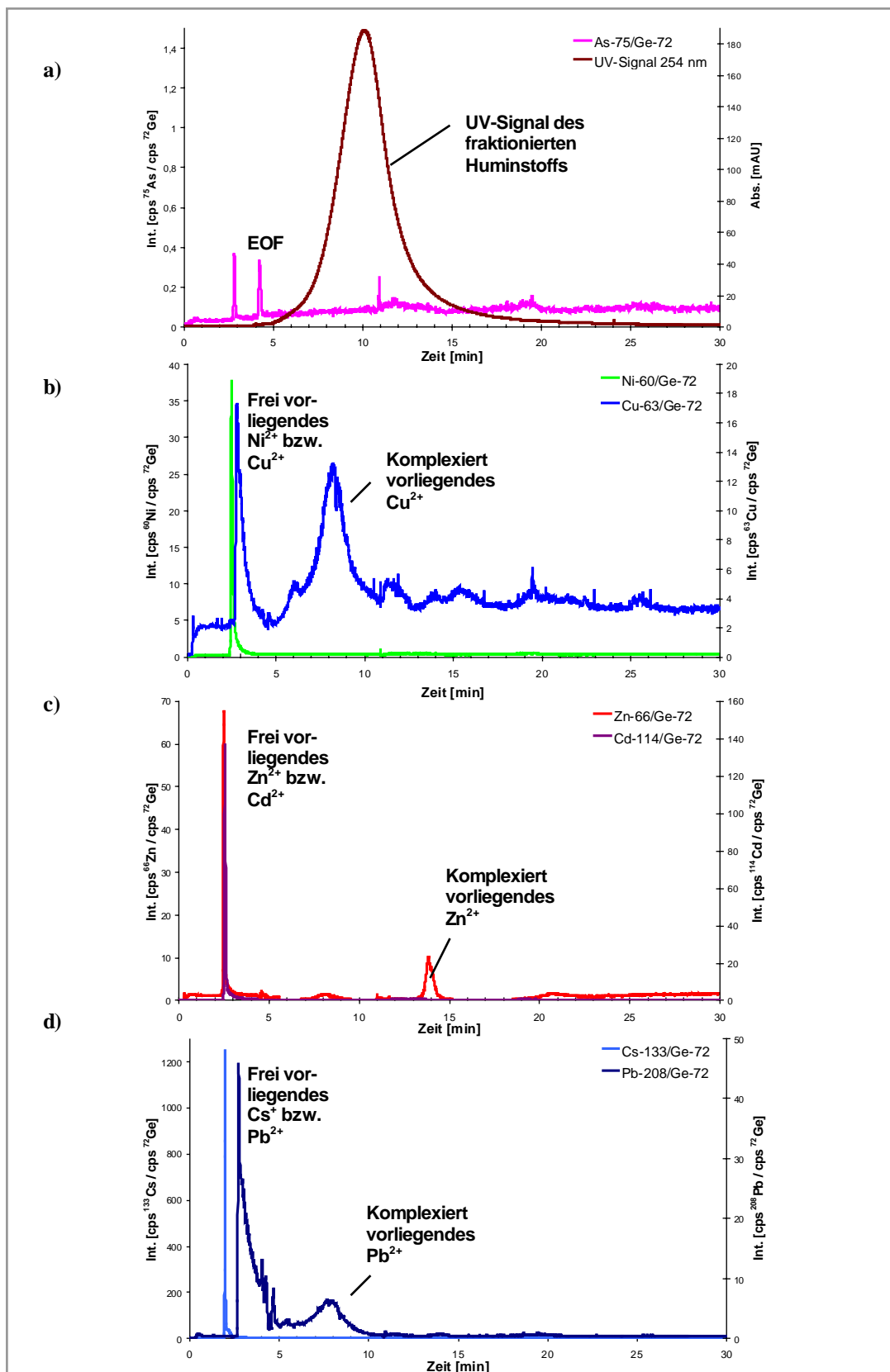


Abbildung 148: Elektropherogramme der auf  $0,1 \text{ mmol Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}/\text{g DOC}$  dotierten Huminstoffprobe HOFA13

Nach der ersten Stufe der Dotierung (0,001 mmol/g DOC) zeigten sich gegenüber der undotierten Probe kaum Unterschiede im UV-Signal; Form und Migrationszeit unterscheiden sich praktisch nicht. Eine Dotierung auf höhere Konzentrationen an Metallionen veränderte das Fraktionierungsverhalten des Huminstoffs, das UV-Signal erreichte sein Maximum bei geringeren Migrationszeiten und die mittlere Signalbreite verringerte sich. Diese Tendenz der Signalverschiebung zu niedrigeren Migrationszeiten und einer Verringerung der Signalbreite setzte sich mit zunehmender Dotierung fort. Erst ab einer Dotierung auf 0,05 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC setzte eine Konstanz an mittlerer Migrationszeit und Signalbreite ein. Das UV-Signal erreichte sein Maximum in diesen Fällen bei gut 10 Minuten.

Da früh am Detektor erscheinende (negativ geladene) Huminstoff-Fractionen der CE-Theorie nach ein hohes Masse- zu Ladungs-Verhältnis haben, könnte die bei zunehmender Dotierung mit Metallionen beobachtete UV-Signalveränderung auf Koagulationsprozesse und die Neutralisierung negativer Ladungen des Huminstoffs infolge von Komplexreaktionen mit Metallkationen zurückzuführen sein.

Bei den Metallsignalen erfolgten mit zunehmender Dotierung deutliche und je nach Metallion verschiedenartige Veränderungen der Signale. Bereits bei der geringsten Dotierung (0,001 mmol Metallionen/g DOC) deutete sich neben dem Signal für komplexiert vorliegende Nickelionen das Signal freier Nickelionen an. Bei 0,005 mmol Metallionen/g DOC war der freie Nickelionen anzeigende Peak zwischen zweieinhalb und drei Minuten derart dominierend, dass ein Großteil der  $\text{Ni}^{2+}$ -Ionen frei vorgelegen haben dürfte. Das Komplexierungsvermögen der Probe HOFA13 ist damit gegenüber Nickelionen in Gegenwart anderer Metallionen vergleichsweise gering. Höhere Dotierungen führten zu Signalen, die ebenfalls erheblich vom Nickel-Peak bei knapp 3 Minuten (also den freien Ionen) bestimmt waren. Bei Aufspreizung des y-Achsabschnitts (vgl. Abbildung 147) wird allerdings nach wie vor das Signal zwischen acht und elf Minuten deutlich sichtbar, das komplexiert vorliegende Nickelionen anzeigt.

Beim Kupfersignal, das in der undotierten Probe zwei kleine komplexierte Fraktionen anzeigte, bildete sich bei der Dotierung mit 0,001 mmol Metallionen/g DOC die erstere Fraktion bei 15 Minuten deutlich stärker heraus und zeigte etwa die doppelte Intensität wie die undotierte Probe. Die Komplexierung der zugefügten Kupferionen erfolgte offensichtlich hauptsächlich in den früh im Elektropherogramm erscheinenden Grobfraktionen des Huminstoffs. Die Dotierungen auf höhere Konzentrationen an Metallionen führten zum Verschmelzen dieser zwei Komplexierung anzeigenden Fraktionen zu einer Hauptfraktion. Bereits bei einer Konzentration von 0,005 mmol Metallionen/g DOC trat ein kleines Signal bei 3 Minuten auf, das frei vorliegendes  $\text{Cu}^{2+}$  anzeigt. Großes Gewicht erhält dieses freie Ionen anzeigende Signal allerdings erst bei der höchsten Konzentration von 0,1 mmol Metallionen/g DOC.

Die Intensitäten der komplexierte Zinkionen anzeigenden Signale stiegen bis zur Zugabe von 0,01 mmol Metallionen/g DOC und blieben auch bei 0,005 mmol Metallionen/g DOC trotz der massiven Zunahme des Signals um drei Minuten, das freie Zinkionen anzeigt, konstant (s. Ausschnittsvergrößerung in Abbildung 147). Die zugegebenen Zinkionen wurden damit im Vergleich mittelstark komplexiert.

Die Elektropherogramme des Cadmium zeigten bei allen untersuchten Konzentrationen ausgeprägte Signale für frei vorliegenden Cadmiumionen. Bereits bei 0,0005 mmol Metallionen/g DOC lagen die Cadmiumionen fast ausschließlich frei vor, was sich bei den weiteren dotierten Konzentrationen bestätigte. Damit gehört Cadmium zu den Elementen, deren Ionen in Gegenwart anderer Metallionen nur sehr schwach von der Huminstoffprobe HOFA13 komplexiert wurden.

Bei Blei wurde ein völlig anderes Verhalten beobachtet. Blei gehört neben Kupfer zu den Elementen, deren Ionen vom Huminstoff HOFA13 am stärksten komplexiert wurden. Dies bestätigte sich dadurch, dass erst ab einer Konzentration von 0,05 mmol Metallionen/g DOC ein Signal für frei vorliegende Bleiionen auftrat.

Die dotierten Cäsiumionen ließen sich erwartungsgemäß nicht komplexieren. Diese Tatsache wurde als weitere Bestätigung der Eignung der Methode zur Charakterisierung der Komplexierungseigenschaften von Huminstoffen gewertet.

*Fazit:* Die simultane Dotierung der Probe HOFA13 mit den Ionen von 6 Metallen führte zu Änderungen im Fraktionierungsverhalten des Huminstoffs. Die dotierten Metallionen zeigten unterschiedliches Verhalten. Die Reihenfolge der Stärke der Komplexierung betrug  $\text{Cu}^{2+} \geq \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+} \gg \text{Cs}^+$ . Die zudotierten Cäsiumionen wurden nicht komplexiert und ergaben so eine weitere Bestätigung, dass die Methode zur Charakterisierung der Komplexierungseigenschaften von Huminstoffen bestens geeignet ist.

Bei der gemeinsamen Dotierung der Huminstoffprobe HOFA13 mit den Ionen von sechs Metallen liegen aufgrund der Konkurrenzsituation erwartungsgemäß die Konzentrationen an  $\text{Cu}^{2+}$  und  $\text{Cd}^{2+}$ , ab der die Signale freier Metallionen auftreten, deutlich niedriger im Vergleich zur einzelnen Dotierung mit Kupfer- bzw. Cadmiumionen.

#### **3.2.4.2 OR02RM**

Die Dotierung der natürlichen, aus der Oder stammende Huminstoffprobe OR02RM mit Kupferionen (dargestellt in Abschnitt 3.2.3) zeigte eine vergleichsweise geringe Komplexierungskapazität. Ihr Verhalten wurde daher zusätzlich gegenüber einem Gemisch der Metallionen  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$  bei Konzentrationen von 0,001 mmol/g DOC, 0,005 mmol/g DOC, 0,01 mmol/g DOC und 0,05 mmol/g DOC untersucht. Die erhaltenen Elektropherogramme sind in Abbildung 149 bis Abbildung 152 dargestellt.

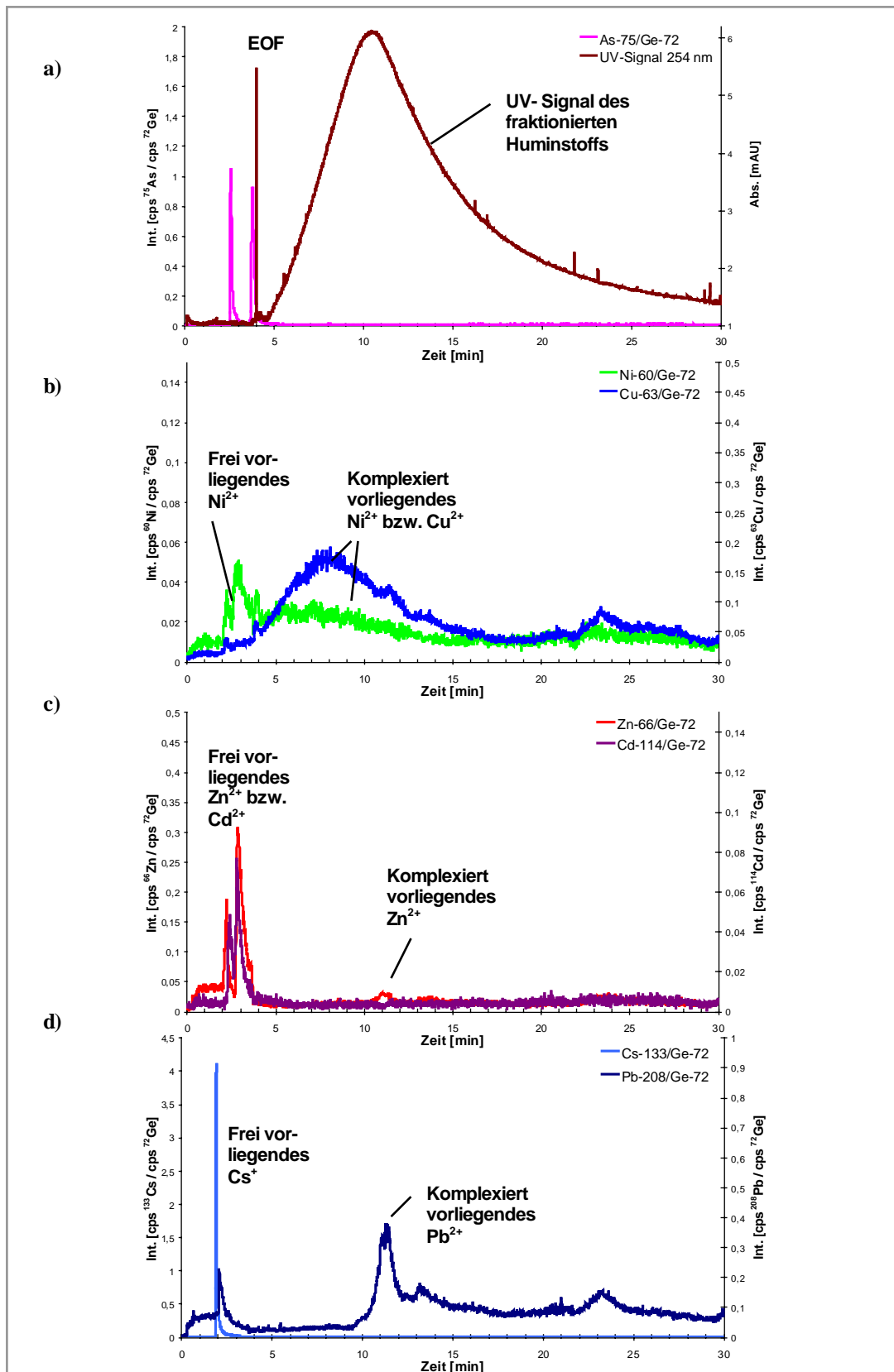


Abbildung 149: Elektropherogramme der auf 0,001 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe OR02RM

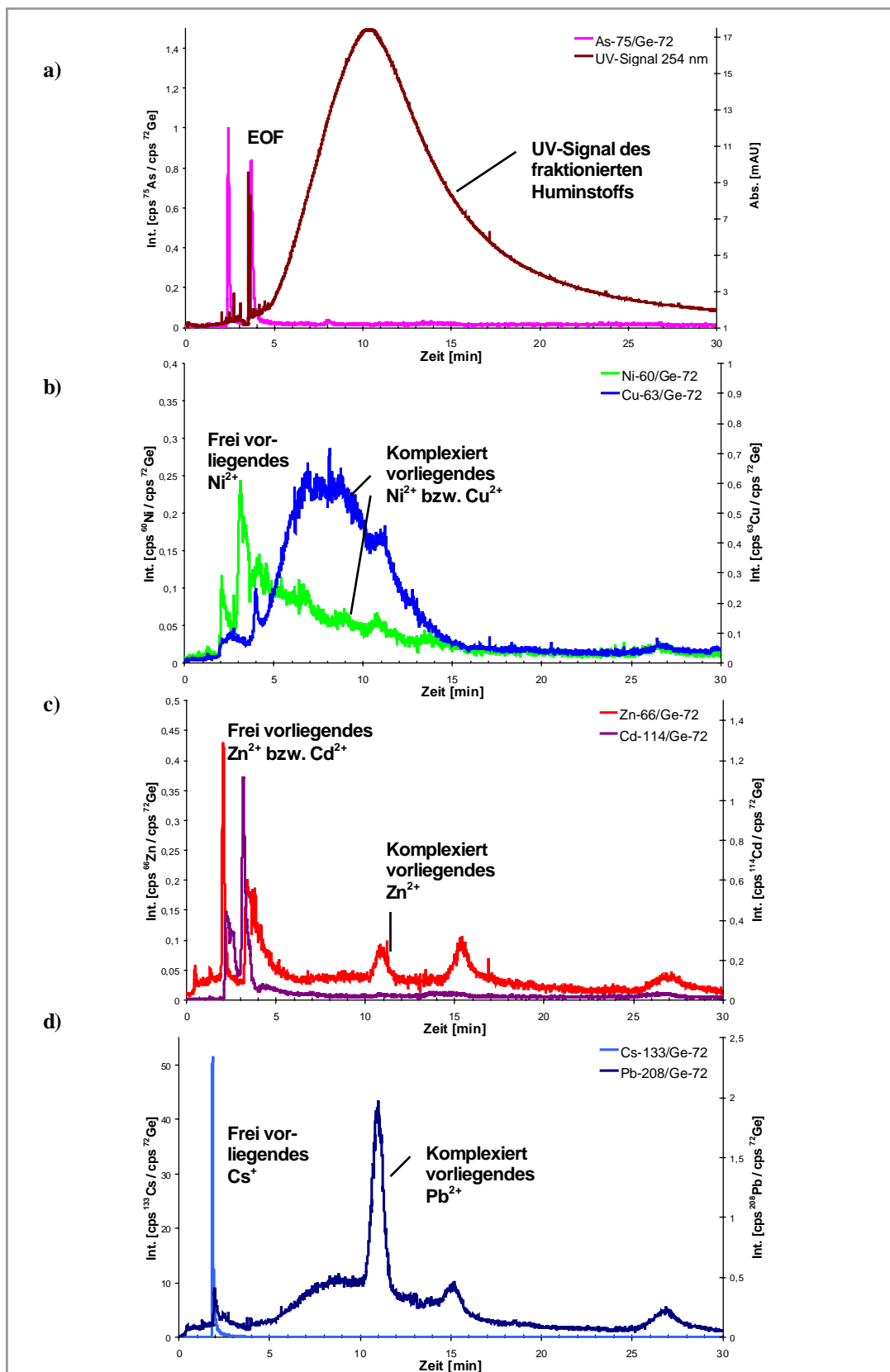


Abbildung 150: Elektropherogramme der auf 0,005 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe OR02RM



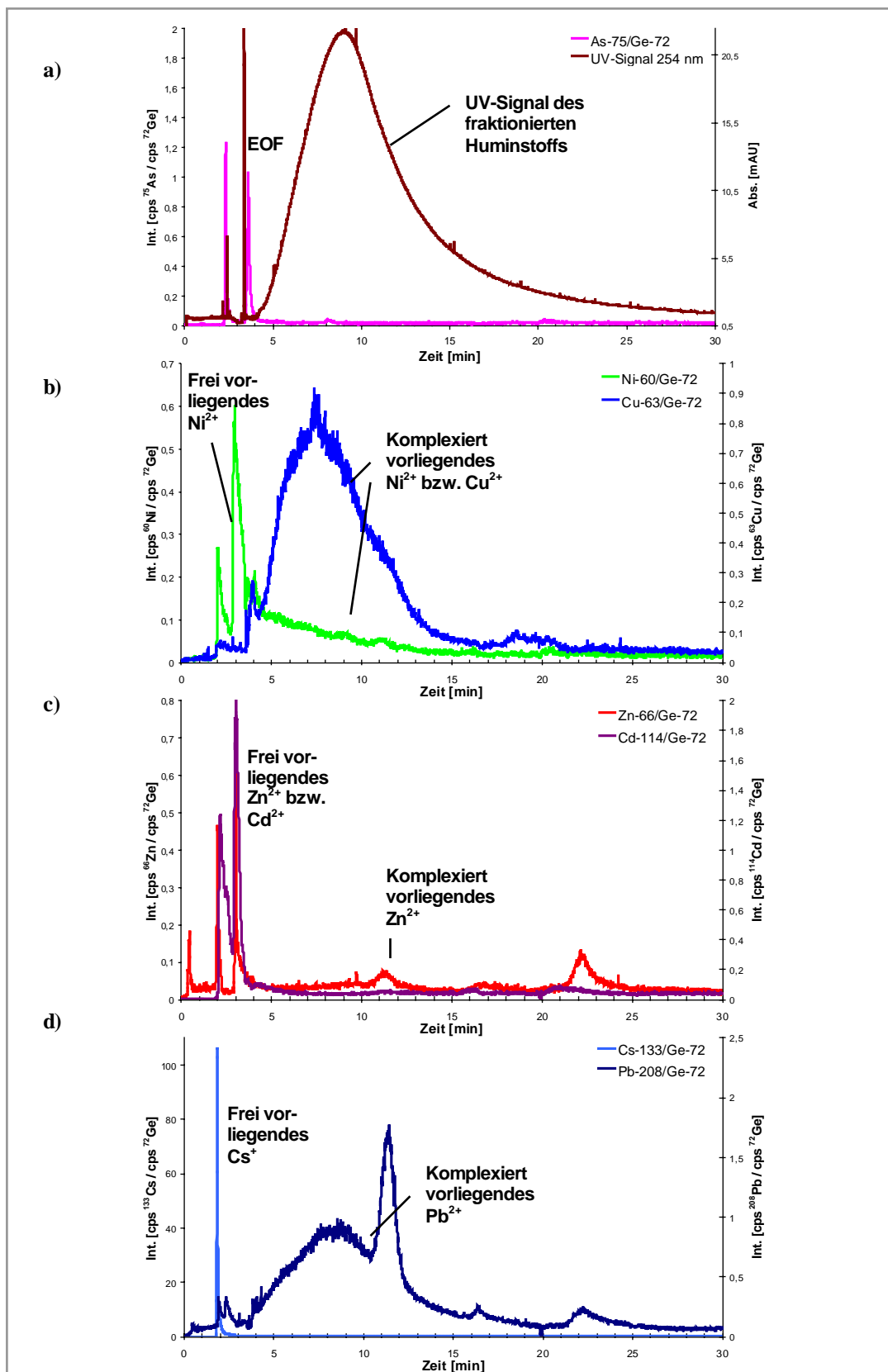


Abbildung 151: Elektropherogramme der auf 0,01 mmol  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe OR02RM

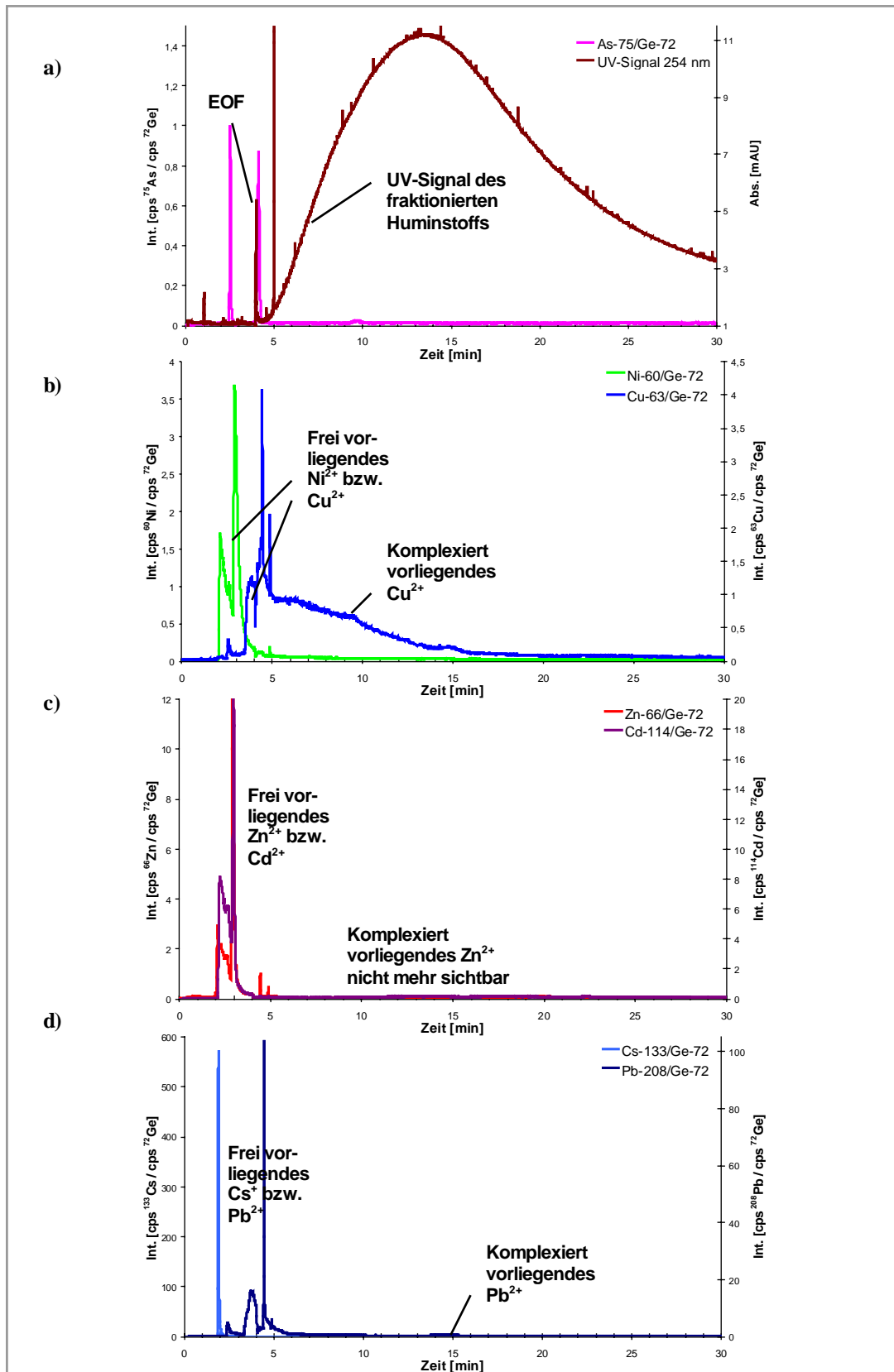


Abbildung 152: Elektropherogramme der auf 0,05 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe OR02RM

Die undotierte Huminstoffprobe OR02RM enthielt bereits trotz des geringen DOC (0,32 mg/mL) erheblich höhere Konzentrationen an Metallionen als die anderen Proben (106 µg/L Nickel, 227 µg/L Kupfer, 259 µg/L Zink), was ihr Fraktionierungsverhalten beeinflusste (vgl. auch Abschnitt 3.2.2).

Entsprechend wirkten sich die Dotierungen mit Metallionen weniger stark auf das Fraktionierungsverhalten aus, als das bei anderen Proben der Fall war. Die ohnehin geringen mittleren Migrationszeiten des UV-Signals (undotiert gut 10 Minuten) verringerten sich mit zunehmender Dotierung nur leicht, das Minimum wurde bei einer Konzentration von 0,01 mmol Metallionen/g DOC erreicht (knapp 9 Minuten), wobei die mittlere Signalbreite etwas abnahm. Eine weitere Dotierung auf 0,05 mmol Metallionen/g DOC führte allerdings wieder zu einem erheblich breiteren und späteren UV-Signal (Maximum bei etwa 13 Minuten). Die Signale für nicht komplexierte Metallionen zeigten bei dieser Metallionenkonzentration ein deutliches Überschreiten der Komplexierungskapazität der Probe auch gegenüber den gut komplexierbaren Ionen  $\text{Cu}^{2+}$  und  $\text{Pb}^{2+}$ .

Bei den Metallsignalen erfolgten mit zunehmender Dotierung verschiedenartige Veränderungen der Signale. Insgesamt fiel auf, dass sie unruhiger verlaufen und in deutlich stärkerem Maße diskrete Fraktionen aufweisen als das bei der Probe HOFA13 der Fall war. Die in diskreten Fraktionen - besonders bei einer Migrationszeit von etwa 10 Minuten - bevorzugt komplexierten Kupferionen waren bereits bei der alleinigen Dotierung des Huminstoffs OR02RM (vgl. Abschnitt 3.2.3) aufgefallen. Diese Fraktionen sind im UV-Signal allerdings nicht gesondert zu erkennen.

Aufgrund des ohnehin bereits hohen Gehaltes der Probe an Nickelionen führten die Dotierungen mit Metallionen nur eingeschränkt zu ihrer weiteren Komplexierung. Die freien Nickelionen zuzuordnenden Signale erhöhten sich bei zunehmender Dotierung.

Bei Kupfer zeigt sich eine andere Situation. Trotz eines mit 227 µg/L ebenfalls hohen Grundgehalts zeigte sich die hohe Affinität der Huminstoffprobe gegenüber  $\text{Cu}^{2+}$  im Vergleich zu anderen Metallionen derart, dass  $\text{Cu}^{2+}$  bis zu einer Metallionenzugabe von 0,01 mmol Metallionen/g DOC vollständig komplexiert wurde. Erst bei einer Konzentration von 0,05 mmol Metallionen/g DOC war das Kupfersignal von frei vorliegendem  $\text{Cu}^{2+}$  zu erkennen.

Die Zinksignale verhielten sich ähnlich den Nickelsignalen. Die zugefügten Metallionen verstärkten bereits bei geringen zugefügten Mengen hauptsächlich die früh migrierenden freien Zinkfraktionen. Es gab kaum eine weitere Zunahme der relativ scharfen komplexierten Zinkfraktionen. Dies verwundert nicht, da in der undotierten Lösung bereits 259 µg/L Zink enthalten waren.

Ähnliches, allerdings noch deutlicheres gilt für die Cadmiumsignale. Die Elektropherogramme zeigten bei allen untersuchten Konzentrationen ausgeprägte Signale von

frei vorliegenden Cadmiumionen. Bereits bei einer Konzentration von 0,0005 mmol Metallionen/g DOC lagen die Cadmiumionen fast ausschließlich unkomplexiert vor.

Im Falle von Blei zeigten sich Ähnlichkeiten zum Kupfer. Eine vollständige Komplexierung erfolgte bis zu einer Konzentration von 0,01 mmol Metallionen/g DOC. Ab 0,05 mmol Metallionen/g DOC trat ein massives Signal auf, das den Migrationszeiten frei vorliegender Bleiionen entsprach. Ein deutlicher Unterschied zu Kupferionen besteht allerdings in der Tatsache, dass die Bleiionen in allen Elektropherogrammen die Eigenschaft zeigten, in bestimmten Huminstoff-Fractionen verstärkt komplexiert aufzutreten.

Cäsiumionen wurden erwartungsgemäß bei keiner Metallionenkonzentration komplexiert.

*Fazit:* Die simultane Dotierung mit den Ionen von 6 Metallen führte auch bei der Huminstoffprobe OR02RM zu Änderungen im Fraktionierungsverhalten, allerdings in geringerem Ausmaß als bei der Probe HOFA13. Für die zudotierten Metallionen ergaben sich unterschiedliche Eigenschaften. Die Stärke der Komplexierung durch den Huminstoff nahm in der Reihenfolge  $\text{Cu}^{2+} \geq \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+} \geq \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+} \gg \text{Cs}^+$  ab.

Insgesamt zeigte sich, dass bei einer Konkurrenzsituation wie im vorliegenden Fall die schwächer komplexierbaren Ionen wie  $\text{Ni}^{2+}$  und  $\text{Cd}^{2+}$  gegenüber gut komplexierbaren Ionen wie  $\text{Cu}^{2+}$  oder  $\text{Pb}^{2+}$  geringere Chancen zur Komplexierung besitzen.

Gegenüber der alleinigen Dotierung von OR02RM mit  $\text{Cu}^{2+}$ - Ionen lag die Konzentration, ab der das Signal freier Kupferionen auftrat, beim Vorliegen der Konkurrenzsituation bei der gemeinsamen Dotierung niedriger.

### 3.2.4.3 FS-001

Die stickstoff- und schwefelfreie, aber sauerstoffreiche synthetische Huminstoffprobe FS-001 ließ, ähnlich wie die Probe HOFA13, aufgrund der Ergebnisse der Einzelementdotierungen stark metallionenbindende Eigenschaften vermuten. Sie wurde mit einem Gemisch der Metallionen  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$  in den Konzentrationsschritten 0,0005, 0,001, 0,005, 0,01, 0,05 und 0,1 mmol/g DOC dotiert. Die Darstellung der Elektropherogramme erfolgt in Abbildung 153 bis Abbildung 158.

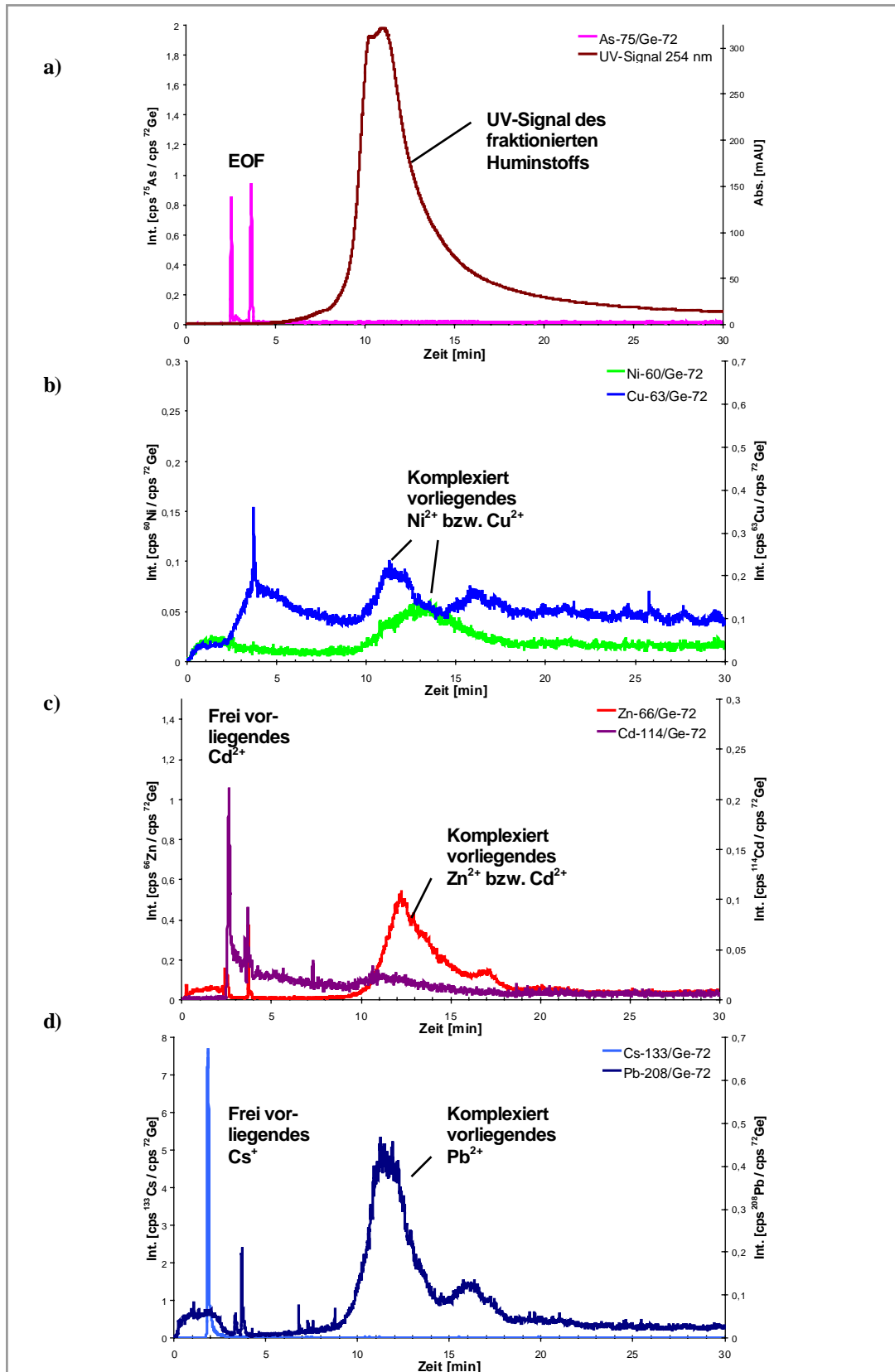


Abbildung 153: Elektropherogramme der auf 0,0005 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-001

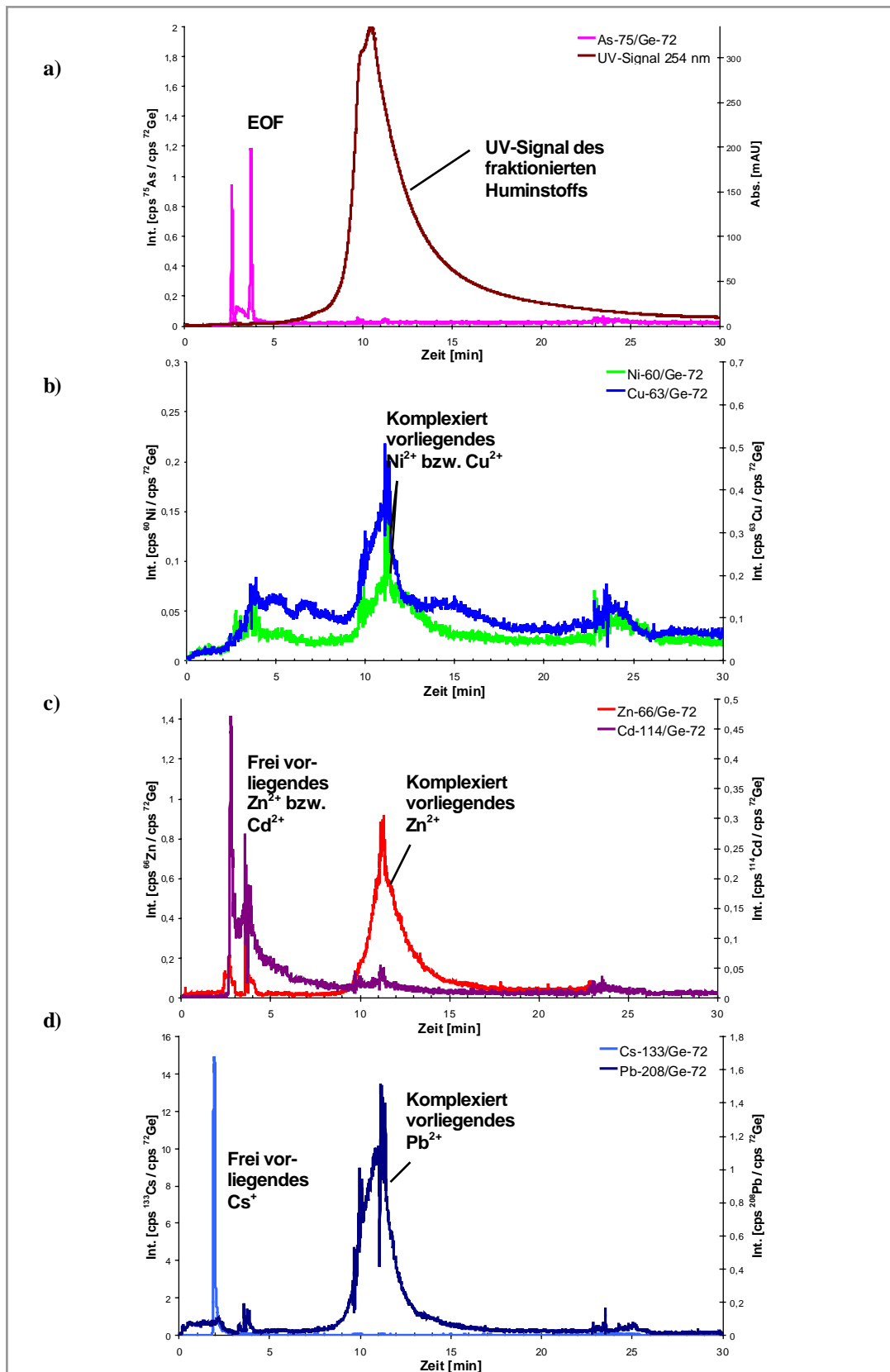


Abbildung 154: Elektropherogramme der auf 0,001 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-001

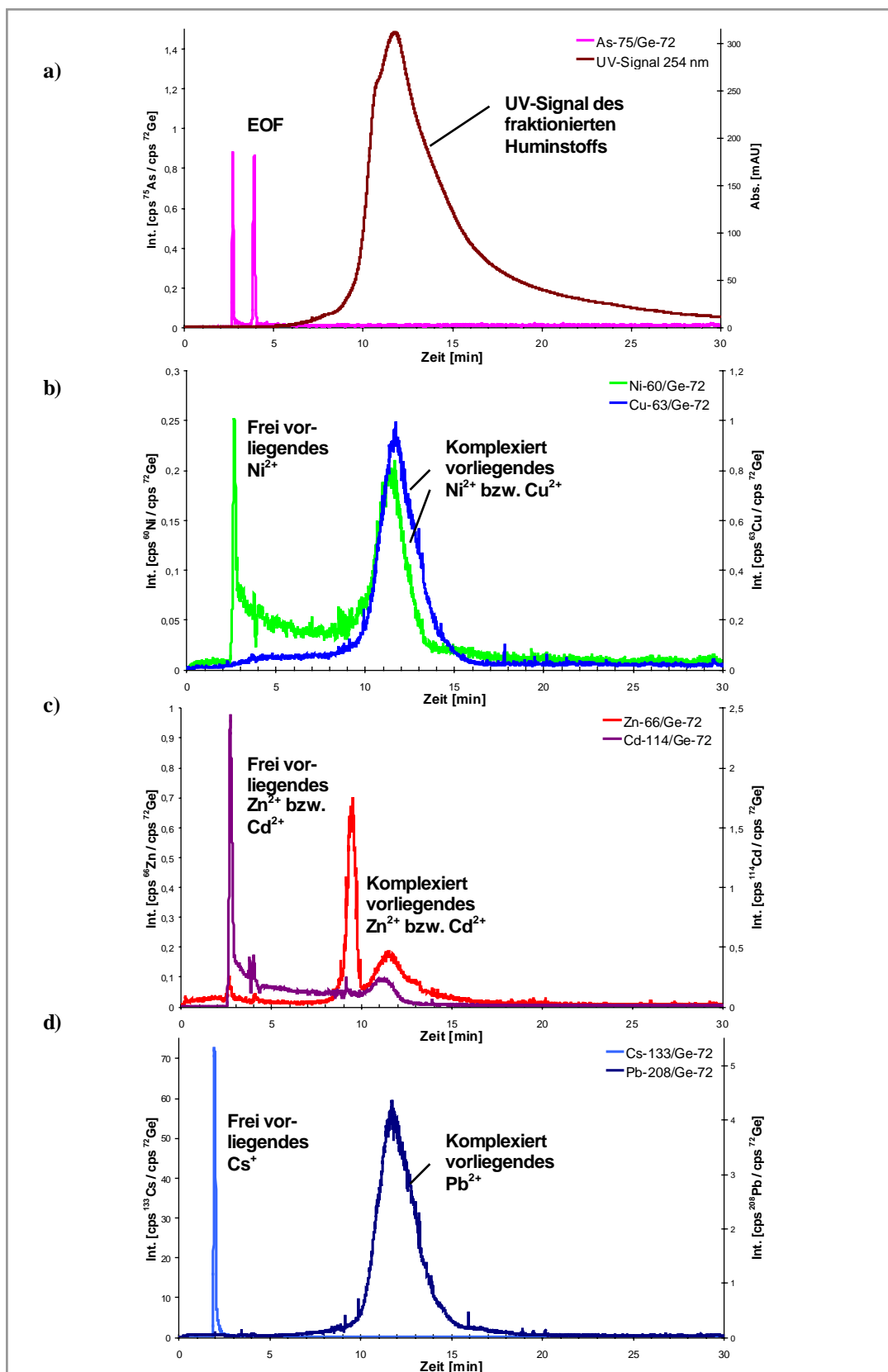


Abbildung 155: Elektropherogramme der auf 0,005 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-001

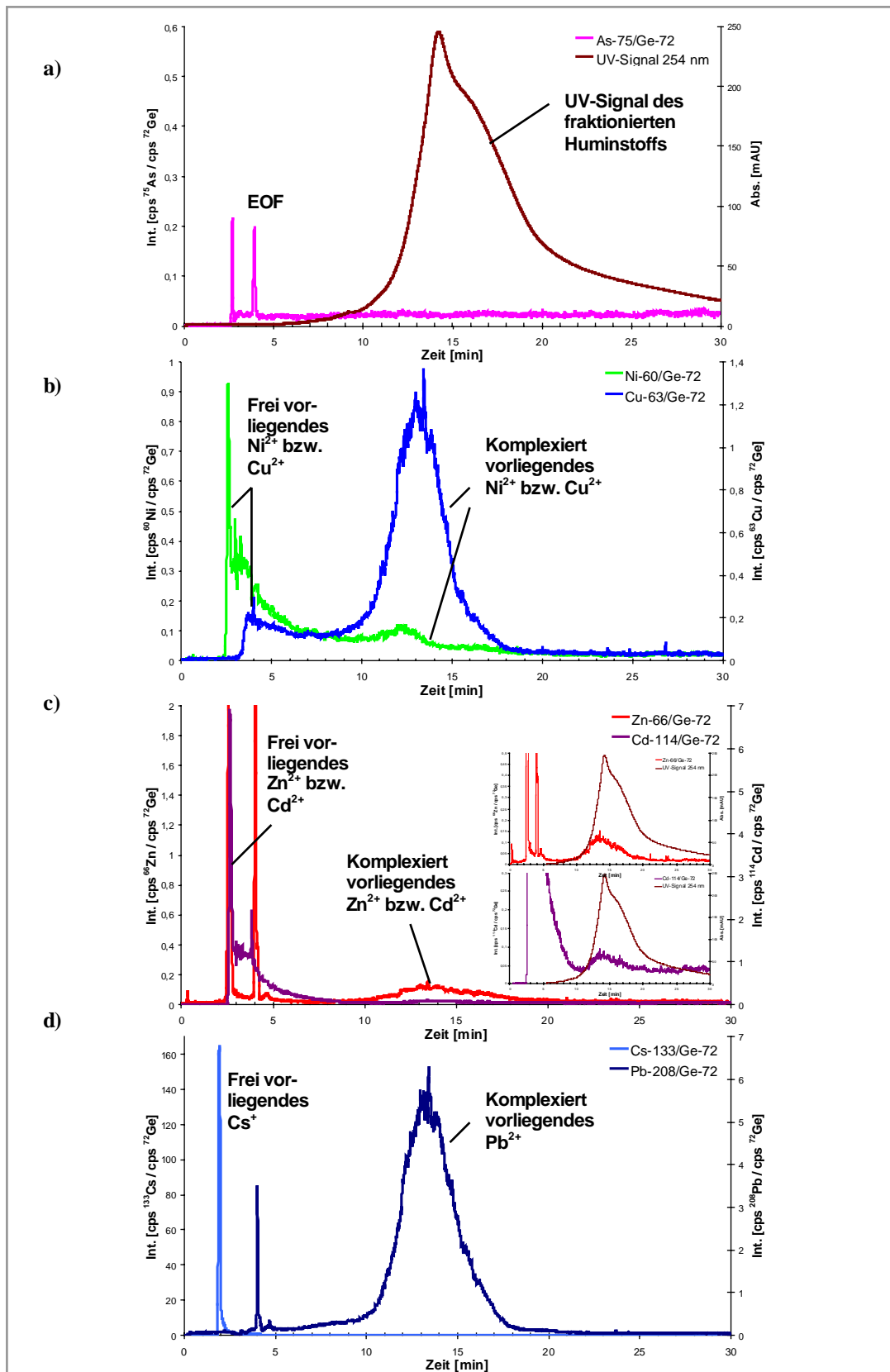


Abbildung 156: Elektropherogramme der auf 0,01 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-001



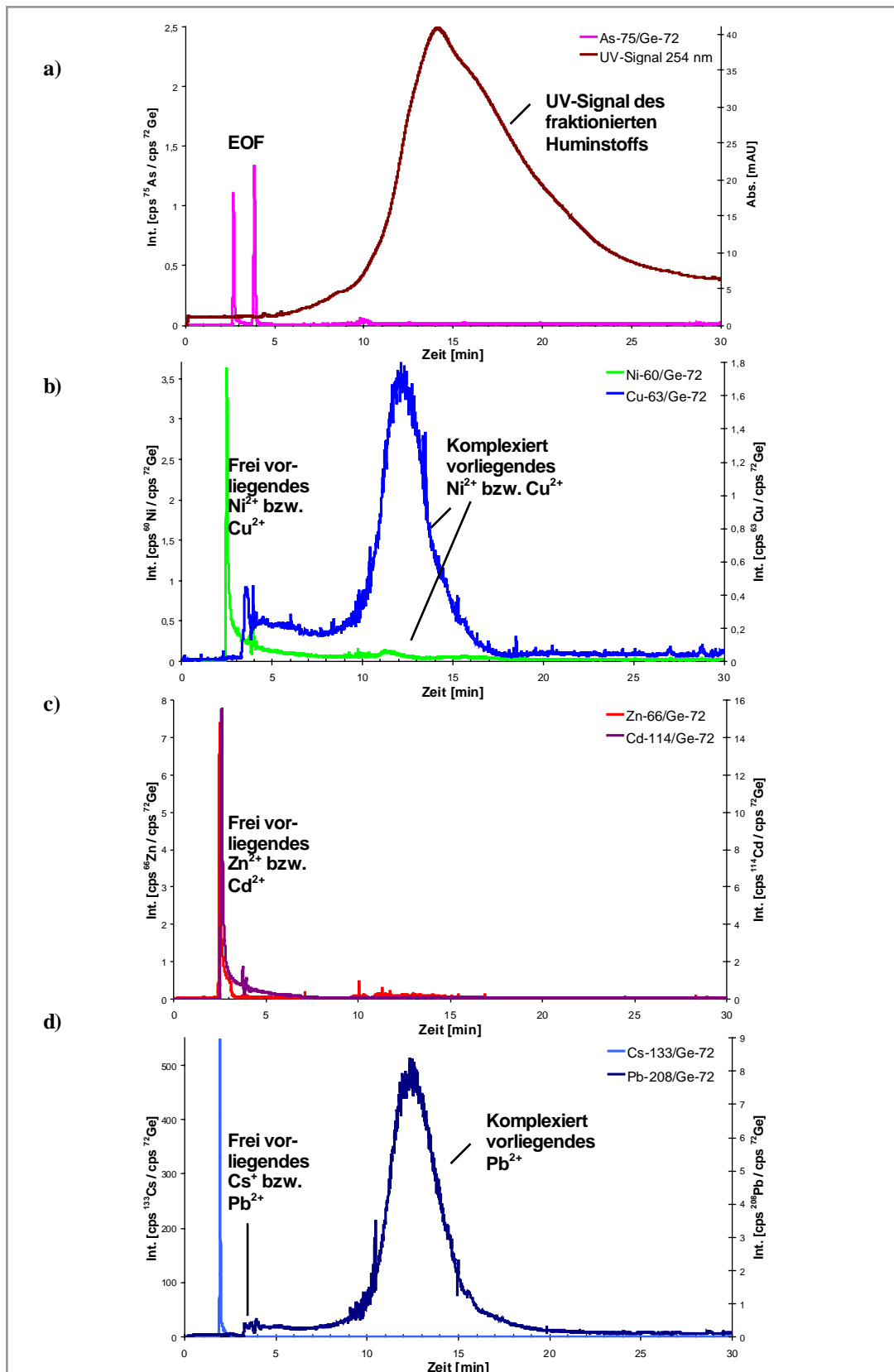


Abbildung 157: Elektropherogramme der auf 0,05 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-001

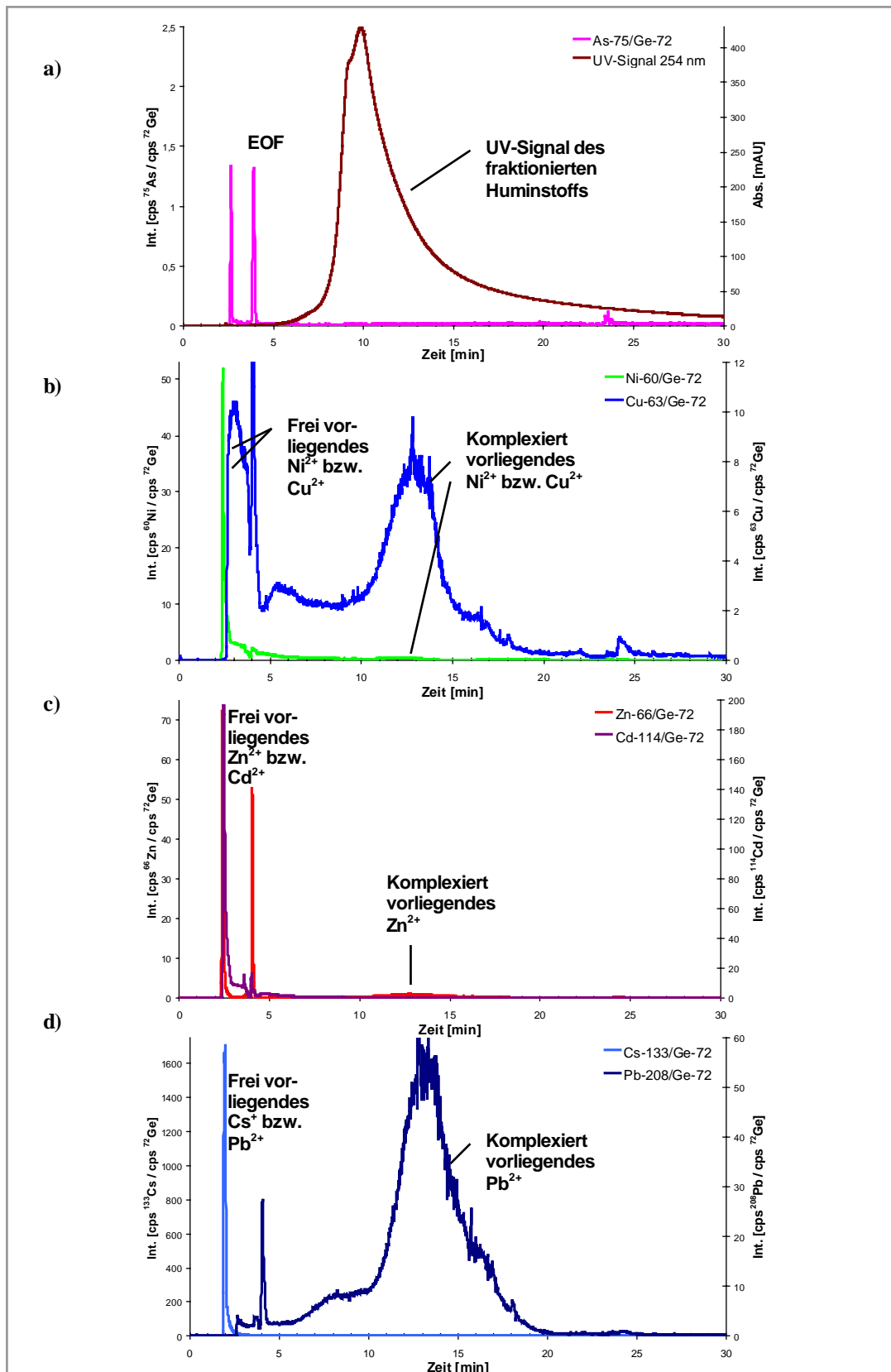


Abbildung 158: Elektropherogramme der auf 0,1 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-001

Bereits bei der ersten Stufe der Dotierung (0,0005 mmol/g DOC) zeigten sich gegenüber der undotierten Probe deutliche Unterschiede im UV-Signal; die Migrationszeit verringerte sich von 16 Minuten auf etwa 11 Minuten und die mittlere Signalbreite wurde geringer. Die beiden für FS-001 typischen Maxima blieben erhalten. Dies war auch bei weiteren Dotierungen der Fall, allerdings mit etwas veränderten Gewichtungen. Das Fraktionierungsverhalten der Fulvinsäure änderte sich mit zunehmender Dotierung, wobei die Migrationszeiten und die mittlere Signalbreite ab der Konzentration 0,005 mmol/g DOC wieder zunahmten, allerdings mit Ausnahme der höchsten Konzentration von 0,1 mmol Metallionen/g DOC.

Bei den Metallsignalen erfolgten mit zunehmender Dotierung wiederum deutliche und verschiedenartige Veränderungen der Signale. Ein Signal freier Nickelionen trat erst nach der Dotierung auf eine Konzentration von 0,005 mmol Metallionen/g DOC auf. FS-001 zeigte damit unter den vorliegenden Bedingungen ein hohes Komplexierungsvermögen gegenüber Nickelionen. Dieses Verhalten des Huminstoffs FS-001 gegenüber Nickelionen hatte sich auch bei den Einzelelementdotierungen (in Abschnitt 3.2.3.3) gezeigt.

Die Kupfer-Elektropherogramme lassen bei niedrigen Dotierungen (0,0005 und 0,001 mmol Metallionen/g DOC) noch zwei Signalerhöhungen zu den Migrationszeiten komplexierter Kupferionen erkennen, weitere Dotierungen führten jedoch zu einem Verschmelzen und der Herausbildung eines starken Signals, das eindeutig komplexierten Kupferionen zuzuordnen ist. Ab einer Metallionenkonzentration von 0,05 mmol/g DOC bildete sich das Signal frei vorliegender  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen heraus, da wahrscheinlich die maximale Komplexierungskapazität der Probe FS-001 gegenüber Kupferionen unter den vorliegenden Bedingungen erreicht war. Eine weitere Steigerung der Dotierung auf 0,1 mmol Metallionen/g DOC zeigte eine Signalstruktur, in der frei vorliegende Kupferionen etwa 50 % ausmachten. Die zugegebenen Kupferionen konnten also durch die Fulvinsäure zu großen Teilen nicht mehr gebunden werden.

Zinkionen wurden durch FS-001 bis zu einer Konzentration von 0,005 mmol Metallionen/g DOC annähernd vollständig komplexiert. Interessant ist das Zink-Elektropherogramm bei dieser Konzentration auch dadurch, dass sich die komplexierten Zinkionen zwei Fraktionen, einer um knapp 10 Minuten und einer weiteren um 11,5 Minuten zuordnen ließen.

Die Elektropherogramme der Cadmiumionen ließen im Fall der Niedrigdotierungen Signale komplexierter Cadmiumionen erkennen. Allerdings war das Signal der frei vorliegenden Cadmiumionen bereits bei einer Konzentration von 0,0005 mmol Metallionen/g DOC sehr hoch, so dass das Komplexierungsvermögen von FS-001 bezüglich  $\text{Cd}^{2+}$  unterhalb dieser Konzentration anzusetzen ist.

Die zugegebenen Bleiionen wurden wiederum in sehr starkem Maße komplexiert. Selbst bei einer Konzentration von 0,1 mmol Metallionen/g DOC war das Signal fast ausschließlich komplexierten Bleiionen zuzuordnen. Damit komplexierte FS-001 Bleiionen in noch stärkerem Maße als Kupferionen.

Cäsiumionen wurden auch im Falle dieser Probe nicht komplexiert.

*Fazit:* Die gleichzeitige Dotierung der Fulvinsäure FS-001 mit den Ionen von 6 Metallen führte im Vergleich zur Probe HOFA13 zu etwas unregelmäßigen Änderungen im Fraktionierungsverhalten. Es ergab sich folgende Reihenfolge der Komplexierbarkeit:  $\text{Pb}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+} \gg \text{Cs}^+$ .

Auch hier lagen in der Konkurrenzsituation jeweils die Konzentrationen, ab derer das Signal freier Metallionen auftrat, im Vergleich zur Dotierung mit den Ionen von Kupfer, Cadmium bzw. Nickel niedriger (Abschnitt 3.2.3.3).

#### **3.2.4.4 FS-023**

Die Dotierung des stickstoffhaltigen synthetischen Fulvinsäuremodells FS-023 mit dem Gemisch der Metallionen  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$  erfolgte in den Konzentrationsschritten 0,0005, 0,001, 0,005, 0,01, 0,05 und 0,1 mmol/g DOC. Abbildung 159 bis Abbildung 163 zeigt die Ergebnisse.

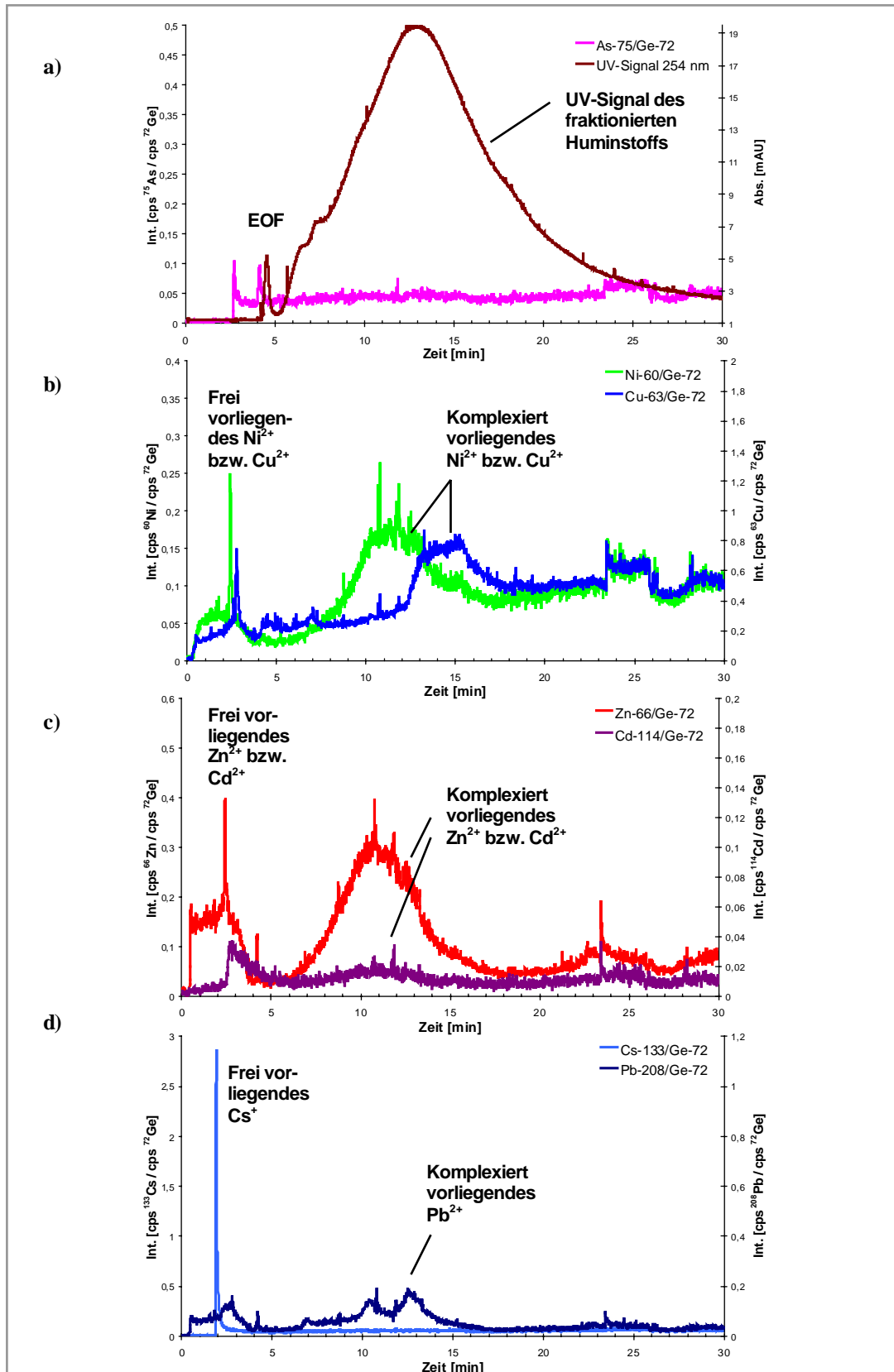


Abbildung 159: Elektropherogramme der auf 0,0005 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-023

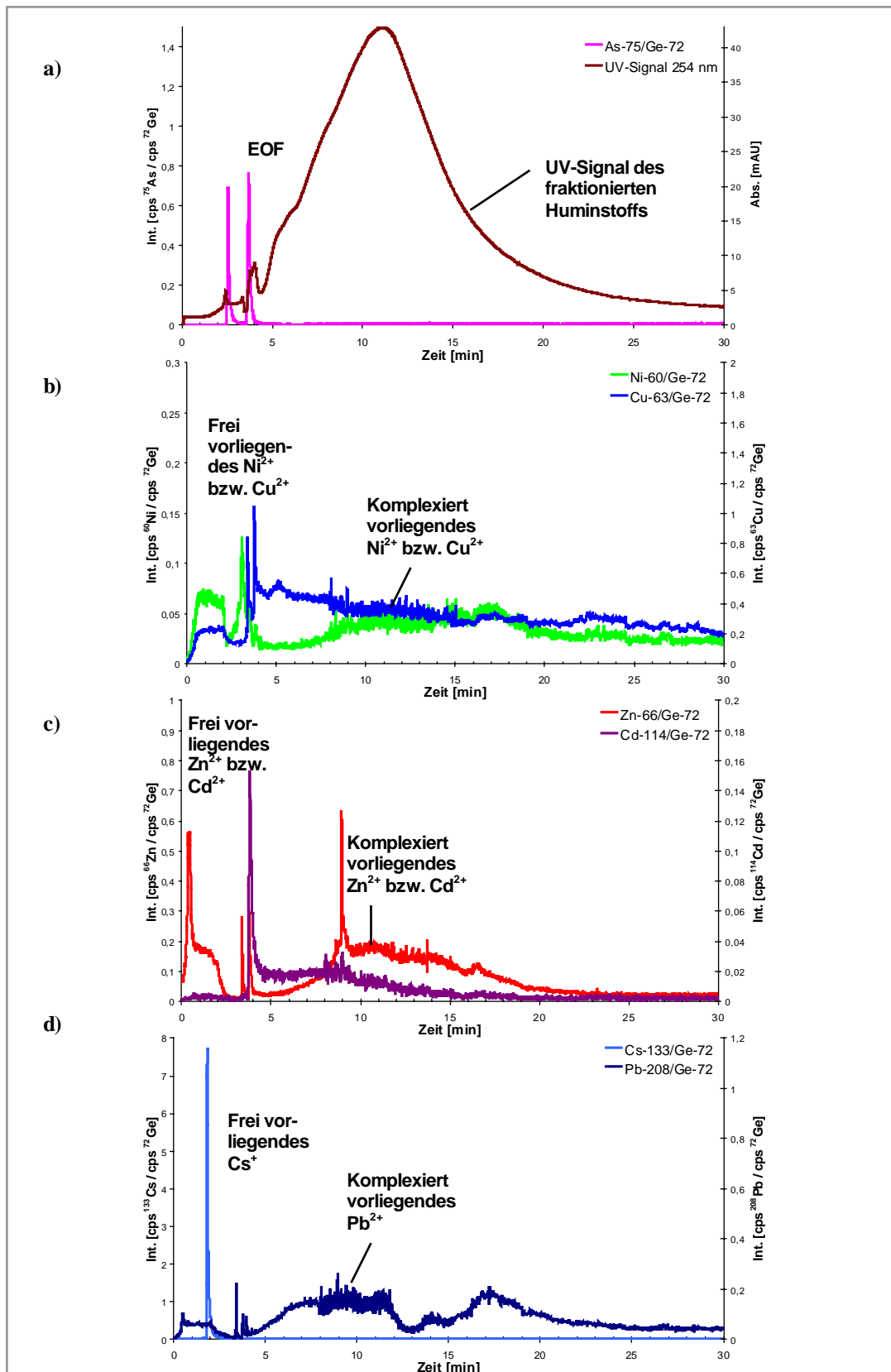


Abbildung 160: Elektropherogramme der auf 0,001 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-023

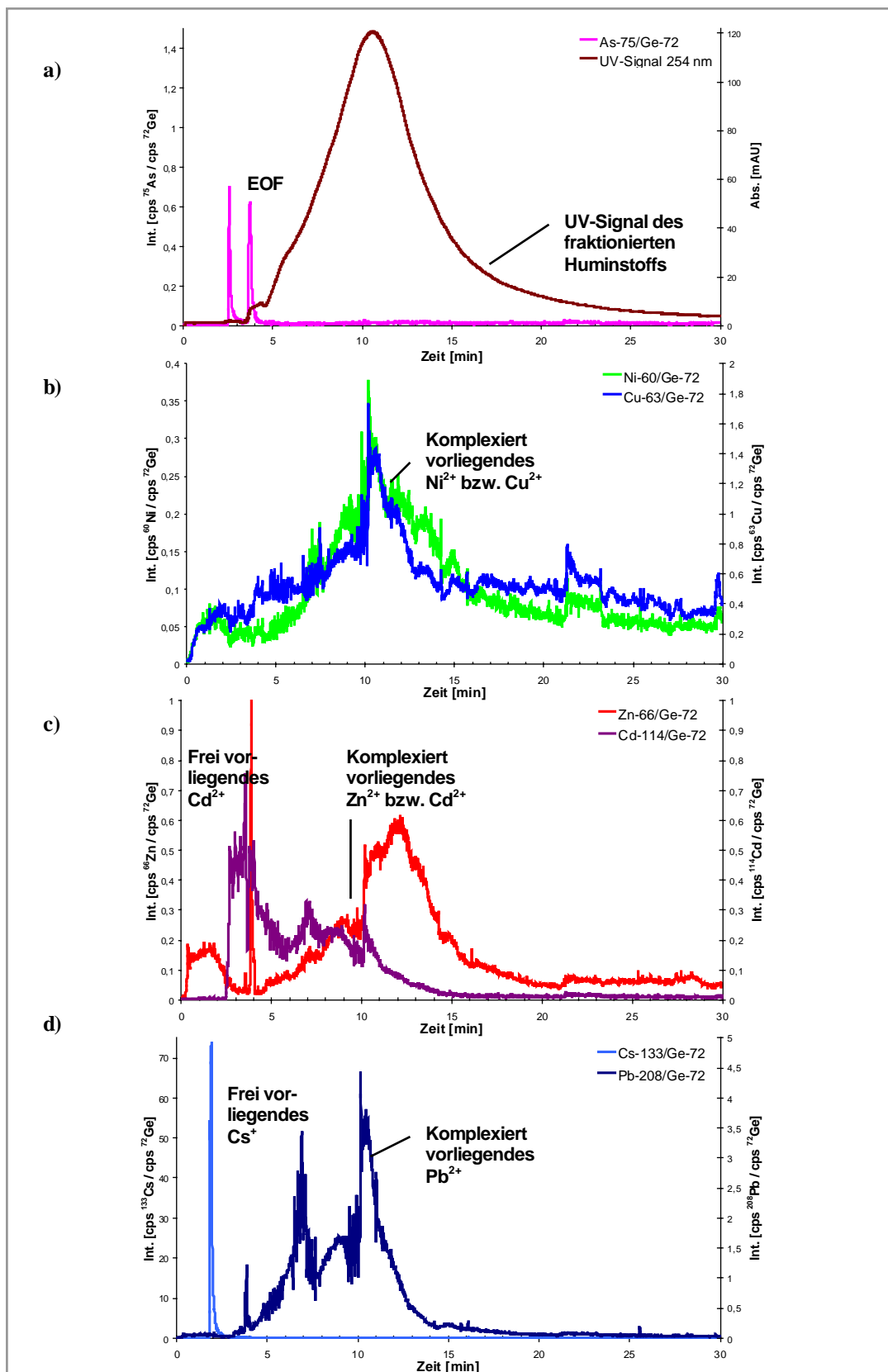


Abbildung 161: Elektropherogramme der auf 0,005 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-023

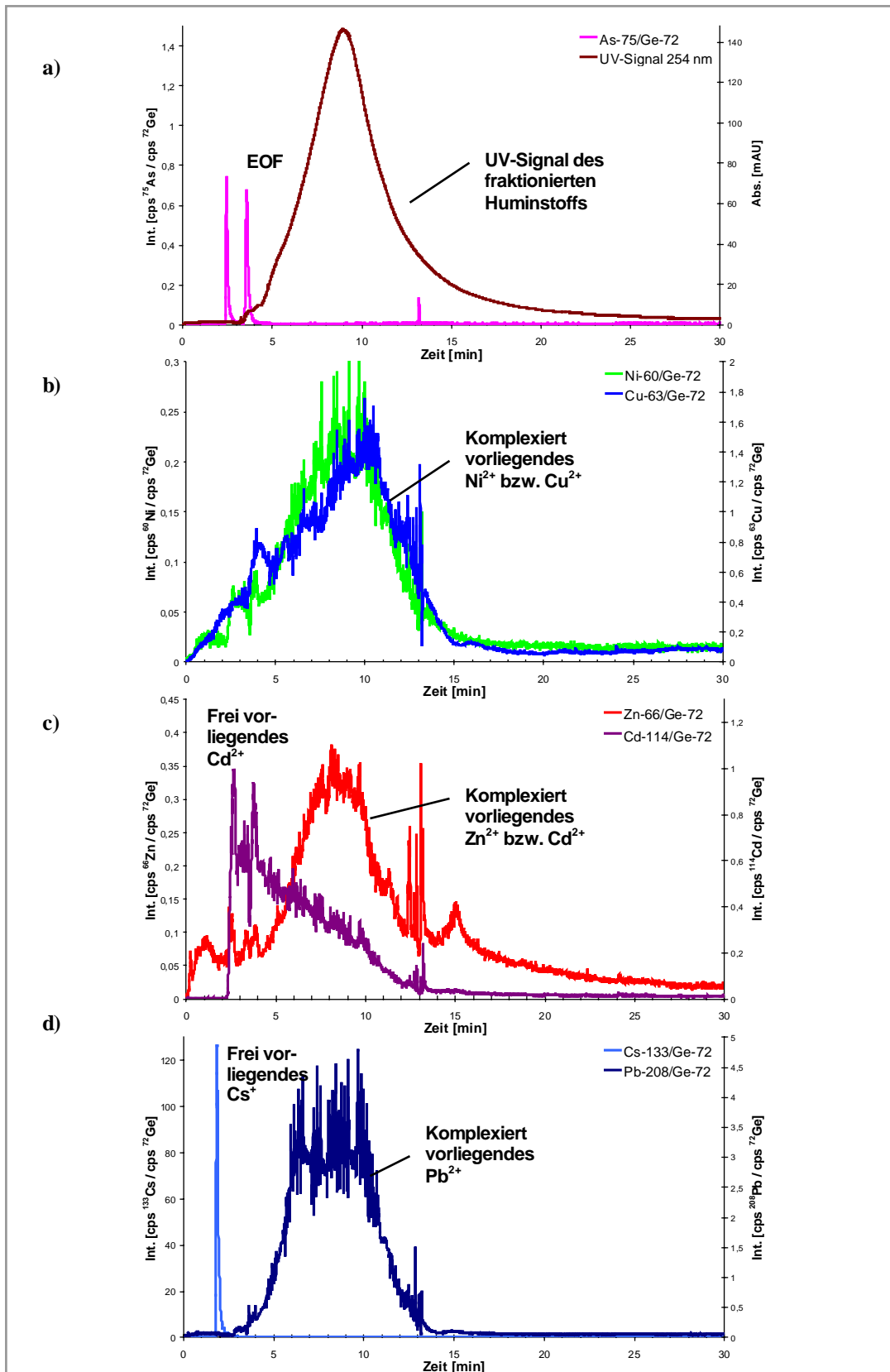


Abbildung 162: Elektropherogramme der auf 0,01 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-023



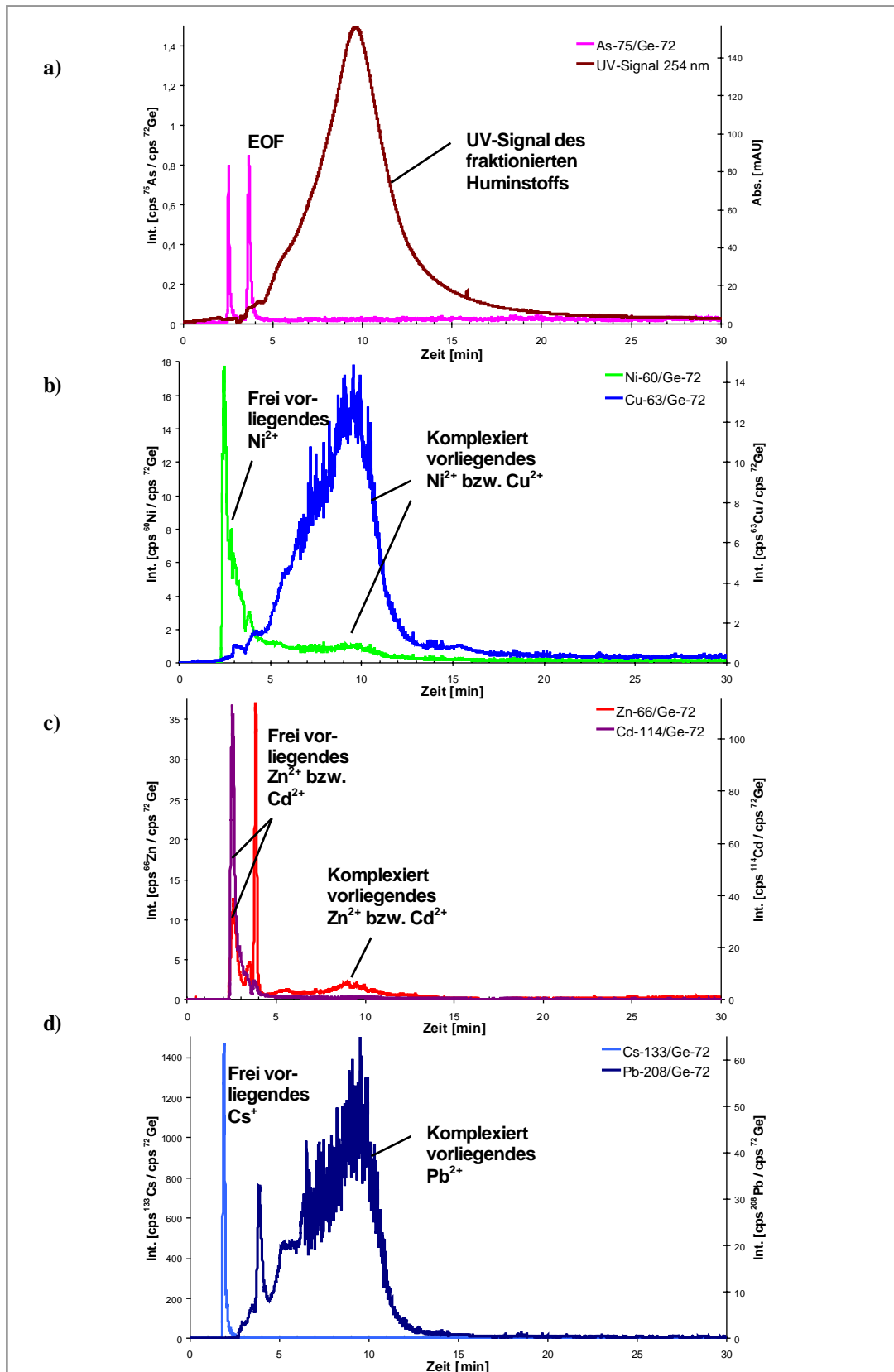


Abbildung 163: Elektropherogramme der auf 0,1 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-023

Das Fraktionierungsverhalten der Probe FS-023 änderte sich bei der gemeinsamen zunehmenden Dotierung deutlich schwächer als im Falle der Proben HOFA13 bzw. FS-001. Die leichte Schulter im UV-Signal bei etwa 6 Minuten blieb auch nach Dotierung auf höhere Konzentrationen an Metallionen erhalten.

Bezüglich der Metallionen sind die erhaltenen Elektropherogramme vergleichsweise unruhig. Die Änderungen mit zunehmender Dotierung lassen sich aber deutlich verfolgen. Nach Zudotierung der Metallionen bis zu 0,01 mmol Metallionen/g DOC wurde  $\text{Ni}^{2+}$  vollständig komplexiert. Erst ab einer Konzentration von 0,05 mmol Metallionen/g DOC trat das Signal freier Nickelionen auf. FS-023 komplexierte unter den vorliegenden Bedingungen zwischen 0,01 und 0,05 mmol  $\text{Ni}^{2+}$ /g DOC. Gegenüber Nickelionen zeigte FS-023 damit im Vergleich zu den anderen Proben sehr stark komplexierende Eigenschaften.

Die hohe Komplexierungspotenz zeigte sich auch im Falle der zugefügten Kupferionen. Bis zur maximal untersuchten Konzentration von 0,1 mmol Metallionen/g DOC trat kein Signal frei vorliegender Kupferionen auf. Damit war die Komplexierungskapazität dieser synthetischen Fulvinsäure bezüglich  $\text{Cu}^{2+}$  unter den Bedingungen der simultanen Dotierung mit über 0,1 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC sehr hoch.

Zinkionen wurden ähnlich wie die Nickelionen durch FS-023 bis zu einer Konzentration von 0,01 mmol Metallionen/g DOC annähernd vollständig komplexiert. Ab 0,05 mmol Metallionen/g DOC trat ein deutliches Signal frei vorliegender Zinkionen auf.

Freie Cadmiumionen ließen sich bereits im Elektropherogramm der auf eine Konzentration von 0,0005 mmol Metallionen/g DOC dotierten Probe ausmachen. Allerdings wurde durch FS-023 bis zu einer Konzentration von 0,005 mmol Metallionen/g DOC auch ein deutlicher Teil der zugefügten  $\text{Cd}^{2+}$ -Ionen komplexiert.

Auch die zugegebenen Bleiionen wurden, ähnlich wie die Kupferionen, in sehr starkem Maße komplexiert. Selbst bei einer Konzentration von 0,1 mmol Metallionen/g DOC wurde fast ausschließlich ein Signal erhalten, das komplexierten Bleiionen zuzuordnen war.

Eine Komplexierung der Cäsiumionen erfolgte nicht.

*Fazit:* Die gemeinsame Dotierung der Modell-Fulvinsäure FS-023 mit den Ionen von 6 Metallen zeigte die sehr stark komplexierenden Eigenschaften dieser stickstoffhaltigen Probe gegenüber den untersuchten Metallionen auf. Die durch die Dotierung verursachten Veränderungen im Fraktionierungsverhalten der Probe waren vergleichsweise gering, was sich auch bei der alleinigen Dotierung mit Kupfer- bzw. Cadmiumionen gezeigt hatte. Für die zudotierten Metallionen ergab sich folgende Reihenfolge der Stärke ihrer Komplexierbarkeit:  $\text{Cu}^{2+} \geq \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+} \geq \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+} \gg \text{Cs}^+$ .

### 3.2.4.5 FS-018

Auch die stark stickstoff- und schwefelhaltige synthetische Modell-Fulvinsäure FS-018 wurde mit dem Gemisch der Metallionen  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$  dotiert. Die erhaltenen Elektropherogramme der Konzentrationsschritte 0,001, 0,005, 0,01, 0,05 und 0,1 mmol Metallionen/g DOC sind in Abbildung 164 bis Abbildung 168 dargestellt.

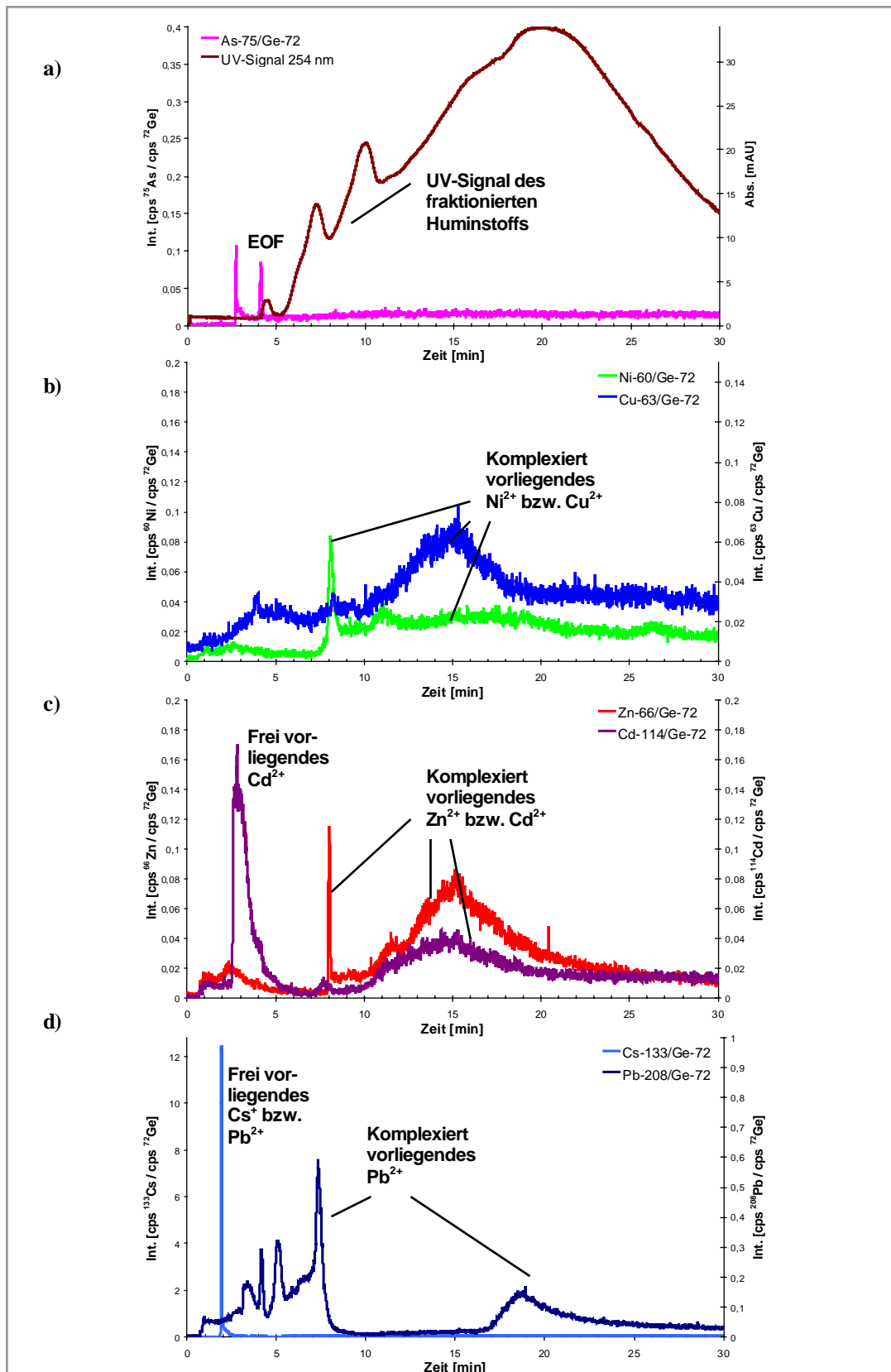


Abbildung 164: Elektropherogramme der auf 0,001 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-018

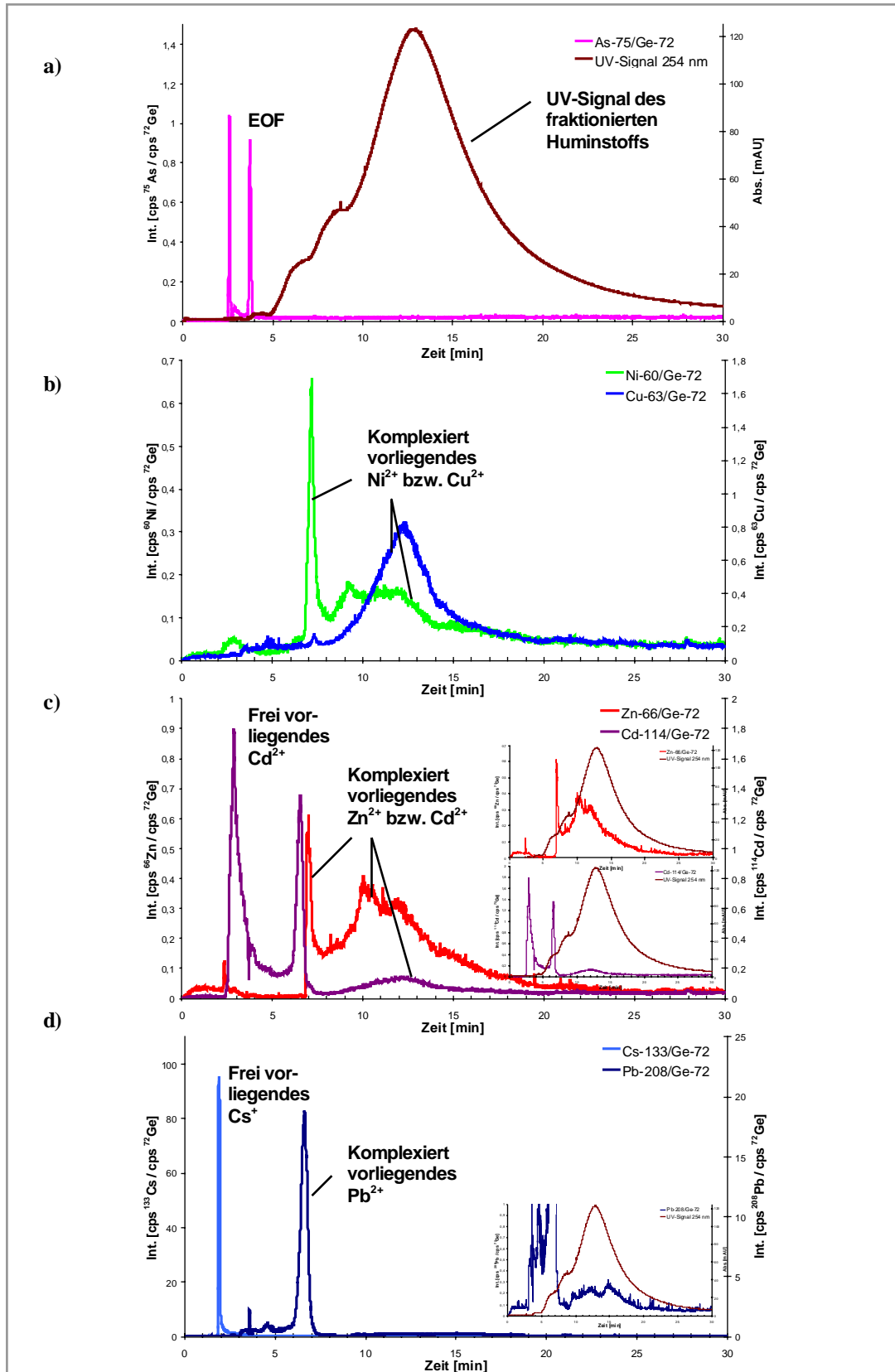


Abbildung 165: Elektropherogramme der auf 0,005 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-018

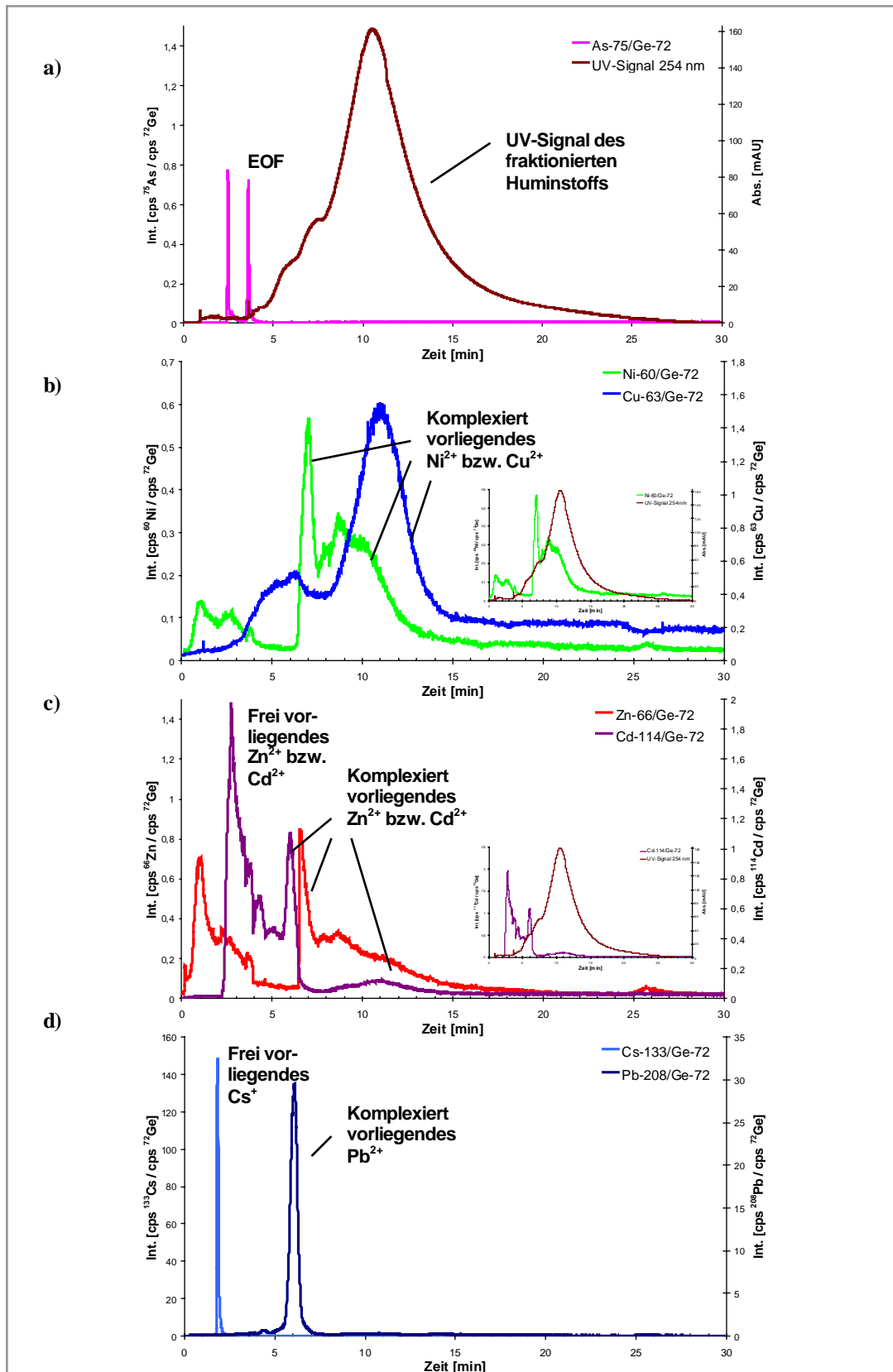


Abbildung 166: Elektropherogramme der auf 0,01 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-018

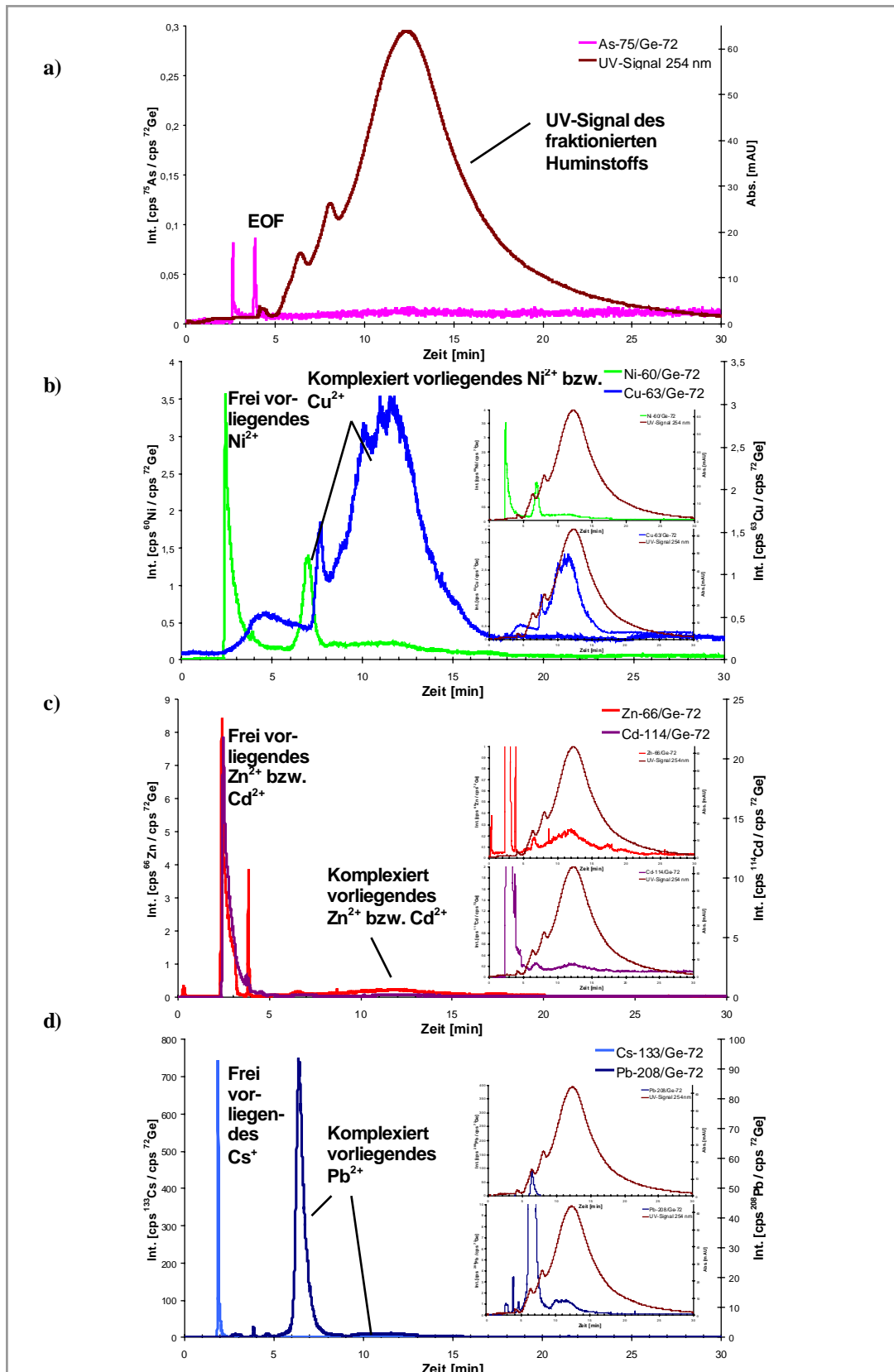


Abbildung 167: Elektropherogramme der auf 0,05 mmol Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>/g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-018

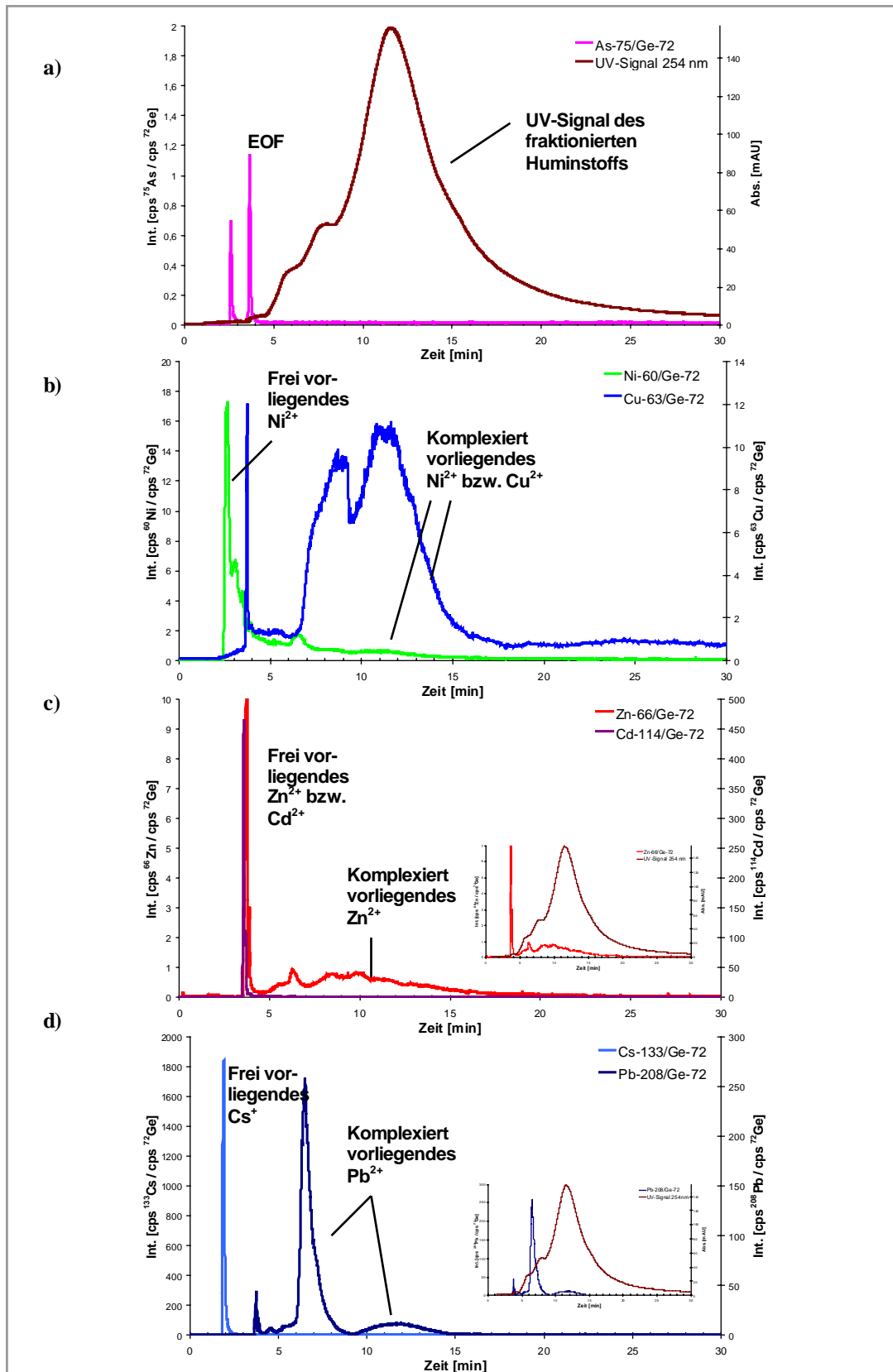


Abbildung 168: Elektropherogramme der auf 0,1 mmol  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$ /g DOC dotierten Huminstoffprobe FS-018



Bereits bei der undotierten Probe fielen Schultern im vorderen, ansteigenden Bereich des UV-Signals der fraktionierten Huminstoffprobe auf. Bei allen untersuchten Metallionenkonzentrationen blieben diese erhalten, wenn auch bei steigenden Konzentrationen der zugefügten Metallionen in abgeschwächter Form. Die mittlere Migrationszeit und Signalbreite nahm dagegen mit zunehmender Dotierung ab.

Die Metallsignale hatten eine gemeinsame, besonders interessante Eigenschaft: die starke Komplexierung der Metallkationen erfolgte offensichtlich in sehr unterschiedlichem Ausmaße in den verschiedenen Fraktionen dieser Fulvinsäure. Schon die erste Zudotierung von Metallionen (Abbildung 164) führte zu einer Komplexierung eines großen Teils der  $\text{Ni}^{2+}$ -Ionen, die sich in der diskreten Fulvinsäure-Fraktion um 7,5 Minuten zeigten. Die Dotierungen mit 0,005 und 0,01 mmol Metallionen/g DOC führten zu Signalen fast vollständig komplexierter Nickelionen, wobei die Huminstoff-Fraktion um 7 Minuten in besonders starkem Maße komplexierte  $\text{Ni}^{2+}$ -Ionen enthielt.

Die stark komplexierenden Eigenschaften von FS-018 führten zur vollständigen Komplexierung der Kupferionen bis zu der höchsten untersuchten Konzentration von 0,1 mmol/g Metallionen/g DOC. Auch hier fiel auf, dass die verschiedenen Fraktionen dieser Fulvinsäure unterschiedlich stark komplexierende Eigenschaften haben, allerdings war dieser Effekt bei den Kupferionen geringer als bei den anderen untersuchten Ionen.

Die Komplexierung der Zinkionen erfolgte sehr ähnlich zu der der Nickelionen. Bis zu einer Konzentration von 0,01 mmol Metallionen/g DOC wurden sie weitgehend komplexiert. Auch hier war eine Abhängigkeit von der jeweiligen Fraktion des Huminstoffs festzustellen.

Bemerkenswert war auch das Verhalten von FS-018 gegenüber Cadmiumionen, die üblicherweise nur schwach von Huminstoffen komplexiert werden. Zwar trat bereits bei 0,0005 mmol Metallionen/g DOC ein deutliches Signal frei vorliegender Cadmiumionen auf, dennoch war ein deutlicher Teil der  $\text{Cd}^{2+}$ -Ionen auch bei einer Konzentration von 0,01 mmol Metallionen/g DOC noch komplexiert. Eine frühe Fraktion der Fulvinsäure FS-018 zeigte dabei besonders stark komplexierende Eigenschaften.

Eine annähernd vollständige Komplexierung der Bleiionen erfolgte bis einschließlich 0,1 mmol Metallionen/g DOC. Auch hier zeigte sich eine besonders starke Abhängigkeit von den Fraktionen der Fulvinsäure.

Eine Komplexierung der Cäsiumionen erfolgte wiederum nicht.

*Fazit:* Die Dotierung mit einem Gemisch der Ionen von 6 Metallen zeigte die stark komplexierenden Eigenschaften der stickstoff- und schwefelhaltigen synthetischen Huminstoffprobe FS-018 gegenüber den untersuchten Metallionen. Insbesondere fiel ein unterschiedlich stark komplexierendes Verhalten der verschiedenen Fraktionen gegenüber den

Metallkationen auf. Für die Stärke der Komplexierbarkeit ergab sich die Reihenfolge:  $\text{Cu}^{2+} \geq \text{Pb}^{2+} > \text{Ni}^{2+} \geq \text{Zn}^{2+} > \text{Cd}^{2+} \gg \text{Cs}^+$ .

### **3.2.5 Untersuchungen zur Kinetik bei der Beladung von Huminstoffen mit Metallionen**

Bei den bisher gezeigten Dotierungen von Huminstoffen mit Metallionen betrug die Kontaktzeit vor der Messung 1 Stunde. Um den Einfluss der Einwirkungsdauer zudotierter Metallionen auf eine Huminstoffprobe abzuklären und damit pauschale Informationen über die Komplexierungskinetik zu erhalten, wurden am Beispiel der Probe HOFA13 die Kontaktzeiten variiert.

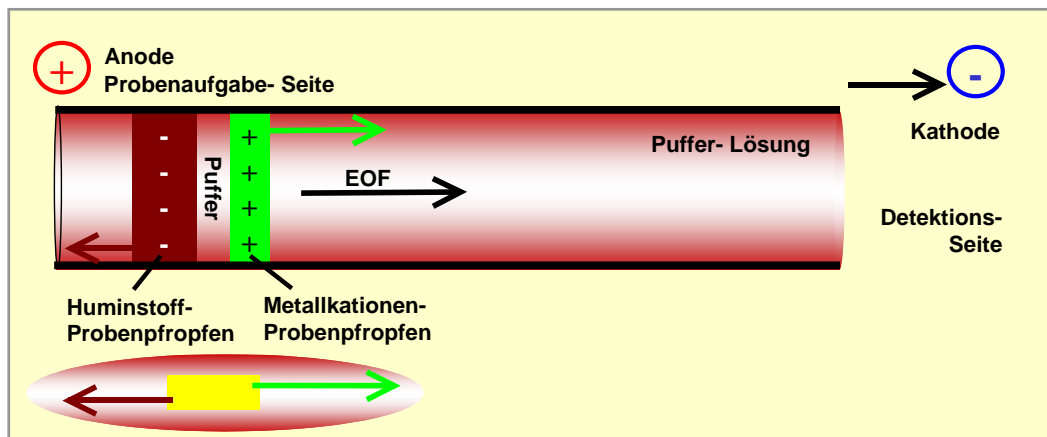
#### **3.2.5.1 Minimale Kontaktzeit: Reaktionen von Huminstoffen mit einer Metallionen-Standardlösung in der Kapillare**

Fließgewässer sind hochdynamische Systeme, in denen Fließgleichgewichte vorliegen. Dabei steht der gelöste Anteil insbesondere mit partikulärer bzw. kolloidaler Materie wie den Huminstoffen in ständiger Wechselwirkung.

Um die Stärke möglicher Wechselwirkungen zwischen gelösten Metallionen und Huminstoffen bei sehr kurzen Kontaktzeiten unter den Bedingungen eines Fließgleichgewichtes in Anlehnung an reale Vorgänge zu simulieren, wurden eine Metallionen-Standardlösung und eine Huminstoffprobe miteinander in einer CE-Kapillare in Kontakt gebracht.

Nach Anlegen eines elektrischen Feldes migrieren die Metallkationen in Richtung der Kathode und die partiell negativ geladenen Huminstoffmoleküle in Richtung der Anode. Wird die Huminstoffprobe zuerst aufgegeben und anschließend die Metallionen-Standardlösung, so müssen die Metallkationen und die Huminstoffmoleküle aneinander vorbei migrieren.

Zunächst wurde der Versuch so durchgeführt, dass sich die Wege der beiden Probenpfropfen nicht kreuzten, um die einzelnen Signale deutlich zuordnen zu können. Die Metallionen-Standardlösung ( $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$ , je 50  $\mu\text{g/L}$ ) und die Huminstofflösung (1  $\text{mg/mL}$ ) wurden einzeln und durch einen kleinen Pufferpfropfen voneinander getrennt in die Kapillare injiziert. Probenaufgabe und Migrationsrichtungen sind in Abbildung 169 veranschaulicht.



**Abbildung 169: Schematische Darstellung der Probenaufgabe bei sich nicht kreuzenden Lösungen**  
*Reihenfolge der Proben-Injektion: 1.) Metallionen-Standardlösung, 2.) Pufferlösung, 3.) Huminstoffprobe*

Die bei diesem Vorgehen erhaltenen Elektropherogramme sind in Abbildung 170 dargestellt. Sie verhalten sich etwa wie die Summe der Elektropherogramme der reinen Metallionen-Standardlösung und der Lösung der Huminstoffprobe HOFA13.

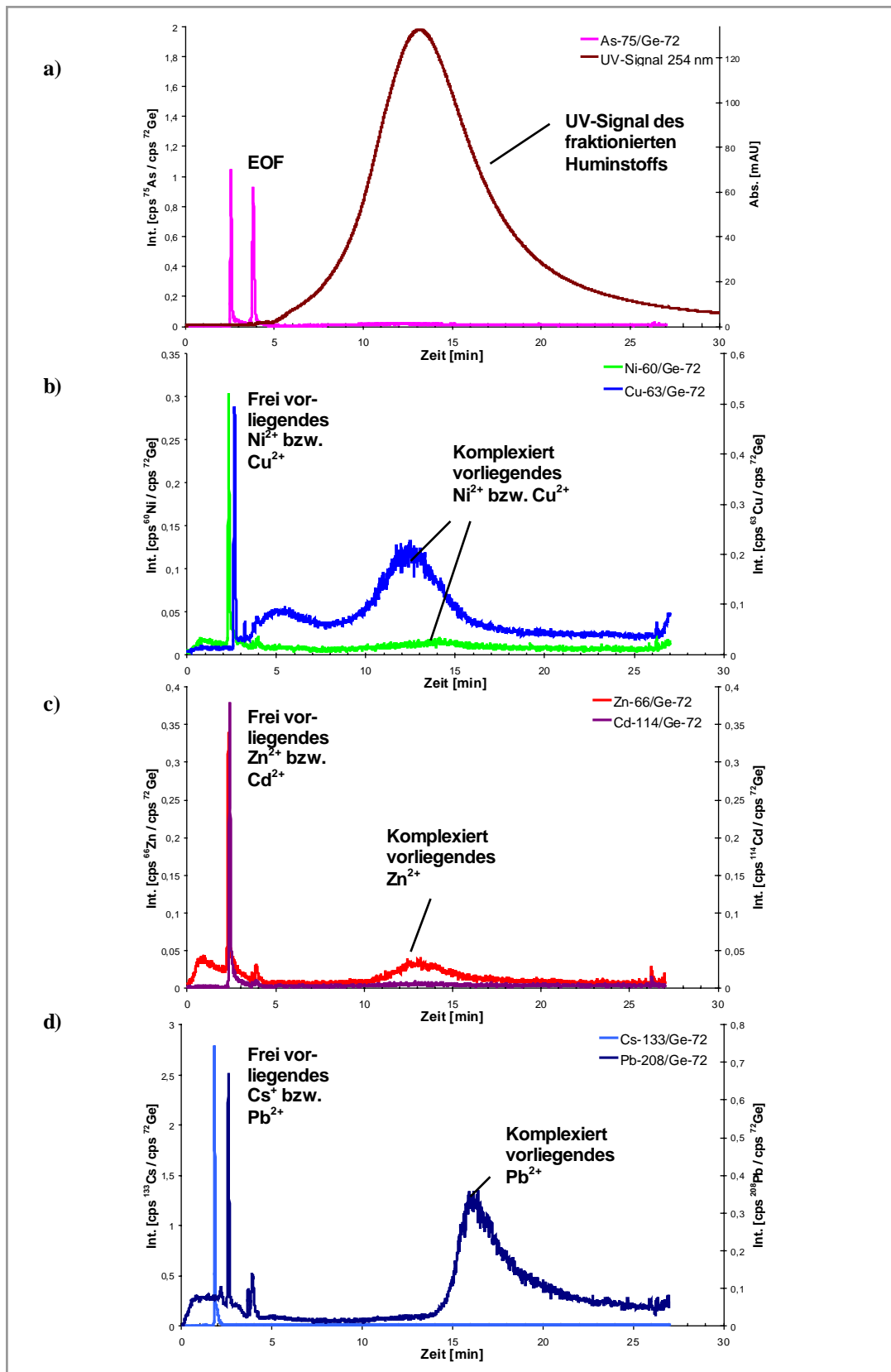
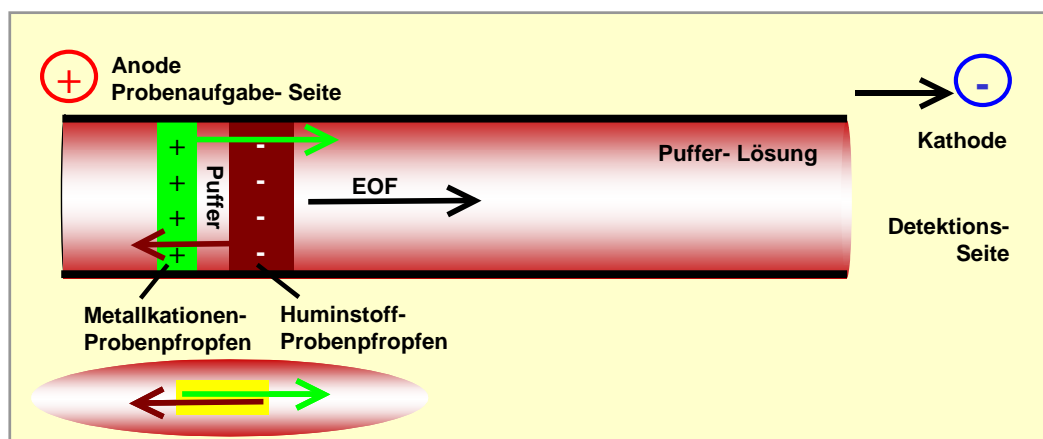


Abbildung 170: Elektropherogramme nach Injektion eines Metallionenstandards (Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>, je 50 µg/L) und der pfpfropfengetrennten Huminstoffprobe HOFA13 (1 mg/mL)

Sehr deutlich sind jeweils die Signale der freien Ionen  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$  bei Migrationszeiten von etwa 3 Minuten zu erkennen. Zusätzlich sind im Bereich zwischen 10 und 20 Minuten die Signale huminstoffkomplexierter Metallkationen (insbesondere im Falle von Nickel, Kupfer, Zink und Blei) zu sehen, die auf die originär in der Probe HOFA13 komplexiert vorliegenden Ionen zurückzuführen sind.

Im Anschluss wurde die Reihenfolge der Probenaufgaben umgedreht, um die Wechselwirkungen zwischen Huminstoff und Metallkationen bei sehr kurzen Kontaktzeiten zu untersuchen. Die Probenaufgabe und die Migrationsrichtungen sind in Abbildung 171 veranschaulicht.



**Abbildung 171: Schematische Darstellung der Probenaufgabe bei sich kreuzenden Lösungen**

*Reihenfolge der Proben-Injektion: 1.) Huminstoffprobe, 2.) Pufferlösung, 3.) Metallionen-Standardlösung*

Die bei dieser Versuchsdurchführung erhaltenen Elektropherogramme sind in Abbildung 172 dargestellt. Sie haben einen erheblich anderen Charakter.

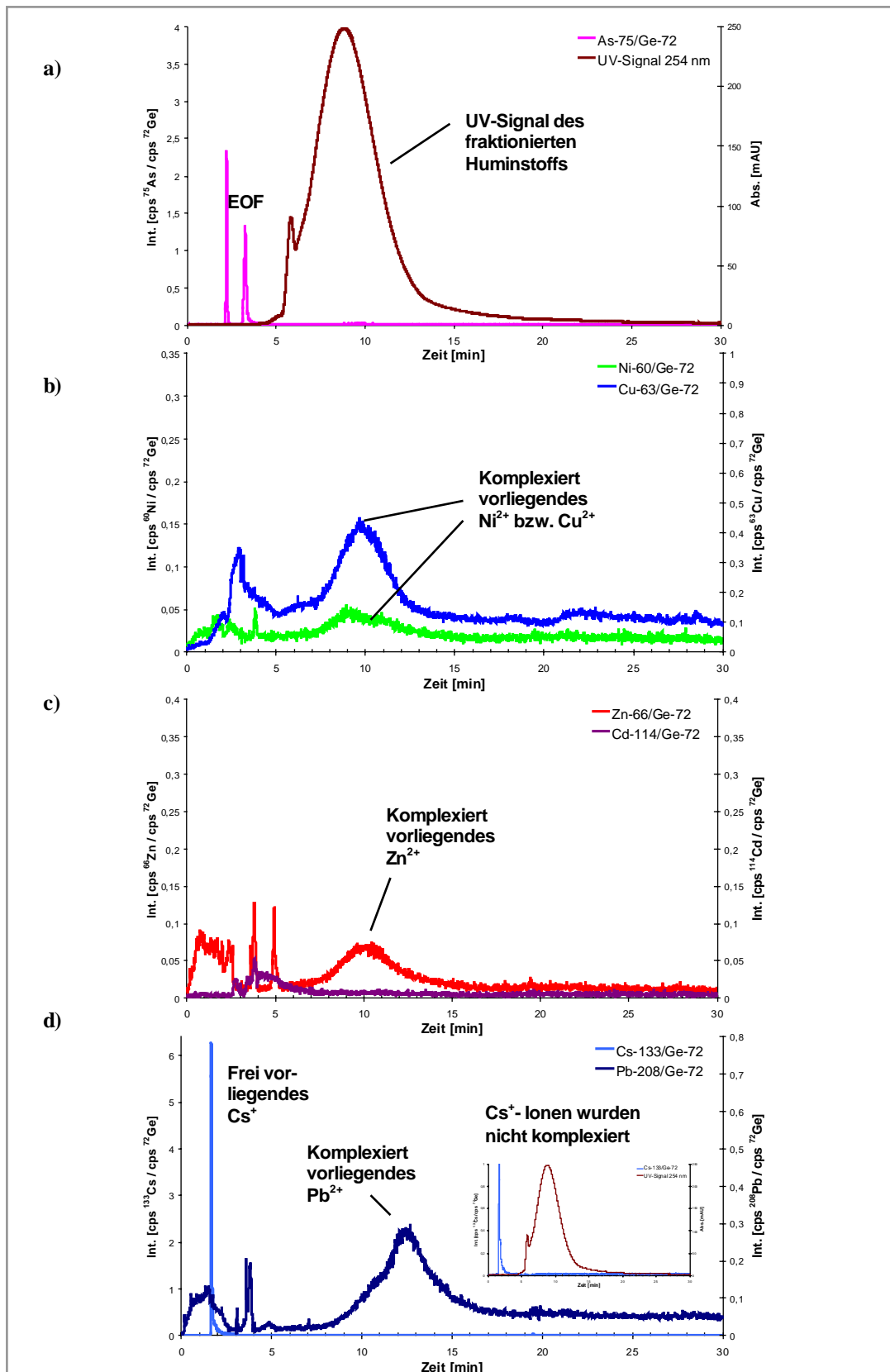


Abbildung 172: Elektropherogramme nach Injektion der Huminstoffprobe HOFA13 (1 mg/mL) und eines Metallionenstandards (Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup>, je 50 µg/L)

Ein deutliches Signal frei vorliegender Metallkationen wurde - wie erwartet - nur im Falle von Cäsium erhalten. Alle anderen Metallsignale weisen erhebliche Veränderungen auf. Die scharfen Signale der freien Kationen sind erheblich zugunsten einer Erhöhung der Signale huminstoffkomplexierter Metallkationen reduziert. Selbst die minimale Kontaktzeit von wenigen Minuten führte unter den Bedingungen der kapillarelektrophoretischen Trennung innerhalb der Kapillare zu einer weitgehenden Wechselwirkung und Komplexierung der injizierten  $\text{Ni}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -,  $\text{Cd}^{2+}$ - und  $\text{Pb}^{2+}$ - Ionen durch die Huminstoffprobe HOFA13.

Die mittlere Migrationszeit verringerte sich auf etwa 9 Minuten bei reduzierter Breite des UV-Signals. Dieses Verhalten könnte auf Koagulation und Reduzierung der negativen Ladungen der Huminstoffmoleküle durch die Komplexierung der Metallkationen zurückzuführen sein.

Bei den Proben OR02RM und FS-001 zeigten sich in den beschriebenen Versuchen ähnliche Ergebnisse. Der Effekt war bei OR02RM allerdings etwas geringer, was vermutlich mit der bereits beobachteten Sättigung der Komplexierungskapazität vor der weiteren Dotierung zusammenhängt.

*Fazit:* Bereits eine sehr geringe Kontaktzeit zwischen Huminstoffmolekülen und Metallkationen von wenigen Minuten unter den Bedingungen des Fließgleichgewichtes der kapillarelektrophoretischen Trennung reicht aus, um starke Wechselwirkungen und Komplexierungen der Metallionen durch den Huminstoff zu realisieren.

### 3.2.5.2 Situation bei ansteigenden Kontaktzeiten

Nachdem die Untersuchung minimaler Kontaktzeiten zwischen Huminstoffprobe und Metallionen-Standardlösung in der CE-Kapillare bereits nach wenigen Minuten teilweise starke Wechselwirkungen gezeigt hatte, wurde nun die Frage nach dem Einfluss der Zeit auf das Ausmaß der Komplexbildung der verschiedenen Metallionen durch eine Huminstoffprobe auch dahingehend untersucht, dass die Charakterisierung dotierter Huminstofflösungen mit der CE-UV-ICP-MS 1 Stunde, 24 Stunden und 360 Stunden nach Zugabe der Metallionen zur Huminstofflösung erfolgte.

Abbildung 173 bis Abbildung 175 zeigen den Einfluss ansteigender Kontaktzeiten auf die erhaltenen Elektropherogramme am Beispiel der Probe HOFA13, die mit einem Gemisch der Kationen  $\text{Ni}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -,  $\text{Cd}^{2+}$ -,  $\text{Cs}^+$ - und  $\text{Pb}^{2+}$  der Konzentrationen 0,005 mmol/g DOC dotiert worden war. Die Darstellung erfolgt elementspezifisch; gezeigt sind jeweils von unten nach oben die drei nach den Zeiten 1 h, 24 h und 360 h erhaltenen Signale einer Metallionenart und die zu diesen Zeiten dazugehörigen drei UV-Signale. Aus Gründen der besseren Vergleichbarkeit sind die Signalverläufe gestapelt dargestellt.

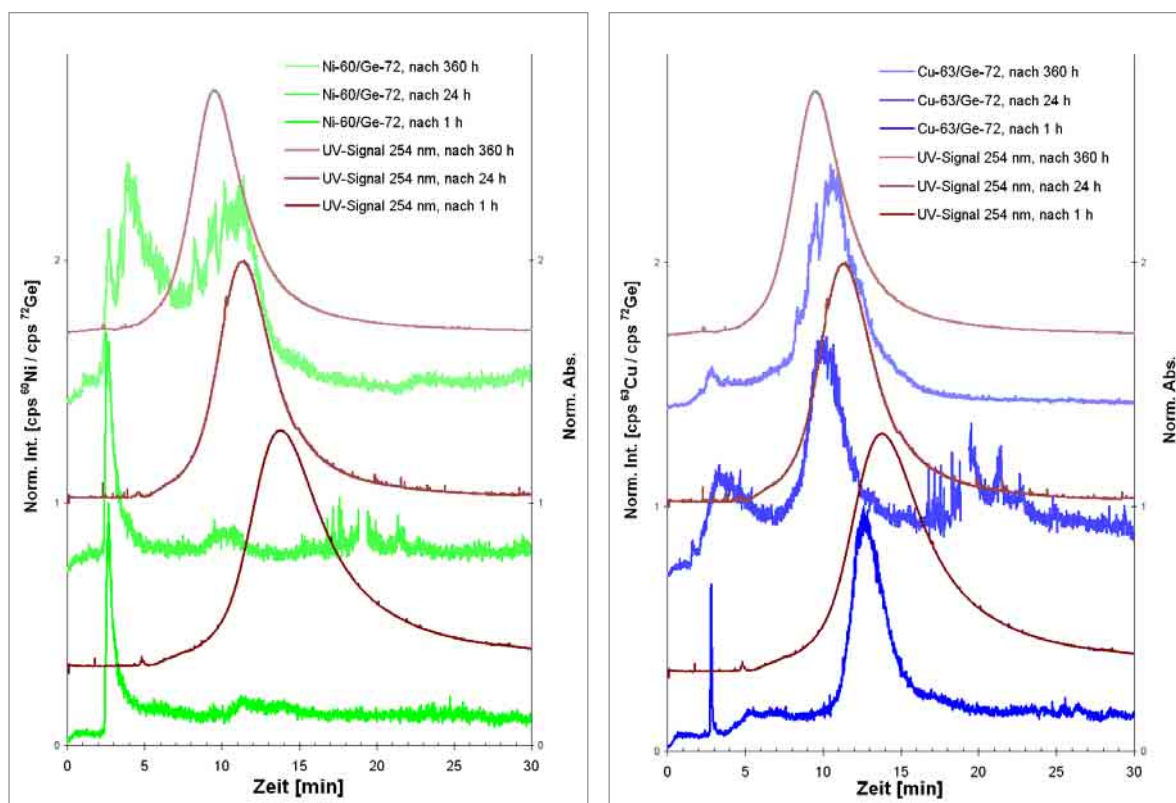
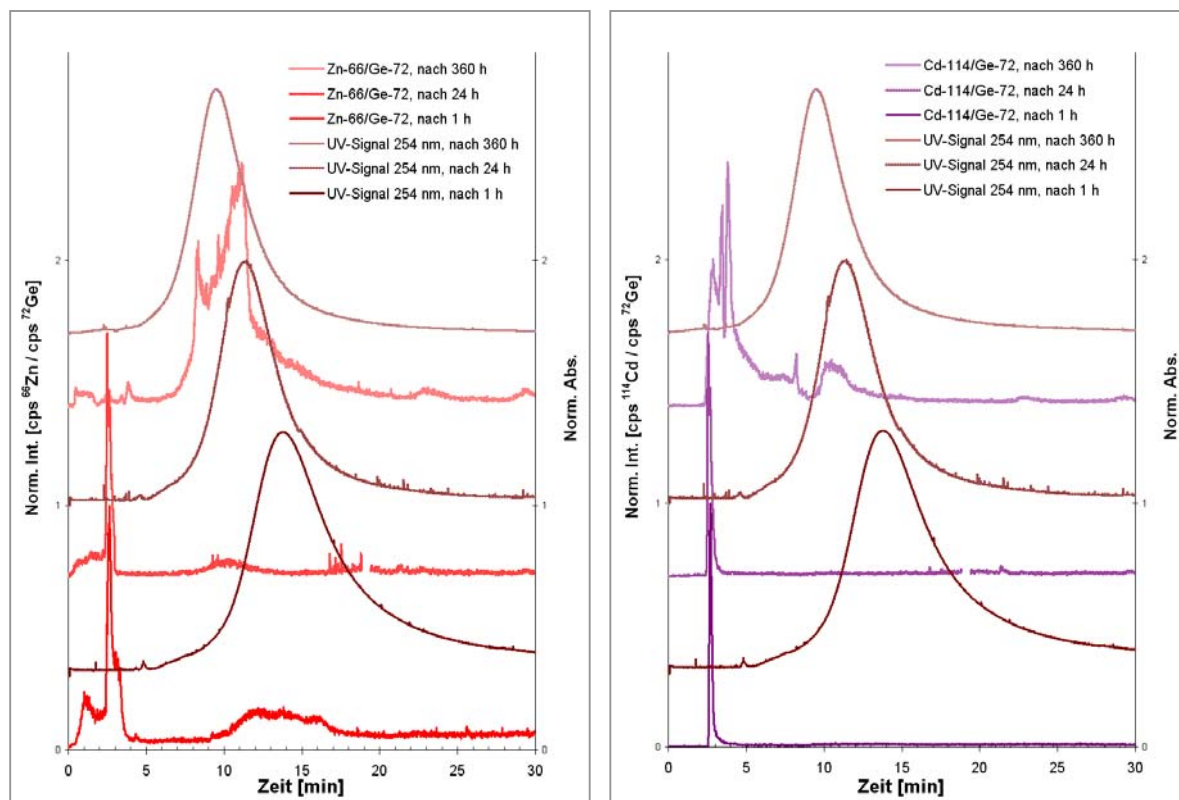


Abbildung 173: Einfluss ansteigender Kontaktzeiten (1 h, 24 h, 360 h) der zudotierten Metallionen  $\text{Ni}^{2+}$  und  $\text{Cu}^{2+}$  auf die Elektropherogramme der Huminstoffprobe HOFA13



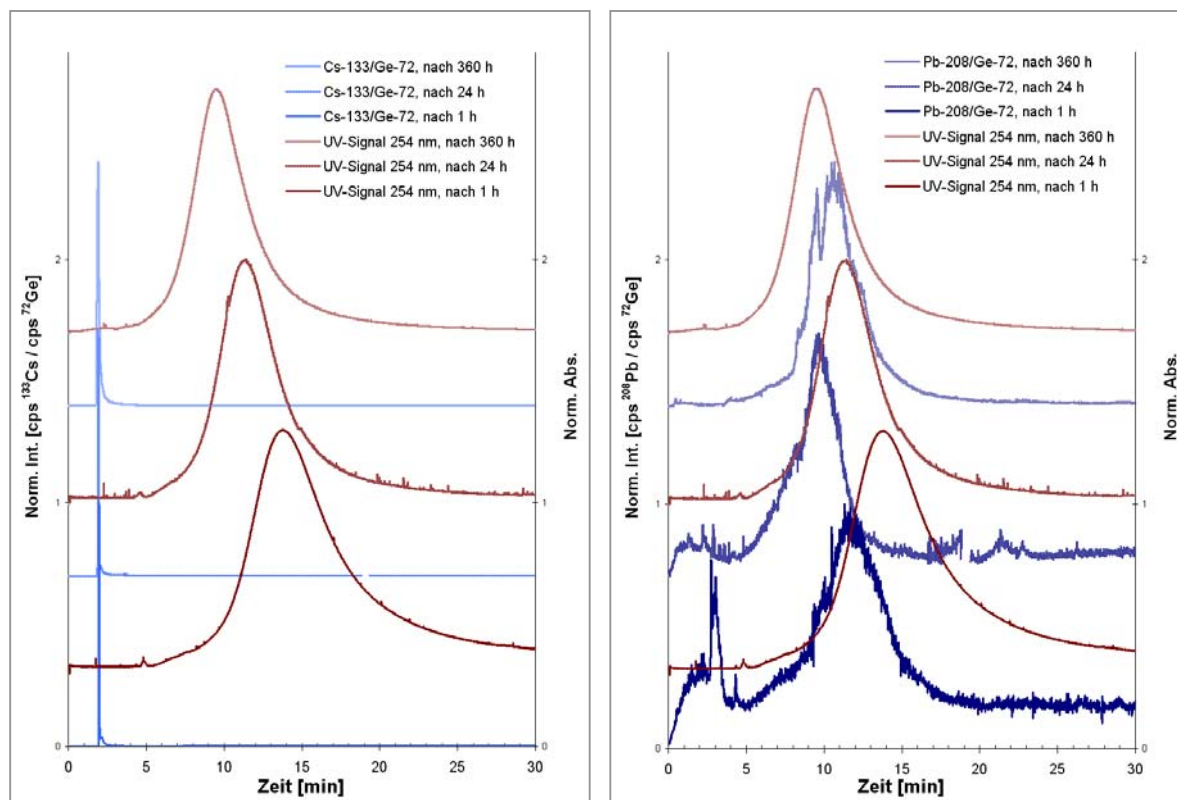


**Abbildung 174: Einfluss ansteigender Kontaktzeiten (1 h, 24 h, 360 h) der zudotierten Metallionen  $Zn^{2+}$  und  $Cd^{2+}$  auf die Elektropherogramme der Huminstoffprobe HOFA13**

Die drei UV-Signale sind in den Darstellungen der sechs Metallionenarten identisch, da es sich um dieselben drei Messungen handelt. Die wiederholte Darstellung dient der Erleichterung der Zuordnung der einzelnen Metallsignale zu freien bzw. komplexierten Anteilen der Metallionen.

Die zunehmende Einwirkdauer der Huminstofflösung HOFA13 auf die simultan in einer Konzentration von 0,005 mmol/g DOC vorliegenden Metallionen  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cs^{+}$  und  $Pb^{2+}$  wirkte sich auf das Fraktionierungsverhalten der Fulvinsäure derart aus, dass die mittlere Migrationszeit der UV-Signale von knapp 15 Minuten (nach 1 h) auf unter 10 Minuten (nach 360 h) abnahm, bei einer leichten Verringerung der Signalbreite. Dies könnte durch ein mit zunehmender Zeit verstärktes Ausmaß an Komplexierung freier Metallkationen und eine damit zusammenhängende Koagulation und Reduzierung der negativen Nettoladungen der Huminstoffmoleküle hervorgerufen worden sein.

Tatsächlich zeigt sich bei den Nickelsignalen (Abbildung 173) eine deutliche Veränderung mit zunehmender Zeit: Während nach 1 h der Hauptteil der Nickelionen frei vorlag, verringerte sich nach 360 h das Signal der freien  $Ni^{2+}$ -Ionen erheblich zugunsten eines sehr deutlichen Anteils an Nickelionen, die komplexiert vorlagen.



**Abbildung 175: Einfluss ansteigender Kontaktzeiten (1 h, 24 h, 360 h) der zudotierten Metallionen  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$  auf die Elektropherogramme der Huminstoffprobe HOFA13**

Die zudotierten Kupferionen waren bereits nach 1 h fast vollständig komplexiert; der kleine Anteil frei vorliegender  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen war nach 360 h nicht mehr vorhanden. Bei den Bleiionen (Abbildung 175) zeigte sich ein fast identisches Verhalten.

Ein ähnliches Verhalten wie bei Nickel zeigte sich bei den Zinkionen, die nach 360 h annähernd vollständig durch die Huminstoffmoleküle der Probe HOFA13 komplexiert waren (Abbildung 174). Selbst bei den Cadmiumsignalen (dieselbe Abbildung, rechter Teil) wurde eine Verringerung der nach 1 h noch vollständig frei vorliegenden Cadmiumionen beobachtet; nach 360 h zeigte sich ein leichtes Cadmiumsignal zu Migrationszeiten komplexierter  $\text{Cd}^{2+}$ -Ionen. Die in Abbildung 175 links dargestellten Cäsiumsignale zeigen - erwartungsgemäß - keinerlei Veränderungen mit der Zeit.

*Fazit:* Mit Zunahme der Einwirkdauer der Huminstofflösung HOFA13 erfolgte eine verstärkte Komplexierung der zudotierten Metallionen. Das Ausmaß der Signalveränderungen war stark von der Natur der zugegebenen Kationen abhängig. Bei  $\text{Cu}^{2+}$ - und  $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen sowie  $\text{Cd}^{2+}$ - und  $\text{Cs}^+$ -Ionen gab es die geringsten, bei  $\text{Ni}^{2+}$ - und  $\text{Zn}^{2+}$ -Ionen die deutlichsten Änderungen.

### 3.3 Fraktionierung von Huminstoffen durch Ultrafiltration (UF) mit offline DOC- und TRFA-Detektion

Mit der CE-UV-ICP-MS wurden fünf Huminstoffe bezüglich ihrer metallionenbindenden Eigenschaften charakterisiert. Zum Vergleich und zur Validierung der Ergebnisse der CE-UV-ICP-MS-Analysen wurde die Fulvinsäure HOFA13 zusätzlich auch mit einer vollständig anders arbeitenden Methode, der Ultrafiltrations-Zentrifugation mit offline DOC- und TRFA-Detektion, charakterisiert. Abbildung 176 veranschaulicht das Vorgehen.

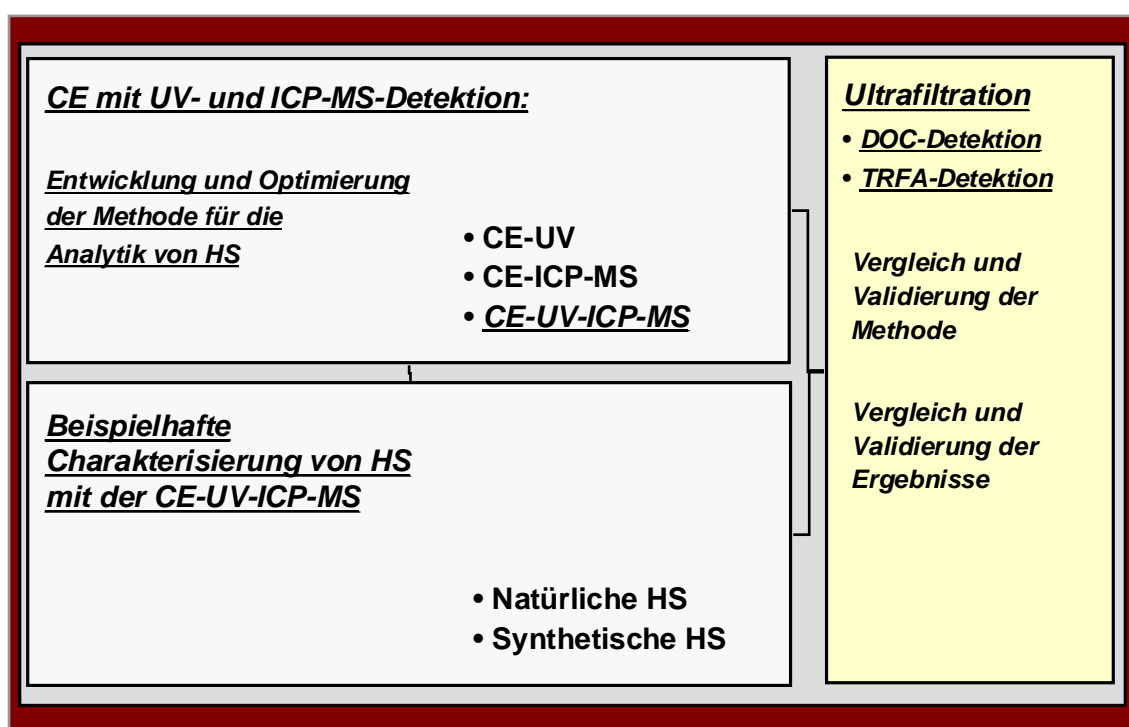


Abbildung 176: Vergleich der CE-UV-ICP-MS mit der Ultrafiltration mit DOC- und TRFA-Detektion (offline)

Auf die im oberen sowie unteren Block dargestellte Thematik der CE-UV-ICP-MS-Methodenentwicklung bzw. der Huminstoff-Charakterisierung mit dieser Methode wurde in den Kapiteln 3.1 und 3.2 eingegangen. Die dabei erhaltenen Ergebnisse wurden am Beispiel der Probe HOFA13 mit denen der im rechten vertikalen Block dargestellten unabhängig arbeitenden Ultrafiltration mit anschließender DOC- und TRFA-Detektion verglichen. Dabei wurde eine Beschreibung der Größenverteilung der Huminstoffprobe angestrebt, und durch TRFA-Analyse der Fraktionen eine Charakterisierung ihrer Metallionengehalte erreicht. Zusätzlich wurde die Probe mit Metallionen dotiert, um abzuklären, ob komplexierte Metallkationen während der Trennung verloren gehen.

Im einzelnen sollten folgende Fragen geklärt werden:

- In welchem (absoluten) Molekulargößbereich bewegen sich die untersuchten Proben?
- Wie sieht die Molekulargößverteilung auf verschiedene Fraktionen aus?
- Wie wirkt sich die Dotierung mit Metallionen auf die Verteilung des DOC in den verschiedenen Fraktionen aus? Zeigt sich ein ähnlicher „Signal-Verlauf“ des DOC wie bei der CE-UV-ICP-MS (z.B. Bildung größerer Aggregate bei zunehmender Dotierung; Änderung der Polydispersität)?
- Ergibt sich ein vergleichbares Signalverhalten bei den analysierten Metallionen wie bei der CE-UV-ICP-MS (z.B. bergartige Verteilung des Metallsignals in Analogie zum Huminstoff-anzeigenden DOC-Signal, oder auch deutliche Zunahme des Signals „freier“ Kationen bei Erreichen einer Sättigung)?
- Lässt sich eindeutig zwischen „frei“ und huminstoffgebunden vorliegenden Metallionen unterscheiden (wobei üblicherweise die in der Fraktion < 1 kDa detektierten Metallionen als frei, also nicht huminstoffgebunden betrachtet werden)?
- In welchem Maße werden verschiedene Metallionen komplexiert (Reihenfolge der Stärke der Komplexierung der Huminstoffprobe gegenüber den Ionen  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$ )? Stimmen die Ergebnisse mit denen der CE-UV-ICP-MS überein? Liegt das Komplexierungsvermögen bei alleiniger Dotierung mit  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen ebenfalls höher? Werden  $\text{Cs}^+$ -Ionen ebenfalls bei allen Konzentrationen in der ‚freien‘ Fraktion gefunden?
- Lassen sich ähnlich wie bei der CE-UV-ICP-MS Sättigungen und damit Komplexierungskapazitäten abschätzen (und liegen diese z.B. für Kupfer in der gleichen Größenordnung von etwa 0,5 bis 3 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC)?

Im einzelnen wurde zur Beantwortung dieser Fragen die Fulvinsäureprobe HOFA13 durch Ultrafiltration unter Verwendung von Membranen mit verschiedenen Trenngößen (NMWCO: 1, 3, 10, 30, 50, 100, 300, 1000 kDa) fraktioniert. Die Probenlösungen wurden durch Zentrifugation über die jeweiligen Membranen ultrafiltriert und die erhaltenen Fraktionen weiter untersucht. Die Verteilung des Huminstoffs auf die verschiedenen Fraktionen wurde wieder über den DOC verfolgt. Die Bestimmung der Metallionenkonzentrationen in den Fraktionen erfolgte wegen der geringen zur Verfügung stehenden Volumina mit der TRFA anstelle der nachweisstärkeren, aber mehr Probenvolumen benötigenden ICP-MS.

Zunächst wurden Fraktionierungen der Originalprobe HOFA13 und Fraktionierungen der Probe nach Einzelement-Dotierung mit Kupferionen im Konzentrationsbereich zwischen 0,05 und 3 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC durchgeführt. Weiterhin erfolgten Fraktionierungen der gemeinsam mit einem Gemisch der Metallionen Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> und Pb<sup>2+</sup> dotierten Probe im Bereich zwischen 0,0005 und 0,5 mmol Metallionen/g DOC. Diese Konzentrationsbereiche hatten sich bei den CE-UV-ICP-MS Experimenten als besonders interessant herausgestellt. Die Proben wurden in exakt der gleichen Weise angesetzt wie bei der Charakterisierung mit der CE-UV-ICP-MS.

Abbildung 177 zeigt exemplarisch die Huminstoff-Fractionen, wie sie durch Ultrafiltrations-Zentrifugation erhalten wurden. Bereits optisch ist aufgrund der von rechts nach links kleiner werdenden Ausschlussgrenze der Membranen der abnehmende DOC anhand der heller werdenden Braunfärbung zu erkennen.



**Abbildung 177: HOFA13 nach der Fraktionierung durch Ultrafiltrations-Zentrifugation**

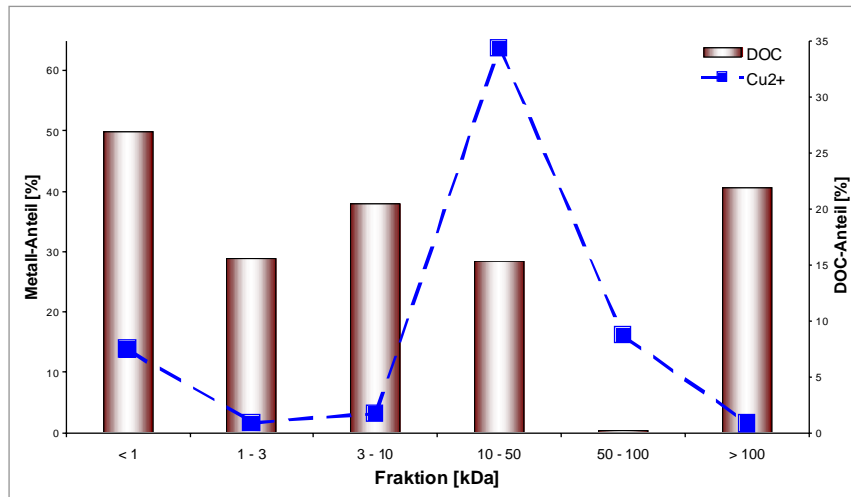
*Rechts die Probe vor der Fraktionierung (1 mg/mL DOC), dann v. r. n. l. die Fraktionen < 1000 kDa, < 300 kDa, < 100 kDa, < 50 kDa, < 30 kDa, < 10 kDa, < 3 kDa und < 1 kDa*

Die parallele Filtration der jeweils vorgelegten Probenlösung durch acht Membranen kleiner werdender Ausschlussgrenzen (< 1000 kDa bis < 1 kDa) führte einschließlich der Ausgangslösung zu neun zu analysierenden Fraktionen. Diese enthielten von der ursprünglichen Probenlösung bis zur Fraktion < 1 kDa abnehmende Konzentrationen an DOC und Metallionen. Durch Differenzbildung (Werte in Lösung < 3 kDa minus Werte in Lösung < 1 kDa, Werte in Lösung < 10 kDa minus Werte in Lösung < 3 kDa, etc.) wurden die Konzentrationen an DOC und Metallionen für die Molekülgrößenfraktionen < 1 kDa, 1-3 kDa, 3-10 kDa, 10-50 kDa, 50-100 kDa und > 100 kDa berechnet. Die relativen Fehler in den einzelnen Fraktionen wurden für die DOC- und die Metallionen-Konzentrationen über Fehlerfortpflanzung berechnet [208] [209].

### 3.3.1 Charakterisierung der Probe HOFA13 nach Dotierung mit Cu<sup>2+</sup>-Ionen

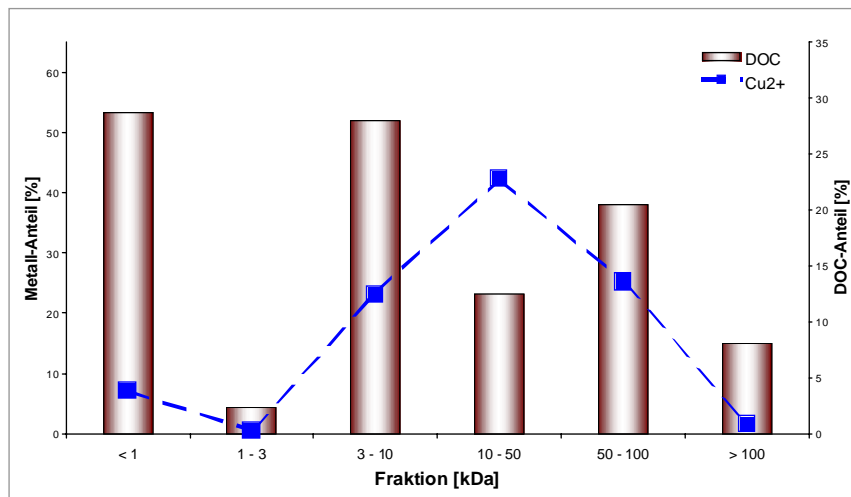
Zunächst wurde zur Abklärung der molekularen Größenverteilung der Huminstoffprobe HOFA13 und der Verteilung der in der Probe enthaltenen Kupferionen die Fraktionierung der Originalprobe mit der Ultrafiltration und anschließender DOC- und TRFA-Detektion durchgeführt. Anschließend wurde die Probe analog den Experimenten mit der CE-UV-ICP-MS mit steigenden Mengen an Cu<sup>2+</sup>-Ionen versetzt und die Verteilung der Kupferionen auf die verschiedenen Fraktionen verfolgt. Die dotierten Mengen waren 0,05, 0,5 und 3 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC. Die Ergebnisse der Metallbestimmungen in den Einzelfraktionen sind in Abbildung 178 bis Abbildung 181 dargestellt.

Die Versuchsdurchführung und die Art der Darstellung der Ergebnisse wurde der Zielsetzung von Vergleich und Validierung der CE-UV-ICP-MS Ergebnisse angepasst. Dabei standen die DOC- und Metallionen-Signalverläufe, sowie die Tendenzen der Veränderungen der DOC- und Metallionen-Verteilungen auf die Fraktionen bei zunehmender Metallionendotierung im Vordergrund, um das Verhalten der Probe HOFA13 gegenüber den verschiedenen untersuchten Metallionen charakterisieren zu können. Die jeweiligen DOC-Anteile in den erhaltenen Größenfraktionen sind durch Säulen dargestellt, die Anteile der Metallionen in den entsprechenden Fraktionen durch verschieden markierte Punkte, die zur besseren Übersicht durch gestrichelte Linien verbunden sind.



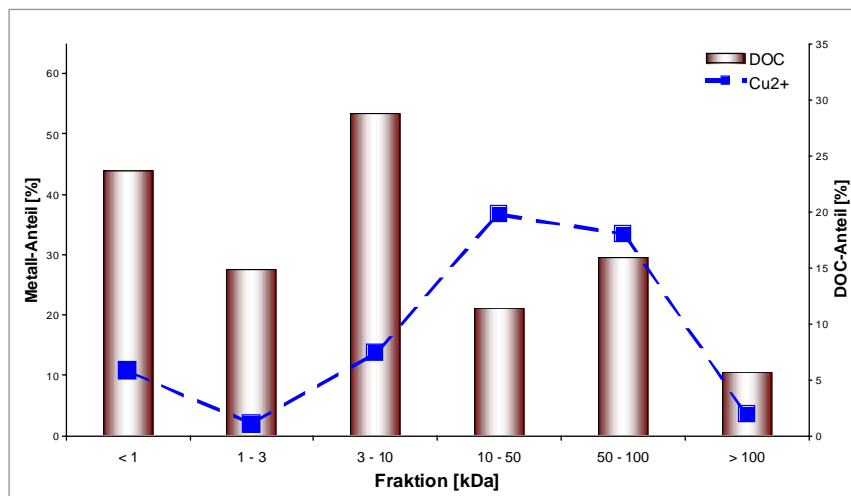
**Abbildung 178: HOFA13 undotiert: Verteilung von DOC und von Cu<sup>2+</sup> auf die größenabhängigen Fraktionen**

Vertrauensbereich der *t*-Verteilung ( $n = 8$ ;  $P = 95\%$ ) für DOC: 9,4 – 38,3 %; für Cu<sup>2+</sup>-Ionen: 0,6 – 15,8 %



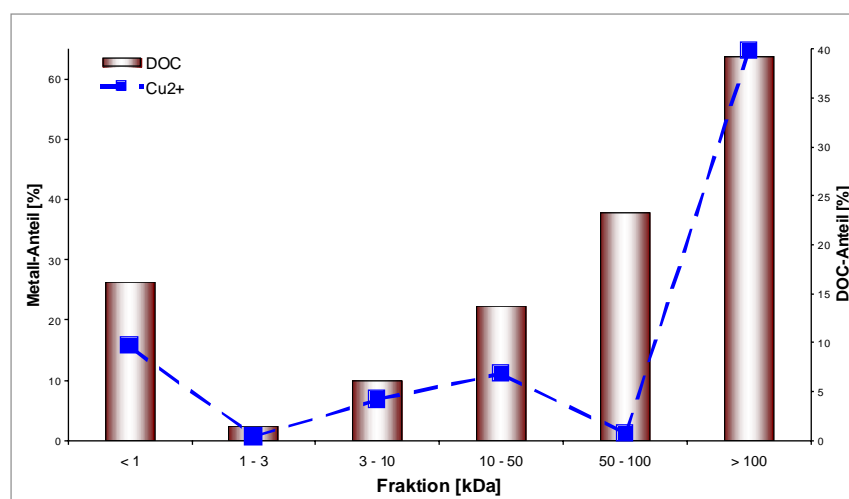
**Abbildung 179: HOFA13 dotiert auf 0,05 mmol Cu<sup>2+</sup>-Ionen/g DOC: Verteilung von DOC und Cu<sup>2+</sup> auf die größenabhängigen Fraktionen**

Vertrauensbereich der *t*-Verteilung ( $n = 8$ ;  $P = 95\%$ ) für DOC: 9,4 – 38,3 %; für Cu<sup>2+</sup>-Ionen: 0,6 – 15,8 %



**Abbildung 180: HOFA13 dotiert auf 0,5 mmol Cu<sup>2+</sup>-Ionen/g DOC: Verteilung von DOC und Cu<sup>2+</sup> auf die größenabhängigen Fraktionen**

Vertrauensbereich der *t*-Verteilung ( $n = 8$ ;  $P = 95\%$ ) für DOC: 9,4 – 38,3 %; für Cu<sup>2+</sup>-Ionen: 0,6 – 15,8 %



**Abbildung 181: HOFA13 dotiert auf 3 mmol Cu<sup>2+</sup>-Ionen/g DOC: Verteilung von DOC und Cu<sup>2+</sup> auf die größenabhängigen Fraktionen**

Vertrauensbereich der *t*-Verteilung ( $n = 8$ ;  $P = 95\%$ ) für DOC: 9,4 – 38,3 %; für Cu<sup>2+</sup>-Ionen: 0,6 – 15,8 %

Die undotierte Probe zeigte eine relativ ebene Verteilung des DOC auf die Fraktionen. Nur die Fraktion 50-100 kDa enthielt kaum DOC (Abbildung 178). Dies deutet auf eine hohe Polydispersität der Lösung des Huminstoffs HOFA13 (1 mg/mL) hin, die Probe enthielt Moleküle sehr verschiedener Größen, wobei sich der Bereich von < 1 kDa bis über 100 kDa erstreckte. Die Kupferionen lagen zum größten Teil in der Fraktion 10-50 kDa vor, gefolgt von der Fraktion 50-100 kDa und der kleinsten Fraktion (< 1 kDa). Die Wahrscheinlichkeit, dass die gut komplexierbaren Cu<sup>2+</sup>-Ionen in der Fraktion < 1 kDa frei vorlagen, ist gering. Da der DOC in dieser Fraktion mit 26,8 % einen unerwartet hohen Anteil hatte, liegen die Kupferionen dort möglicherweise durch kleine Huminstoffmoleküle komplexiert vor.

Die Dotierung der Probe mit 0,05 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC (Abbildung 179) führte zu einer Veränderung der DOC-Verteilung in Form einer Konzentrierung des DOC in den mittleren Fraktionen zwischen 3 und 100 kDa. Die mit 0,05 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC bereits relativ hohe Dotierung wurde ebenfalls hauptsächlich in diesen mittleren Fraktionen wiedergefunden, was auf eine Komplexierung der Kupferionen durch Huminstoffmoleküle in diesem mittleren Größenbereich von 3 – 100 kDa hindeutet. Ein kleiner Teil der Kupferionen befand sich auch in der Fraktion < 1 kDa. Aufgrund des sehr kleinen Verhältnisses von Kupferionen zu DOC in dieser Fraktion können die komplexierenden Eigenschaften der kleinen organischen Moleküle gegenüber den Kupferionen allerdings nicht stark sein.

Nach Zugabe von Cu<sup>2+</sup> auf 0,5 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC zeigte sich ein sehr ähnliches Pattern der DOC-Verteilung (Abbildung 180) mit dem Unterschied einer Zunahme des DOC-Anteils in der Fraktion 1-3 kDa bei gleichzeitiger Reduzierung des DOC-Anteils in der kleinsten Fraktion < 1 kDa. Die Verteilung der Kupferionen verlagerte sich also zu den höheren Fraktionen.

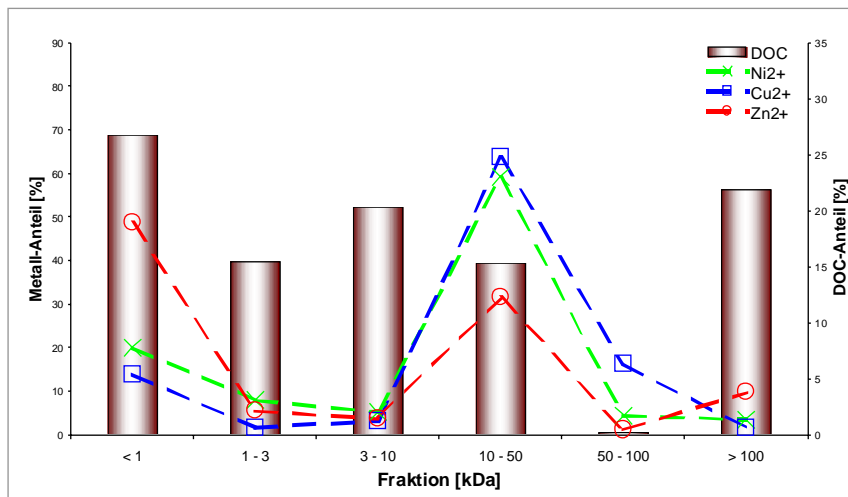


Bei weiterer Zugabe bis 3 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC veränderte sich die Situation vollständig (Abbildung 181). Die Verteilung der Kupferionen auf die mittleren Fraktionen blieb der Form nach ähnlich, aber stark abgeschwächt. Einen deutlichen Anstieg des Kupferionenanteils gab es in der Fraktion  $< 1$  kDa, möglicherweise durch bei dieser Konzentration bereits frei vorliegende  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen. Der auffälligste Unterschied zu den bisherigen Situationen liegt im massiven Kupferanteil in der größten Fraktion  $> 100$  kDa. Es geht einher mit einer erheblichen Zunahme des DOC-Anteils zu den größeren Fraktionen. Dieses Muster ist vermutlich auf ein deutliches Überschreiten der Komplexierungskapazität und damit verbundene Koagulationsvorgänge, Komplexierungen und Okklusionen von Kupferionen sowie auf einsetzende Fällungen zurückzuführen.

*Fazit:* Die DOC-Verteilung war bei den niedrigen Konzentrationen an  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen relativ unruhig, bei einer Dotierung mit 3 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC zeigte sich eine deutliche Tendenz der DOC-Verteilung zu hohen Fraktionen, vermutlich bedingt durch die Bildung großer Huminstoff-Aggregate. Bei den Kupferionen lassen sich die Veränderungen der Verteilung auf die Fraktionen nach den Dotierungen etwas feiner verfolgen: Der Schwerpunkt der Kupferionenverteilung verschob sich mit ansteigender Dotierung hin zu den größeren Fraktionen bis zu einer kompletten Veränderung des Verlaufs bei 3 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g DOC. Hier lag ein Teil der  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen (Fraktion  $< 1$  kDa) durch Übersättigung vermutlich frei, ein weiterer erheblicher Teil in der größten Fraktion vermutlich komplexiert und okkludiert vor.

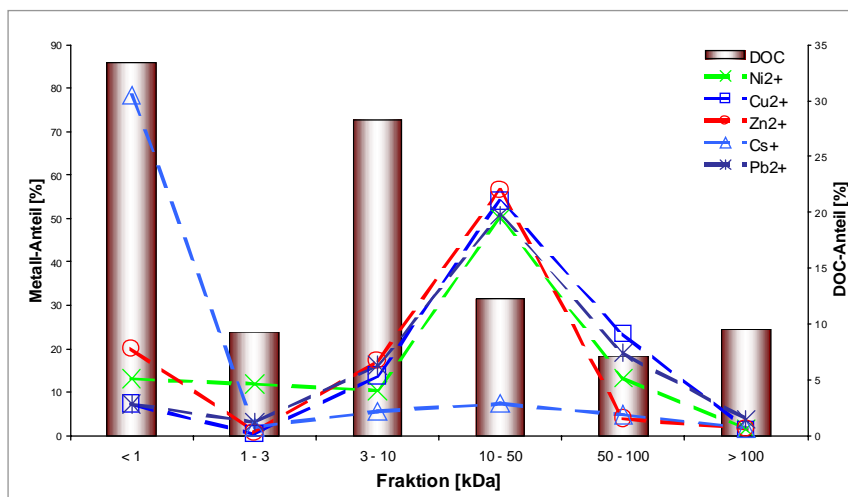
### **3.3.2 Charakterisierung der Probe HOFA13 nach gemeinsamer Dotierung mit $\text{Ni}^{2+}$ , $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Cs}^+$ und $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen**

Nach der Dotierung der Huminstoffprobe HOFA13 mit Kupferionen erfolgte die Charakterisierung der Fulvinsäure durch Dotierung mit einem Gemisch der Ionen  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$ . Die mit ansteigenden Mengen des Metallionengemisches dotierten Probenaliquote wurden mit der Ultrafiltration fraktioniert; anschließend wurde in den erhaltenen Lösungen der DOC und die Metallionengehalte bestimmt. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt in Abbildung 182 bis Abbildung 187.



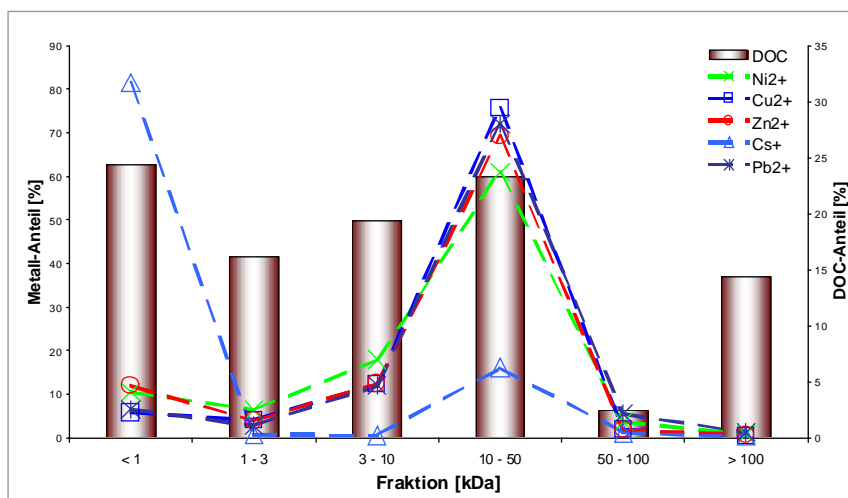
**Abbildung 182: HOFA13 undotiert: Verteilung des DOC und der detektierten Metallionen auf die größenabhängigen Fraktionen**

Vertrauensbereich der *t*-Verteilung (*n* = 8; *P* = 95 %) für DOC: 9,4 – 38,3 %; für Metallionen: 0,6 – 25,1 %



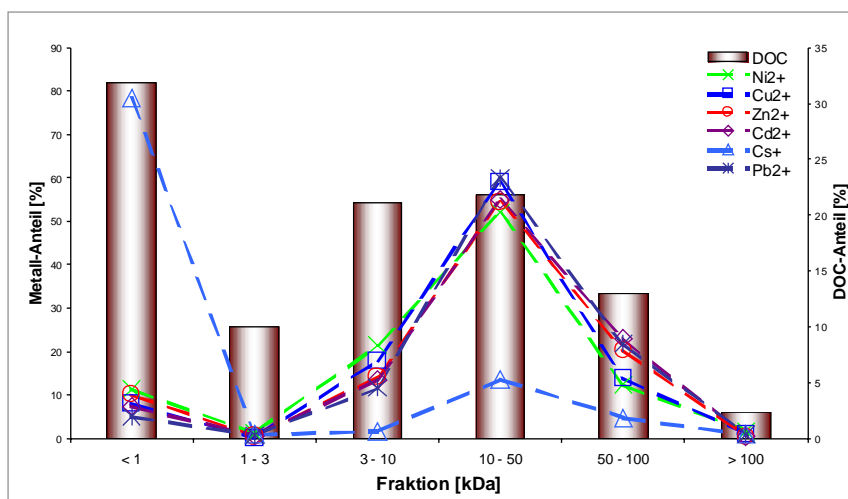
**Abbildung 183: HOFA13 dotiert auf 0,0005 mmol Ni<sup>2+</sup>-, Cu<sup>2+</sup>-, Zn<sup>2+</sup>-, Cd<sup>2+</sup>-, Cs<sup>+</sup>- und Pb<sup>2+</sup>-Ionen/g DOC: Verteilung des DOC und der detektierten Metallionen auf die größenabhängigen Fraktionen**

Vertrauensbereich der *t*-Verteilung (*n* = 8; *P* = 95 %) für DOC: 9,4 – 38,3 %; für Metallionen: 0,6 – 25,1 %



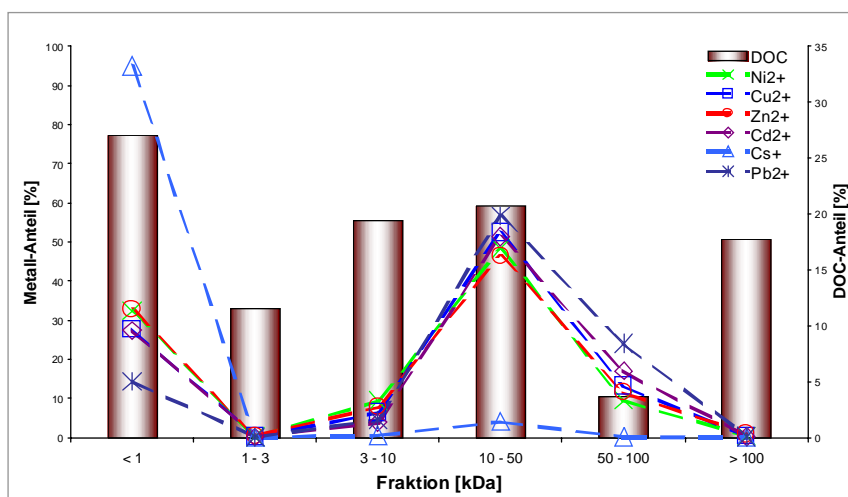
**Abbildung 184: HOFA13 dotiert auf 0,001 mmol Ni<sup>2+</sup>-, Cu<sup>2+</sup>-, Zn<sup>2+</sup>-, Cd<sup>2+</sup>-, Cs<sup>+</sup>- und Pb<sup>2+</sup>-Ionen/g DOC: Verteilung des DOC und der detektierten Metallionen auf die größenabhängigen Fraktionen**

Vertrauensbereich der *t*-Verteilung (*n* = 8; *P* = 95 %) für DOC: 9,4 – 38,3 %; für Metallionen: 0,6 – 25,1 %



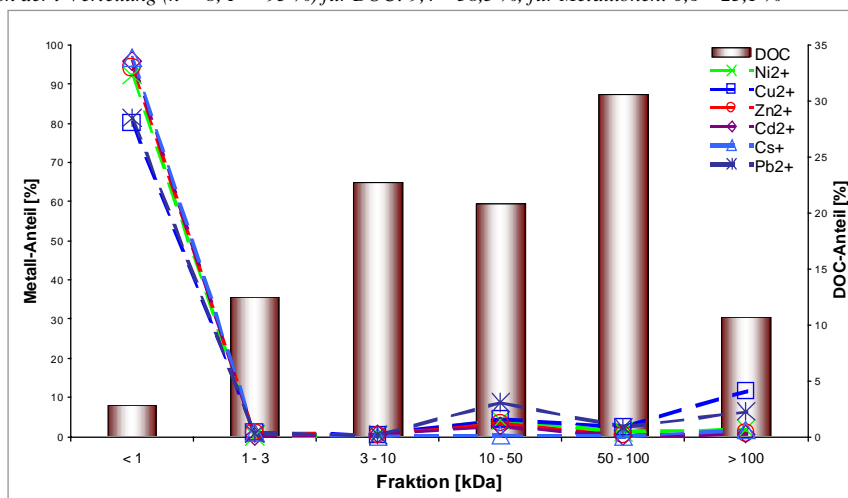
**Abbildung 185:** HOFA13 dotiert auf 0,005 mmol Ni<sup>2+</sup>-, Cu<sup>2+</sup>-, Zn<sup>2+</sup>-, Cd<sup>2+</sup>-, Cs<sup>+</sup>- und Pb<sup>2+</sup>-Ionen/g DOC: Verteilung des DOC und der Metallionen auf die größenabhängigen Fraktionen

Vertrauensbereich der t-Verteilung (n = 8; P = 95 %) für DOC: 9,4 – 38,3 %; für Metallionen: 0,6 – 25,1 %



**Abbildung 186:** HOFA13 dotiert auf 0,05 mmol Ni<sup>2+</sup>-, Cu<sup>2+</sup>-, Zn<sup>2+</sup>-, Cd<sup>2+</sup>-, Cs<sup>+</sup>- und Pb<sup>2+</sup>-Ionen/g DOC: Verteilung des DOC und der Metallionen auf die größenabhängigen Fraktionen

Vertrauensbereich der t-Verteilung (n = 8; P = 95 %) für DOC: 9,4 – 38,3 %; für Metallionen: 0,6 – 25,1 %



**Abbildung 187:** HOFA13 dotiert auf 0,5 mmol Ni<sup>2+</sup>-, Cu<sup>2+</sup>-, Zn<sup>2+</sup>-, Cd<sup>2+</sup>-, Cs<sup>+</sup>- und Pb<sup>2+</sup>-Ionen/g DOC: Verteilung des DOC und der Metallionen auf die größenabhängigen Fraktionen

Vertrauensbereich der t-Verteilung (n = 8; P = 95 %) für DOC: 9,4 – 38,3 %; für Metallionen: 0,6 – 25,1 %

Bei der undotierten Probe HOFA13 (Abbildung 182) ist der DOC mit Ausnahme der 50-100 kDa Fraktion relativ eben über die Fraktionen verteilt. Die Lösung des Huminstoffs (1 mg/mL) ist polydispers, sie enthält Moleküle sehr verschiedener Größen, wobei sich der Bereich von < 1 kDa bis über 100 kDa erstreckt. Bei den primär enthaltenen Metallionen ergab sich insbesondere eine Verteilung auf zwei verschiedene Größenfraktionen. Die Nickel-, Kupfer- und Zinkionen wurden hauptsächlich in der Fraktion 10-50 kDa detektiert und liegen in dieser Größenfraktion des Huminstoffs wahrscheinlich weitgehend komplexiert vor. Der weitere bedeutende Teil der  $\text{Ni}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ - und  $\text{Zn}^{2+}$ -Ionen wurde in der Fraktion < 1 kDa gefunden. Generell werden frei, d.h. nicht huminstoffkomplexiert vorliegende Metallionen in dieser kleinsten Fraktion gefunden, da sie die Membran der Trenngröße 1 kDa passieren. Da diese Fraktion allerdings etwa 27 % des gesamten DOC der Probe enthielt, konnte aufgrund der TRFA-Messungen nicht entschieden werden, ob die gefundenen Metallionenanteile frei oder huminstoffkomplexiert vorliegen. Möglicherweise liegen sie durch kleine Huminstoffmoleküle komplexiert vor.

Die erste Dotierung von HOFA13 mit 0,0005 mmol  $\text{Ni}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -,  $\text{Cd}^{2+}$ -,  $\text{Cs}^+$ - und  $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen/g DOC führte zu einer Situation, die in Abbildung 183 dargestellt ist. Die DOC-Verteilung ist etwas unregelmäßiger und die Fraktionen < 1 kDa und 3-10 kDa gewinnen an Gewicht. Die Metallionen mit Ausnahme der Cäsiumionen verhalten sich in ihrer Verteilung auf die Fraktionen untereinander ähnlich; eine wahrscheinlich mit Komplexierung verbundene Anreicherung erfolgte in der Fraktion 10-50 kDa. Cäsium wurde überwiegend in der Fraktion < 1 kDa gefunden, vermutlich weil es in Wasser praktisch nicht komplexierbar ist.

Die Dotierung der Fulvinsäure mit 0,001 mmol  $\text{Ni}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -,  $\text{Cd}^{2+}$ -,  $\text{Cs}^+$ - und  $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen/g DOC (Abbildung 184) führte zu einer ähnlichen, aber ausgeprägteren Situation: Es fand eine erhebliche Anreicherung der Metallionen in der Fraktion 10-50 kDa bei gleichzeitig leichter Verschiebung der DOC-Gehalte zu höheren Molekülgrößen statt. In dieser mittleren Molekülgrößenfraktion wurden Kupfer- und Bleiionen am stärksten komplexiert, gefolgt von Zink- und Nickelionen. Cäsiumionen lagen wiederum hauptsächlich in der Fraktion < 1 kDa vor.

Eine Dotierung auf eine Konzentration von 0,005 mmol  $\text{Ni}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -,  $\text{Cd}^{2+}$ -,  $\text{Cs}^+$ - und  $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen/g DOC führte zu einer leichten Veränderung der DOC-Verteilung zugunsten der Fraktion 50-100 kDa. Mit der Erhöhung des DOC in dieser Fraktion stieg auch der Anteil an Metallionen in ihr. Dies deutet auf Koagulationsprozesse bei den Huminstoffmolekülen, verbunden mit einer Komplexierung der Metallionen hin. Die Verlagerung zu größeren und weniger geladenen Huminstoff-Fraktionen mit zunehmender Dotierung war auch bei den Versuchen mit der CE-UV-ICP-MS beobachtet worden. Die Sonderstellung der Cäsiumionen mit einem wesentlichen Anteil < 1 kDa blieb erhalten. Der kleine in der Fraktion 10-50 kDa

vorhandene Anteil könnte auf Okklusionseffekte über der entsprechenden Membrane zurückzuführen sein.

Eine Verzehnfachung der Metallionenkonzentration auf 0,05 mmol/g DOC führte zu Verteilungen, die in Abbildung 186 dargestellt sind. Neben einer leichten Verschiebung der DOC-Verteilung zu größeren Fraktionen über 100 kDa wird nach wie vor der Hauptteil der Metallionen von den Huminstoffmolekülen in der Fraktion 10-50 kDa komplexiert. Auffallend ist die Erhöhung der Metallionenanteile in der Fraktion < 1 kDa. Dies könnte auf eine Erschöpfung der Komplexierungskapazität und das Auftreten freier Ionen zurückzuführen sein. Cäsiumionen stellen in dieser Fraktion erwartungsgemäß den höchsten Anteil, gefolgt von Nickel- und Zinkionen sowie Cadmium-, Kupfer- und Bleiionen. Diese Reihenfolge ist annähernd invers zu der in der mittelgroßen, stark Metallionen-komplexierenden Huminstoff-Fraktion 10-50 kDa. Sie kann zu einer – allerdings nur sehr groben – Abschätzung des Komplexierungsvermögens der Probe HOFA13 gegenüber den untersuchten Metallionen herangezogen werden.

Eine weitere Verzehnfachung der dotierten Metallionemengen bis zu Konzentrationen von 0,5 mmol Ni<sup>2+</sup>-, Cu<sup>2+</sup>-, Zn<sup>2+</sup>-, Cd<sup>2+</sup>-, Cs<sup>+</sup>- und Pb<sup>2+</sup>-Ionen/g DOC veränderte die Situation stark (Abbildung 187). Auffallend ist die starke DOC-Verlagerung zu der großen Fraktion 50-100 kDa. Auch die Fraktion > 100 kDa enthält einen deutlichen Anteil an DOC, der sich jedoch zum Teil der Bestimmung durch optisch sichtbare Koagulation bzw. Ausfällungen entzog. Die kleinste Fraktion < 1 kDa enthielt im Gegensatz zu allen anderen untersuchten Konzentrationen nur noch einen minimalen DOC-Anteil. Dennoch fanden sich in dieser Fraktion die weitaus größten Anteile der zugefügten Metallionen in der mengenmäßigen Reihenfolge Cäsium, Cadmium, Zink und Nickel, gefolgt mit etwas Abstand von Blei und Kupfer. Die Komplexierungskapazität der Probe HOFA13 war bei diesen Metallionenkonzentration offensichtlich eindeutig überschritten. Die Größenordnung entspricht derjenigen, die mit der CE-UV-ICP-MS gefunden wurde.

*Fazit:* Die Größenverteilung der Huminstoffmoleküle der Probe HOFA13 erstreckte sich über einen Bereich von weniger als 1 kDa bis über 100 kDa. Dotierungen mit Metallionen führten zu einer leichten Erhöhung der Huminstoff-Molekülgrößen. Die zur Methodenkontrolle zudotierten Cäsiumionen wurden zum größten Teil, aber nicht ausschließlich, in der Fraktion < 1 kDa gefunden. Bei den Dotierungen wurde entgegen den Erwartungen auch ein relativ großer DOC-Anteil in der Fraktion < 1 kDa gefunden, was eine Identifizierung frei vorliegender Metallkationen erschwerte. Das Vorliegen freier Metallkationen nach Erschöpfung der Komplexierungskapazität der Huminstoffprobe gegenüber den einzelnen Metallionen war nur unscharf erkennbar und eine unterschiedlich starke Komplexierung der verschiedenen Metallkationen wenig gut differenzierbar.



## 4 Diskussion der Ergebnisse

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein analytisches Verfahren zur Charakterisierung des metallionenbindenden Verhaltens von Huminstoffen unter Nutzung des Systems CE-UV-ICP-MS als gekoppelte Fraktionierungs- und Detektionsmethode entwickelt. Mit ihm können innerhalb von fraktionierten Huminstoffproben die Metallionengehalte bestimmt werden, womit ein neues Charakterisierungsinstrument für Huminstoffe zur Verfügung steht. Daher wurde die entwickelte und optimierte Methode mit simultaner UV- und ICP-MS-Detektion zur Charakterisierung ausgewählter aquatischer und synthetischer Huminstoffe angewandt und so ihre Eignung für eine erweiterte Huminstoff-Analytik prototypisch aufgezeigt.

### 4.1 Das Analysensystem CE-UV-ICP-MS

Grundlegend für die Charakterisierung von Huminstoffen sind nach wie vor Informationen über die Gesamtprobe, die durch Elementaranalyse, UV-VIS-, IR- und NMR-Spektroskopie, sowie Metallgehaltsbestimmungen z.B. mittels TRFA oder ICP-MS erhalten werden. Mithilfe verschiedener Fraktionierungsverfahren kann die Polydispersität der Huminstoffproben z.B. über die Breite erhaltener UV-Signale beurteilt und durch Aufteilung in bestimmte Fraktionen herabgesetzt werden. Zum Teil werden auch Informationen über das molekulare Größenspektrum der Probe erhalten.

Huminstoffe haben aufgrund ihres Komplexierungsvermögens die Eigenschaft, Schwermetallionen zu transportieren. Von großem Interesse für die Charakterisierung ihrer insbesondere umweltrelevanten metallionenbindenden Eigenschaften sind daher Verfahren der Element-Speziations-Analytik, die eine (oft chromatographische) Fraktionierungstechnik mit einer elementspezifischen Detektion verbinden. In den fraktionierten Probenbestandteilen kann direkt – möglichst online – die Detektion der enthaltenen Elementionen erfolgen. Die ICP-MS ist für die elementspezifische Detektion sehr geeignet, da sie mit verschiedenen Fraktionierungstechniken online gekoppelt werden kann und viele Nuklide mit niedrigen Nachweisgrenzen bestimmbar sind.

Besonders interessant ist dabei die Frage, ob die Komplexierung verschiedener Metallionen bevorzugt in bestimmten Fraktionen eines Huminstoffs erfolgt. Aus diesem Grund wurde angestrebt, in fraktionierten Huminstoffproben mit möglichst hoher Auflösung bezüglich der erhaltenen Fraktionen Metallionengehalte zu bestimmen und zu diesem Zweck ein neues Charakterisierungsinstrument zu erhalten.

In Tabelle 15 sind Fraktionierungsverfahren und gekoppelte Systeme aufgeführt, die in der Element-Speziations-Analytik eingesetzt werden.

**Tabelle 15: Verfahren der Element-Speziations-Analytik**

<i>Trennverfahren</i>	<i>Bewertung der Methode</i>	
	<i>Gekoppelte Systeme</i>	<i>Literaturhinweis</i>
<b>(Mehrstufen- (MST-)) Ultrafiltration (UF)</b>	UF / DOC / TRFA (offline)  Getrennte Fraktionen nach Molekülgröße, operationelle Fraktionen; geeignet für HS-Analytik, Detektion offline	[112] [130] [131] [132] [133] [134] [135] [136] [137]
<b>Gas-Chromatographie (GC)</b>	GC-ICP-MS  Nicht geeignet zur Fraktionierung von HS	
<b>Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC), Size-Exclusion-Chromatographie (SEC)</b>	SEC-ICP-MS  Geeignet zur Fraktionierung von HS; breite Verteilung nach Molekülgrößen; Kopplung vergleichsweise einfach zu realisieren	[111] [138] [139] [140] [141] [142] [143] [144] [145] [146] [147]
<b>Feldfluss-Fraktionierung (FFF)</b>	FFF-ICP-MS  Gekoppeltes System wurde bereits zur Fraktionierung von HS eingesetzt; breite Verteilung von HS-Fractionen	[115] [149] [150] [151] [152] [153] [154] [155] [156] [157] [158]
<b>Kapillar-Elektrophorese (CE)</b>	CE-ICP-MS  HS-Fraktionierung mit der CE möglich; gekoppeltes System bisher in bio-medizinischer Forschung eingesetzt (Metallothionein-Analytik)	[116] [117] [123] [124] [192] [193] [194] [195] [196] [197] [198] [199] [200] [201] [202] [203] [204]

Von den in Tabelle 15 genannten Fraktionierungsverfahren sind zur Charakterisierung der metallionenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen die Ultrafiltration als konventionelles Trennverfahren und die HPLC, FFF bzw. CZE als Hochleistungs-Trennverfahren besonders geeignet. Die Fraktionierung soll die huminstoffkomplexierten Metallkationen nicht von ihren Liganden trennen. Im Gegensatz zu Fraktionierungsverfahren, die z.B. über verschiedene Löslichkeiten bei unterschiedlichen pH-Werten arbeiten, wird bei den genannten Verfahren die ‚Spezies-Information‘ weitgehend bewahrt.



Der große Vorteil einer Fraktionierung von Huminstoffen mit der Ultrafiltration besteht in der direkten Größeninformation der Fraktionen, die über die Trenngrenzen der eingesetzten Membranen erhalten werden. Der apparative Aufwand ist dabei vergleichsweise gering. Allerdings steht diesen Vorteilen der deutliche Nachteil gegenüber, dass die Fraktionen (oft 6 – 8 Fraktionen) noch immer eine grobe Auflösung bedeuten, wobei die Grenzen der Fraktionen bedingt durch die Wahl der Membranen relativ willkürlich (jedenfalls nicht äquidistant) sind. Eine online-Kopplung mit der ICP-MS ist nicht möglich. Die teilweise auftretenden Probleme von Membraneffekten (wie eine mit der Zeit zunehmende Verstopfung) oder Kontaminationen durch Oberflächen und Arbeitsschritte sind von P. Burba und anderen, z.B. in [133] [134] [135] [136] durch den Einsatz eines Kaskadensystems mit im Tangentialfluss überströmten Membranen erfolgreich behoben worden.

Die Größenausschluss-Chromatographie (SEC) liefert transiente Signale und bietet den Vorteil einer erheblich höheren Auflösung der Fraktionierung. Sie kann mit relativ geringem Aufwand online mit der ICP-MS gekoppelt werden und ermöglicht auf diese Weise Aussagen über die in verschiedenen Huminstoff-Fraktionen gebundenen Metallionen ([141] [142] [143] [144] [145] [146] [147]). Der Erhalt von Informationen über Molekülgrößen ist möglich, allerdings nicht unproblematisch, da das System generell aus Mangel an geeigneten Standards für Huminstoffe nicht optimal kalibriert werden kann. Es stehen verschiedene Säulenmaterialien zur Verfügung, wobei jedoch teilweise starke und irreversible Wechselwirkungen (Wasserstoffbrücken, Ladungseffekte) an den Oberflächen und Grenzen der stationären Phase auftreten, die Komplexierungsgleichgewichte beeinflussen und zu DOC-Verlusten führen können. Das System kann mit einer wenig aufwendigen Probenpräparation betrieben werden, allerdings führt die Fraktionierung zu einer deutlichen Verdünnung der Probe.

Bei der Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (FFFF) findet die Fraktionierung von Makromolekülen und Kolloiden aufgrund ihrer Eigenschaften im externen Feld eines Querflusses statt, was zu einer Trennung nach hydrodynamischem Durchmesser führt. Aufgrund des Fraktionierungsmechanismus ohne stationäre Phase ist die Gefahr irreversibler Wandadsorptionen erheblich verringert, was bei den eingesetzten relativ milden Triebkräften zu deutlich weniger Denaturierungseffekten, Konformationsänderungen bzw. strukturellen Brüchen führt. Die molekularen Spezies bleiben also weitgehend unversehrt. Mit der FFFF können Informationen über die Molekulargewichtsverteilung erhalten werden. Mit einem online-gekoppelten System FFFF-ICP-MS wurden von R.M. Barnes und anderen [155] [156] [157] [158] bereits Aussagen über die in verschiedenen Huminstoff-Fraktionen gebundenen Metallionen erhalten. Die Nachteile dieser Systeme liegen allerdings in einem eventuellen Verlust niedrigmolekularer Fraktionen durch die eingesetzte Membrane, in der Verdünnung der Probe bei der Fraktionierung sowie in der vergleichsweise geringen Verbreitung von FFFF-Systemen in den Laboratorien.

Die Kapillarelektrophorese wurde beim üblichen Einsatz der UV-Detektion (CE-UV) bereits erfolgreich zur Fraktionierung von Huminstoffen eingesetzt. Sie bietet gegenüber anderen Techniken Vorzüge, die sie auch zur Charakterisierung der metallionenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen sehr vielversprechend erscheinen ließ:

- Möglichkeit der Trennung von **Kationen und Anionen** über einen großen Molekulargewichtsbereich im selben Messlauf (besonders interessant für **freie Metallkationen** und **Huminstoff-Anionen** einschließlich komplexierter Metallionen).
- Fließgleichgewichte in der Kapillare, ohne Wechselwirkungen und Verluste an einer stationären Phase.
- Kontinuierliche Fraktionierungs-Signale (gegenüber den summarischen Fraktionen der Ultrafiltration).
- Hohe Trennschärfe, kurze Analysenzeiten.
- Geringe Probenvolumina, einfache Probenvorbereitung.
- Zunehmende Verfügbarkeit der CE in den Laboratorien.

Gegenüber der Ultrafiltration bietet die Kapillarelektrophorese insbesondere die Vorteile einer höher aufgelösten Fraktionierung. Weiterhin ließ die Kapillarelektrophorese nach Kopplung mit der ICP-MS und Entwicklung einer geeigneten Analysenmethodik eine klare Unterscheidung zwischen frei bzw. huminstoffkomplexiert vorliegenden Metallionen möglich erscheinen.

Die vielversprechenden Möglichkeiten der CE-ICP-MS zur Charakterisierung der metallionenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen wurden daher in der vorliegenden Arbeit in Form methodischer Entwicklungen und Optimierungen unter Einsatz sowohl der UV- als auch der ICP-MS-Detektion (als CE-UV-ICP-MS) zur Charakterisierung von Huminstoffen genutzt.

Das angestrebte Ziel der Charakterisierung der metallionenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen mit der CE-UV-ICP-MS beinhaltet die Schwierigkeit, dass die Trennung und Fraktionierung von Metallkationen und Huminstoffanionen unter denselben Versuchsbedingungen in einem Messlauf erfolgen sollte. Auf diese Weise würde bei einer gegebenen Metallionenkonzentration in der Gesamtlösung sichtbar, ob die Metallionen (abhängig vom betrachteten Element) unter den Versuchsbedingungen huminstoffkomplexiert oder frei vorliegen und ab welcher zudosierten Metallionenmenge keine weitere Komplexierung durch den Huminstoff erfolgt. Eine derartige Erschöpfung der Komplexierungskapazität müsste sich dann in einer deutlichen Zunahme der Signalfläche zu den Migrationszeiten frei vorliegender Metallionen bemerkbar machen.

Generell nehmen mit steigenden pH-Werten die negativen Ladungen der Huminstoffmoleküle zu, was zu einem besseren Migrationsverhalten in der Kapillarelektrophorese führt. Tatsächlich sind viele in der Literatur zu findende CE-Fraktionierungen von Huminstoffen mit UV-Detektion bei pH-Werten über 7 durchgeführt worden [167] [169] [176] [179] [180]. Bei der in dieser Arbeit zusätzlich zur UV-Detektion eingesetzten ICP-MS-Detektion kann allerdings bei alkalischen pH-Werten eine Metallionen-Speziation im Sinne frei bzw. huminstoffkomplexierter vorliegender Ionen nicht vorgenommen werden. Die zunächst voneinander unabhängige Optimierung der Bedingungen für die Huminstoff-Fraktionierung mit UV-Detektion bzw. der Trennung frei vorliegender Metallionen (Metallionen-Standardlösungen) mit ICP-MS-Detektion führte zur Entwicklung einer Methode, die eine Huminstoff-Fraktionierung einschließlich der Differenzierung freier bzw. huminstoffgebundener Metallionen ermöglicht.

Die überwiegende Anzahl der in der Literatur (z.B. [169] [178] [179] [180]) zu findenden Charakterisierungen von Huminstoffen durch CE-Fraktionierung mit alleiniger UV-Detektion arbeitet im Betriebsmodus der Kapillarzonenelektrophorese (CZE). Die in der vorliegenden Arbeit ebenfalls eingesetzte CZE zeigte insbesondere bei der Kopplung der CE mit der ICP-MS eine große Vielseitigkeit. Bei der Variation und Optimierung der Puffersysteme und pH-Werte zeigte sich eine gute Eignung der Puffersysteme Acetat und Phosphat, wobei die für den neuartigen Einsatz im gekoppelten System erwünschten niedriger werdenden pH-Werte aufgrund des Einflusses auf den EOF und den Deprotonierungsgrad der Huminstoff-Probenbestandteile zu deutlich längeren Fraktionierungszeiten führten. Der teilweise starke Einfluss der unterschiedlichen Puffersysteme, Konzentrationen und pH-Werte auf die Fraktionierungen zeigte die Notwendigkeit, diese Versuchsbedingungen bei vergleichenden Untersuchungen sehr konstant zu halten.

Die Schwerpunkte der Optimierung der Messbedingungen für die CE-ICP-MS lagen in der Fraktionierung und Detektion huminstoffkomplexierter sowie nicht huminstoffkomplexierter Metallionen. Nur durch den Erhalt eines Signals, das sich freien Metallionen zuordnen lässt, kann – bei Dotierungsexperimenten – ein Erschöpfen des Komplexierungsvermögens eindeutig erkannt werden. Huminstoffkomplexierte Metallionen waren bei den zunächst mit der CE-UV eingesetzten leicht alkalischen pH-Werten gut detektierbar; sie ermöglichten jedoch keine Differenzierung von frei vorliegenden Metallionen. Die gute Eignung der Puffersysteme Phosphat und insbesondere Acetat für den Einsatz mit der CE-ICP-MS zeigte sich auch an der Stabilität der Zerstäubung.

Die Prüfung eines weiten Bereichs an pH-Werten mit Acetatpuffern zeigte den erwarteten hohen Einfluss des Puffer-pH-Wertes auf die Fraktionierung und Detektion freier Metallkationen. Der Erhalt scharfer Signale bei einem pH-Wert von 2,3 (Essigsäure 1 mol/L) für Cäsium- und Cadmiumionen der Probenkonzentration 1 µg/L bei einem Injektionsvolumen von 2,2 nL (vgl. Abbildung 61 in Abschnitt 3.1.2) zeigt die Möglichkeit

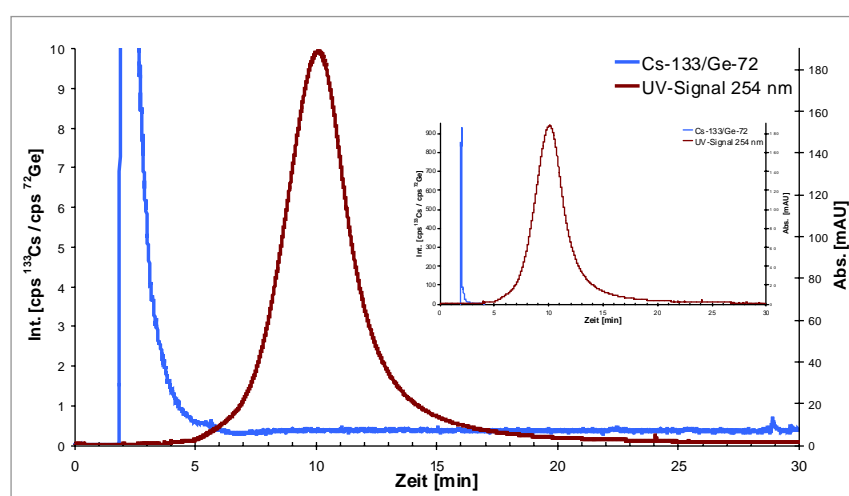
der CE-Fraktionierung und klaren Detektion der minimalen Ionenmengen von  $1,96 \cdot 10^{-17}$  mol Cadmiumionen bzw.  $1,66 \cdot 10^{-17}$  mol Cäsiumionen (also absolut etwa 12 Mio. Cadmiumionen bzw. 10 Mio. Cäsiumionen). Der Erhalt scharfer und in den Migrationszeiten jeweils konstanter Signale auch bis zu einem pH-Wert von 5,1 bei demselben Injektionsvolumen der Metallionenstandards ( $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$ ) über den weiten Konzentrationsbereich von 10 – 10.000  $\mu\text{g/L}$  versprach eine gute Eignung für Dotierungsexperimente von Huminstoffen. Für den pH-Wert 5,1 wurde daraufhin die Fraktionierung der Huminstoffproben, die bei deutlich niedrigeren pH-Werten aufgrund von Protonierung nicht mehr möglich ist, optimiert. Die bei einem pH-Wert von 5,1 durch einen vergleichsweise geringen EOF verursachte lange Fraktionierungsdauer der ausgewählten Huminstoffproben ließ einen zusätzlich zur Spannung von 30 kV angelegten Druck von 50 mbar an der Probenaufgabeseite während der gesamten Fraktionierungsdauer sinnvoll erscheinen. Die auf diese Weise in einem Zeitraum von 30 Minuten erhaltenen Elektropherogramme glichen dabei denen, die bei höheren pH-Werten ohne zusätzlichen Druck erhalten wurden. Der zusätzlich angelegte Druck führte auch im Falle der Trennung verschiedener Arsenspezies und der Metallionen-Standardlösungen zu Elektropherogrammen, in denen die Migrationszeiten der in guter Qualität erhaltenen Signale verringert waren.

Die auf diese Weise geschaffenen Voraussetzungen für die Charakterisierung der metallionenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen mussten aufgrund der Notwendigkeit, die fraktionierten Huminstoffproben mit der UV-Detektion zu verfolgen – eine DOC-Detektion mit der ICP-MS über das  $^{13}\text{C}$ -Signal war nicht möglich – durch weitere Überlegungen bezüglich der Mess-Strategie ergänzt werden. Die Ergebnisse der aufgrund der Apparate-Geometrie der CE bezüglich der UV-Detektion bzw. der Lokalisation des Interface zur ICP-MS durchgeführten Versuchsserien führten zu folgender Vorgehensweise: Die Versuchsdurchführung erfolgt mit nur einer Kapillare und kombinierter UV- und ICP-MS-Detektion, was allerdings aufgrund des deutlich vor dem Kapillarende angebrachten UV-Fensters eine UV-Signalkorrektur erforderte. Die Untersuchungen zeigten, dass diese Mess-Strategie aufgrund des Vorliegens exakt derselben Versuchsbedingungen (wie Proben- oder Kapillarezustand) gegenüber alternativ möglichen Messungen mit zwei getrennten Kapillaren erhebliche Vorteile aufwies. Durch eine geeignete Postkonditionierung wurde die Kapillare zwischen den Messläufen gereinigt und die innere Oberfläche in einen reproduzierbaren Zustand gebracht. Die Normierung der mit der CE-ICP-MS erhaltenen Metallsignale der fraktionierten Huminstoffproben auf das der Interface-Make-up-Lösung zugesetzte Germanium ermöglichte die Korrektur von Schwankungen in der Zerstäubung, die bei der vorliegenden Probenmatrix gelegentlich auftraten.

Die entwickelten und optimierten experimentellen Bedingungen für die CE-UV-ICP-MS ermöglichen eine umfangreiche Charakterisierung der metallionenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen. Dabei ist neben der Fraktionierung von Humin- und insbesondere Fulvinsäuren auch die Detektion von freien Metallionen in niedrigen und hohen

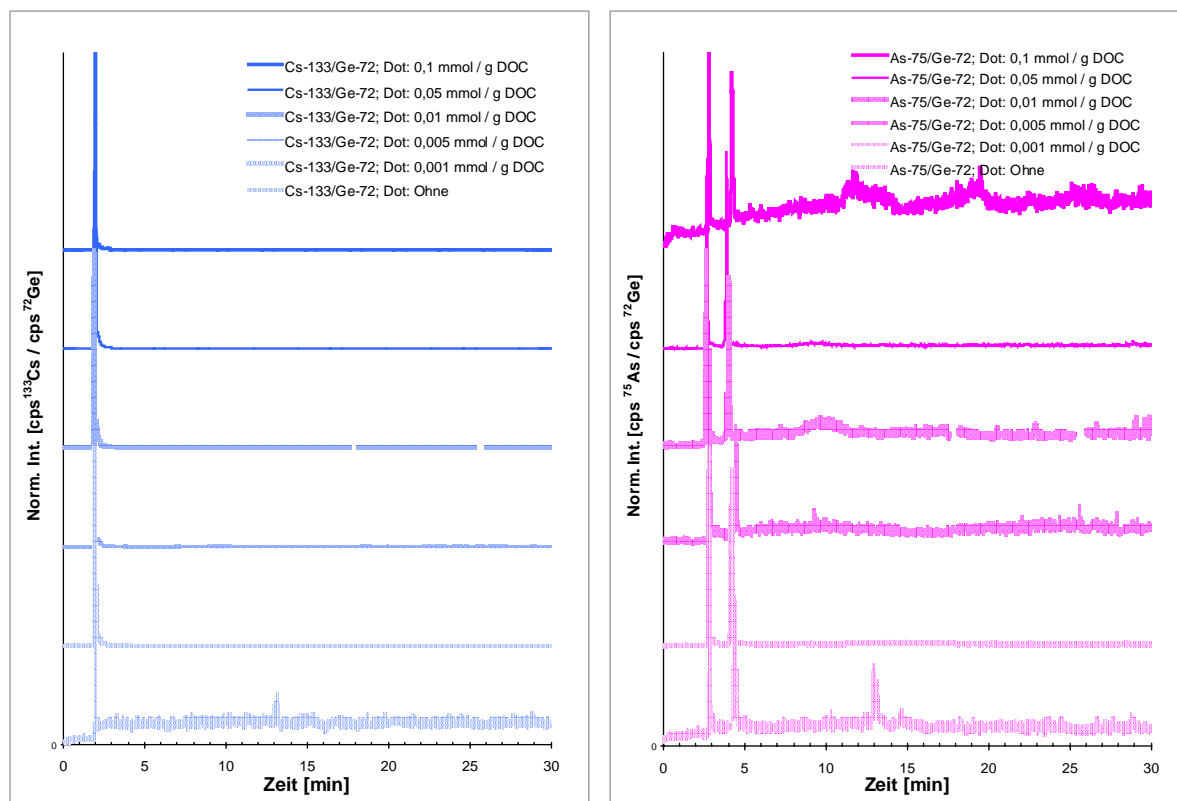
Konzentrationen, eindeutig getrennt von in verschiedenen Huminstoff-Grobfractionen komplexiert vorliegenden Metallionen möglich (z.B. Abbildung 188 bis Abbildung 192).

Die folgenden Abbildungen zeigen einige Voraussetzungen und Möglichkeiten, die die entwickelte Methode bietet. Sie hat die Empfindlichkeit, Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Metallionen und Fraktionen der Huminstoffprobe in ihrer Stärke und Charakteristik sehr differenziert darzustellen. Sie ermöglicht auch eine klare Detektion nicht erfolgreicher Wechselwirkungen, was in Abbildung 188 am Beispiel der Fraktionierung der mit 0,05 mmol Cs<sup>+</sup> / g DOC dotierten Huminstoffprobe HOFA13 gezeigt ist.



**Abbildung 188:** Keine Wechselwirkungen der Cäsiumionen mit der Probe HOFA13 (Dotierung: 0,05 mmol Cs<sup>+</sup> / g DOC); großes Bild: Vergrößerung der Cs-Basislinie; kleines Bild: gesamtes Cs-Signal

Die Cäsiumionen lassen sich aufgrund ihrer Migrationszeit eindeutig frei vorliegenden Ionen zuordnen. Das Cäsiumsignal zeigt bei einer Migrationszeit um 10 Minuten, bei der das UV-Signal den fraktionierten Huminstoff anzeigt, keinerlei Abweichung von der Basislinie. Dies deutet darauf hin, dass erwartungsgemäß keine Wechselwirkungen mit der Huminstoffprobe erfolgten. Dieses Ergebnis gilt für alle untersuchten dotierten Mengen bis zu einer Konzentrationen von 0,1 mmol Cs<sup>+</sup> / g DOC, wie Abbildung 189 links zeigt. Die Migrationszeiten der Cäsiumsignale blieben dabei absolut konstant. Die Empfindlichkeit der Methode gegenüber dem unterschiedlich starken Komplexierungsverhalten der weiteren fünf untersuchten Metallionen wird in Abschnitt 4.2 diskutiert.

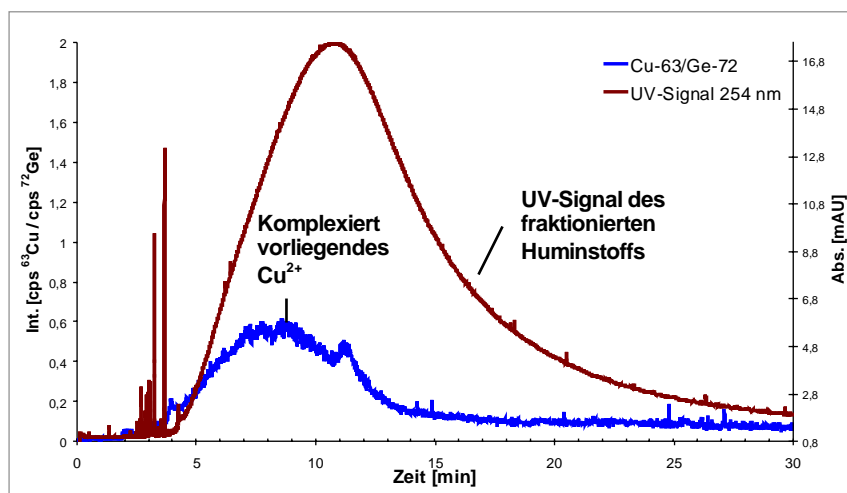


**Abbildung 189: Methodische Voraussetzungen; Links: Keinerlei Wechselwirkungen der in ansteigenden Mengen zudotierten Cäsiumionen mit der Huminstoffprobe HOFA13; Rechts: Scharfe Trennung der zuinjizierten Spezies Arsenocholin und Arsenobetain**

Zur Sicherstellung einer konstanten Analysenqualität wurden in den Messläufen die Arsenspezies Arsenocholin und Arsenobetain in der konstanten Konzentration von jeweils 200 µg/L mit 20 mbar·s (~ 2,2 nL) injiziert. Die zugehörigen Signale der mitgetrennten Arsenspezies sind in Abbildung 189 rechts dargestellt. Die in allen Fällen scharfe Trennung der Spezies und die weitgehende Konstanz der Migrationszeiten bestätigen die in sämtlichen Messläufen einheitlichen Messbedingungen.

Neben diesen methodischen Voraussetzungen zeichnet sich die optimierte Methode für die CE-UV-ICP-MS zur Charakterisierung von Huminstoffen durch verschiedene Möglichkeiten aus, Informationen über ein vorliegendes Huminstoff-Metallionen-System zu erhalten. Bereits die Fraktionierung einer gegebenen Huminstoffprobe (ohne zusätzliche Dotierung mit Metallionen) liefert eine Reihe von Informationen. Die beispielhaft in Abbildung 190 gezeigten Elektropherogramme der Probe OR02RM lassen neben den Informationen, die das UV-Signal über seine Form, Signalbreite (bei halber Höhe) und mittlere Migrationszeit (z.B. über die Polydispersität und das Ladungs- zu Masse-Verhältnis der Fraktionen) enthält, über das deutliche, breite Kupfersignal zu Migrationszeiten des

fraktionierten Huminstoffs auch Rückschlüsse über den Gehalt an komplexierten Metallionen zu.

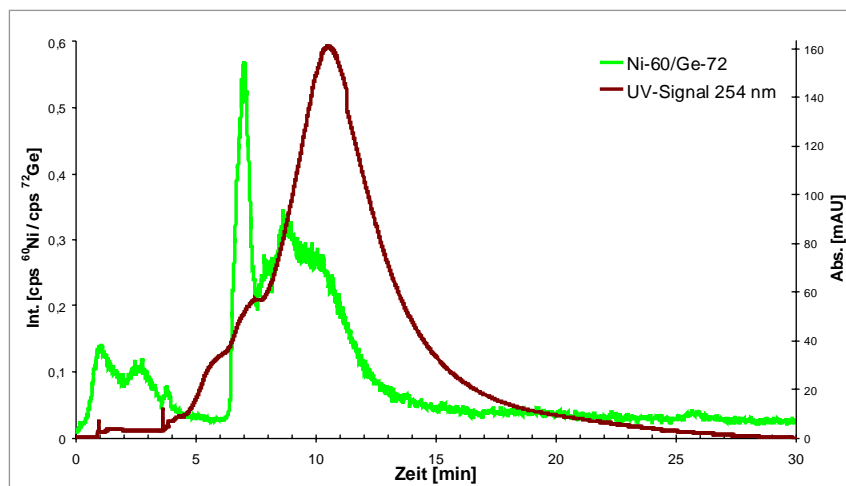


**Abbildung 190: Huminstoffkomplexierung von  $\text{Cu}^{2+}$  in der undotierten Huminstoffprobe OR02RM**

Das im vorliegenden Beispiel durch die Fraktionierung der Probe OR02RM mit der CE-UV-ICP-MS erhaltene ausgeprägte Kupfersignal zwischen 5 und 13 Minuten bestätigt qualitativ die in der Gesamtprobe enthaltene hohe Konzentration an Kupferionen (Bulkanalyse: 227  $\mu\text{g/L}$ ). Darüber hinaus wird aufgrund der Migrationszeiten, die denen des UV-Signals des fraktionierten Huminstoffs entsprechen, die Information erhalten, dass die Kupferionen in der Probe vollständig huminstoffkomplexiert vorliegen.

Bei Dotierungen von Huminstoffproben mit Metallionen, z.B. der Probe FS-023 mit Cadmiumionen (vgl. Abbildung 132 bis Abbildung 134 in Abschnitt 3.2.3.4), steigt die Intensität der Cadmiumsignale der in diesem Konzentrationsbereich komplexiert vorliegenden  $\text{Cd}^{2+}$ -Ionen etwa proportional zur zudosierten Metallionenmenge an. Diese Tatsache zeigt die Möglichkeit, die vorliegende Methode unter bestimmten Voraussetzungen auch zu semiquantitativen Bestimmungen komplexiert bzw. frei vorliegender Metallionen einzusetzen.

Die hohe Auflösung der Elektropherogramme fraktionierter Huminstoffproben ist in Abbildung 191 am Beispiel der metallionendotierten Probe FS-018 gezeigt.



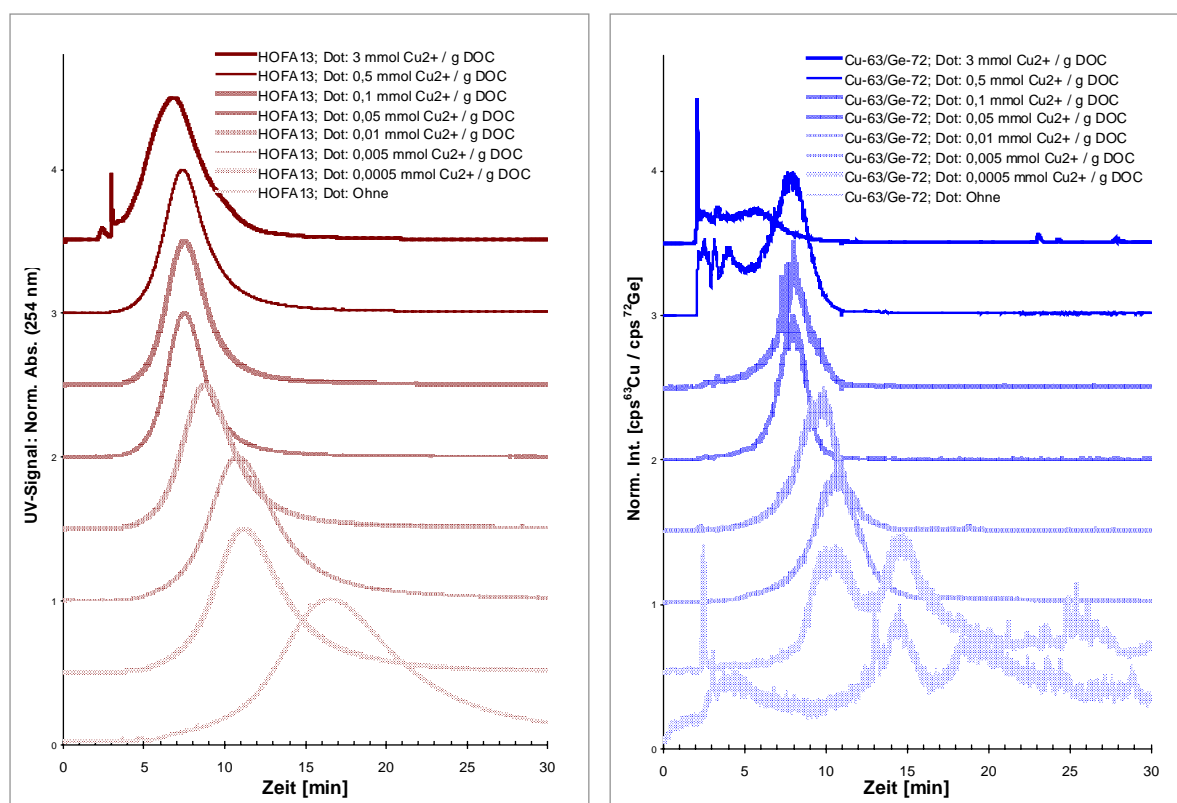
**Abbildung 191: Auflösungsvermögen der CE-UV-ICP-MS bei der Charakterisierung von Huminstoffen (Dotierung der Huminstoffprobe FS-018 mit 0,01 mmol Metallionen / g DOC)**

Die Schultern im UV-Signal zwischen 5 und 8 Minuten zeigen klar unterscheidbare Fraktionen innerhalb der Gesamtprobe. Dabei ermöglicht die Auflösung der Signale eine Zuordnung der ebenfalls deutlich hervortretenden Nickelionen-Fraktion um 7 Minuten zur zweiten Schulter der Huminstoffprobe; die Huminstoffmoleküle dieser Fraktion scheinen verstärkt Nickelionen binden zu können. Die an diesem Beispiel gezeigte hohe Auflösung in der Huminstoff-Analytik ist ein großer Vorzug der CE-UV-ICP-MS und ermöglicht detaillierte Differenzierungen und Präzisierungen im Metallionenbindungsverhalten verschiedener Huminstoffproben.

Mit der entwickelten CE-UV-ICP-MS Methode ist es auch möglich, das beginnende Auftreten freier Ionen in der Probe bei Überschreiten der Komplexierungskapazität des Huminstoffs aufzuzeigen und die Metallionenkonzentration, ab der dies geschieht, als ungefähres Maß zur Abschätzung einer Komplexierungskapazität der entsprechenden Probe gegenüber den untersuchten Metallionen zu nutzen. Die Methode kann daher zu Vergleichen sowohl der ungefähren Komplexierungskapazitäten zwischen verschiedenen Huminstoffen als auch gegenüber unterschiedlichen Metallionen herangezogen werden.

Diese besondere Stärke wird bei der Fraktionierung von mit ansteigenden Metallionenmengen dotierten Huminstoffproben deutlich. In Abbildung 192 sind die Signalverläufe der CE-fraktionierten Probe HOFA13 dargestellt, die mit 0,0005, 0,005, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, bzw. 3 mmol  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen / g DOC dotiert wurde.





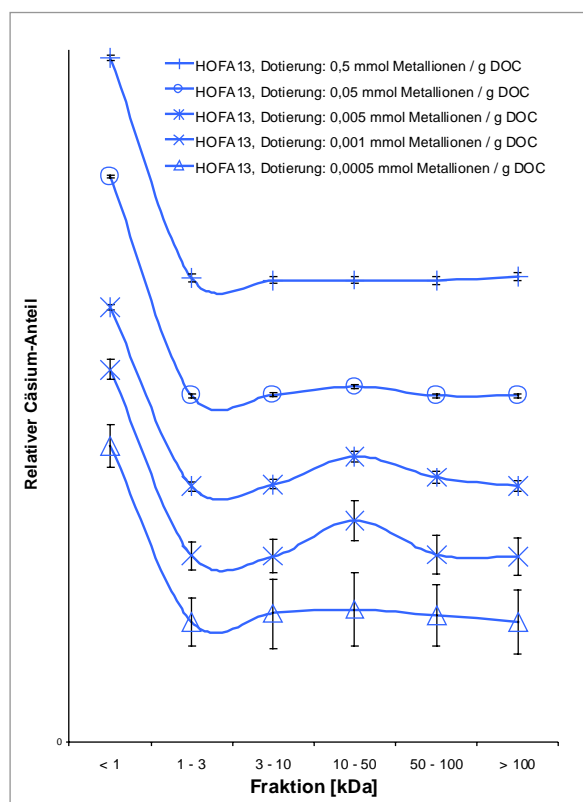
**Abbildung 192: Veränderungen der Signale der CE-fractionierten HS-Probe HOFA13 nach Dotierung mit ansteigenden Mengen an Cu<sup>2+</sup>-Ionen; links: UV-Signale; rechts: entsprechende Kupfersignale**

Neben der Möglichkeit, Veränderungen im Fraktionierungsverhalten der Huminstoffprobe bezüglich der mittleren Migrationszeit und Signalbreite der UV-Signale bei zunehmender Dotierung aufzuzeigen, wird anhand der Kupfersignale deutlich, dass sich deren Verlauf mit zunehmender Dotierung ändert. Bis zu einer Konzentration von 0,1 mmol Cu<sup>2+</sup> / g DOC werden Signale erhalten, deren Migrationszeit und Form eindeutig auf vollständig huminstoffkomplexiert vorliegende Kupferionen schließen lassen. Ab einer Kupferionenkonzentration von 0,5 mmol / g DOC erscheint zusätzlich ein Signal, das sich frei vorliegenden Ionen zuordnen lässt. Es steigt bei weiterer Dotierung in seiner Intensität.

Mit der SEC-ICP-MS oder der FFFF-ICP-MS (z.B. [155]) ist nur eine Speziation von Metallionen möglich, die an Huminstoff-Fractionen gebunden sind. Mit der CE-UV-ICP-MS können zusätzlich freie Metallkationen detektiert werden.

Das mit der CE-UV-ICP-MS ab einer bestimmten Konzentration zusätzlich zum Signal komplexierter Metallionen auftretende Signal freier Metallionen bei Sättigung der Komplexierungskapazität ist, verglichen mit der SEC-ICP-MS oder der FFFF-ICP-MS, eine herausragende Möglichkeit der Huminstoff-Charakterisierung. Sie eröffnet neue Wege bei der Charakterisierung der metallionenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen. Auch bei anderen, ähnlich gelagerten Fragestellungen wie etwa den Proteomics [211] oder in der Polymerforschung ist eine Nutzung dieser Möglichkeiten denkbar.

Ein Vergleich von Methode und Ergebnissen der Charakterisierung der metallionenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen mit der CE-UV-ICP-MS erfolgte mit der Ultrafiltration und DOC- sowie TRFA-Detektion. In Abbildung 193 ist unter dem Aspekt der Qualitätssicherung die Verteilung der Cäsiumionen auf die mit der Ultrafiltration erhaltenen Größenfraktionen der mit einem Metallionengemisch verschiedener Mengen dotierten Probe HOFA13 dargestellt. Die Abbildung ist inhaltlich mit dem linken Teil der Abbildung 189 (CE-UV-ICP-MS) zu vergleichen.



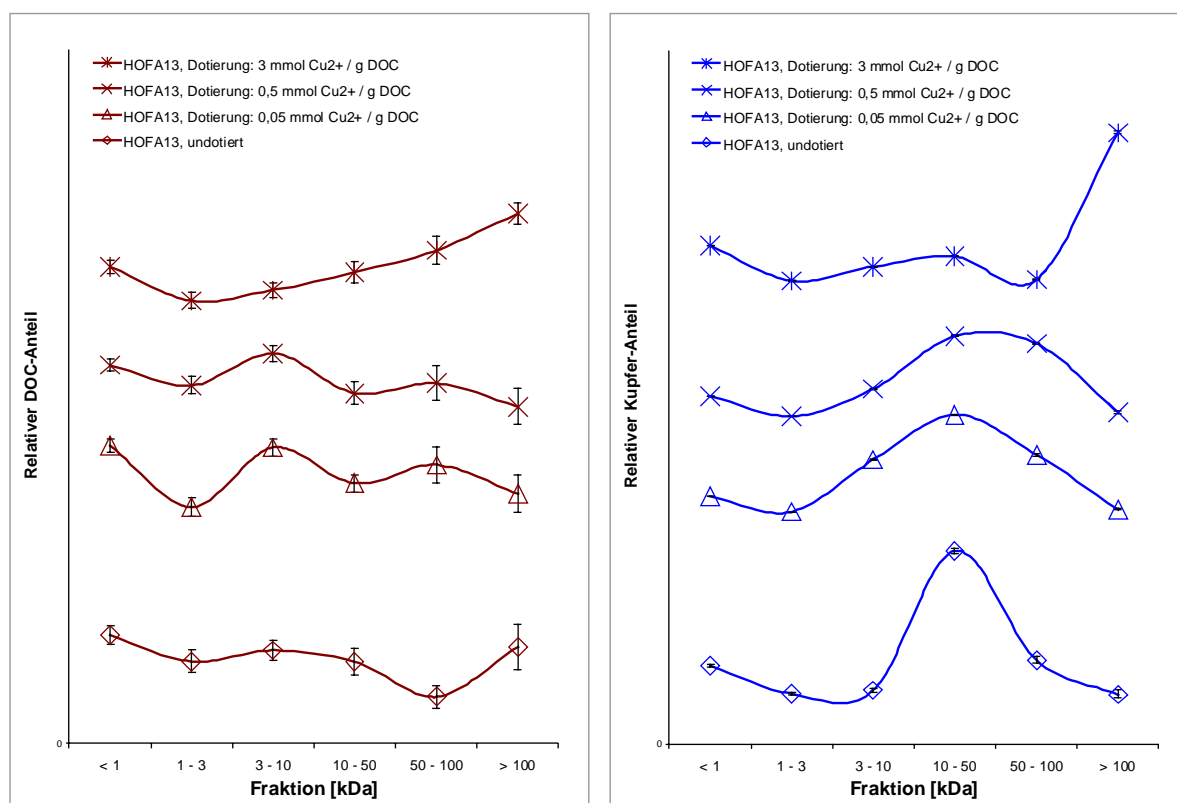
**Abbildung 193: Verteilung der Cs<sup>+</sup>-Ionen auf die Größenfraktionen bei Zunahme der gemeinsamen Dotierung mit den Ionen von sechs Metallen am Beispiel der Probe HOFA13**

*Vertrauensbereich der t-Verteilung (n = 8; P = 95 %)*

Während die Cäsiumsignale der CE-UV-ICP-MS in Abbildung 189 eindeutig ein freies Vorliegen der Cäsiumionen anzeigen, ist die Aussage der Ergebnisse der Ultrafiltration weniger eindeutig: Die Tatsache, dass bei jeder in der Probe vorliegenden Cäsiumionenkonzentration der größte Teil der Cs<sup>+</sup>-Ionen in der Fraktion < 1 kDa vorliegt, lässt vermuten, dass die Cäsiumionen jeweils hauptsächlich frei vorliegen. Allerdings kann bei der Ultrafiltration – anders als bei der CE-UV-ICP-MS – nicht eindeutig geklärt werden, ob alle in dieser Fraktion gefundenen Ionen tatsächlich unkomplexiert vorliegen, da in dieser Fraktion auch teilweise relevante DOC-Konzentrationen enthalten sind, die auf kleine Huminstoffmoleküle oder andere organische Moleküle zurückzuführen sind. Auffallend ist

auch, dass in den Fraktionen 10 – 50 kDa teilweise leichte Signalerhöhungen auftreten, die vermutlich auf methodische Unsauberkeiten im Sinne von Mitfällungen (Okklusionen) oder Membraneffekten wie Membranverstopfung zurückzuführen sind. Dennoch stimmen die Ergebnisse beider Methoden im Rahmen der methodischen Möglichkeiten überein.

In Abbildung 194 ist in Analogie zu Abbildung 192 (CE-UV-ICP-MS) der Vergleich der Verteilung des DOC bzw. der  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen auf die Größenfraktionen der Ultrafiltration bei Zunahme der alleinigen Dotierung der Probe HOFA13 mit  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen dargestellt.



**Abbildung 194: Vergleich der Verteilung des DOC bzw. der  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen auf die Größenfraktionen der Ultrafiltration bei Zunahme der Dotierung der Probe HOFA13 mit  $\text{Cu}^{2+}$ -Ionen**

*Vertrauensbereich der t-Verteilung (n = 8; P = 95 %)*

Die Auflösung der Signale ist im Vergleich zu den Elektropherogrammen der CE-UV-ICP-MS gering (vgl. hierzu die Auflösung in Abbildung 191). Die erhaltenen sechs Fraktionen stellen ihrerseits gleichsam nur summarische Ergebnisse dar, die gegenüber den transienten Signalen der CE-UV-ICP-MS einen geringeren und weniger eindeutigen Informationsgehalt aufweisen. Hinzu kommt, dass die erhaltenen Fraktionen durch die Trenngrenzen der kommerziell erhältlichen Membranen determiniert und nicht äquidistant sind.

Wesentliche Vorteile der Ultrafiltration liegen dagegen im direkten Erhalt von absoluten Größeninformationen über die in der Probe vorliegenden Huminstoffmoleküle. So liegt der

hauptsächliche Teil der Moleküle der undotierten Probe HOFA13 im Bereich zwischen 1 und 100 kDa. Interessant ist, dass auch ein deutlicher DOC-Anteil in der Fraktion  $< 1$  kDa zu finden ist, was eine Betrachtung der in dieser Fraktion detektierten Metallionen als frei vorliegend nur sehr bedingt ermöglicht. Ein weiterer erheblicher Vorteil der UF/DOC/TRFA ist darin zu sehen, dass der apparative Aufwand der Fraktionierung über Ultrafiltration erheblich geringer ist als im Falle der CE, bei deren Kopplung mit der ICP-MS ein spezielles Interface benötigt wird. Eine online-Kopplung der Ultrafiltration mit der ICP-MS ist nicht möglich. Die Probenvorbereitung für die Ultrafiltration ist ähnlich wenig aufwendig wie die für die CE-Fraktionierung, wobei jedoch deutlich größere Probenvolumina notwendig sind, die nicht in jedem Fall verfügbar sind. Allerdings ermöglicht die DOC-Detektion bei der Ultrafiltration auch geringere Probenkonzentrationen als die UV-Detektion an der dünnen Quarzkapillare. Bei den Metallionen-Dotierungsexperimenten ist das „Freiwerden“ von Metallionen bei Erschöpfung der Komplexierungskapazität mit der UF/DOC/TRFA wesentlich undeutlicher zu erkennen als im Falle der CE-UV-ICP-MS und Unterschiede in der Stärke der Komplexierung verschiedener Metallionen (vgl. Abschnitt 4.2) können daher weniger deutlich untersucht werden.

*Fazit:* Die CE-UV-ICP-MS bietet im Vergleich zur Ultrafiltration mit DOC- und TRFA-Detektion erweiterte Möglichkeiten bei der Charakterisierung der metallionenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen. Die Differenzierung freier und huminstoffkomplexierter Metallionen ist deutlicher und ermöglicht damit auch einen Vergleich der komplexierenden Eigenschaften einer gegebenen Huminstoffprobe gegenüber unterschiedlichen Metallionen. In dieser Möglichkeit liegt eine wertvolle Ergänzung zu den hochentwickelten Methoden SEC-ICP-MS und FFF-ICP-MS. Die Kombination der CE-UV-ICP-MS mit der Ultrafiltration erweitert die Möglichkeiten durch den Erhalt absoluter Größeninformationen.

## 4.2 Charakterisierung von Huminstoffen durch Studium ihres Fraktionierungs- und Komplexierungsverhaltens

Huminstoffe haben aufgrund ihrer Verbreitung und ihrer Eigenschaften eine große Bedeutung in aquatischen Systemen. Insbesondere betrifft dies die Eigenschaft, Schadstoffe wie Schwermetallionen zu binden und zu transportieren. Für ein besseres Verständnis der Eigenschaften von Huminstoffen und eine Erweiterung der Informationen über Huminstoff-Metallionen-Systeme werden in der Huminstoff-Forschung verschiedene Verfahren eingesetzt. Die in dieser Arbeit zur Huminstoff-Charakterisierung optimierte Methode CE-UV-ICP-MS ermöglicht differenzierte Aussagen über das Verhalten von Huminstoffen bei Anwesenheit unterschiedlicher Metallionen unter verschiedenen Bedingungen in einem wässrigen System, auch in Abhängigkeit einiger struktureller Aspekte der Huminstoff-Liganden. Die Ergebnisse ermöglichen Rückschlüsse auf das thermodynamische und kinetische Verhalten der Huminstoffe bei der Komplexierung von Metallionen in aquatischen Systemen sowie auf mit der Komplexierung in Zusammenhang stehende Änderungen in den Ladungs- bzw. Größenverteilungen der Huminstoffe. Diese Veränderungen sind von ökologischer Bedeutung, da sie einen deutlichen Einfluss auf den Transport von Schwermetallionen in der Umwelt haben.

### 4.2.1 Metallionen-Bindungsverhalten unter den Bedingungen der Fließgleichgewichte der Kapillarelektrophorese

Die Methode CE-UV-ICP-MS ist in der Lage, das allgemeine strukturelle, konformative und bindungsmäßige Verhalten von gelösten Huminstoffen gegenüber Metallionen bei verschiedenen äußeren Faktoren zu beschreiben. Die mit der CE-UV-ICP-MS fraktionierten undotierten Huminstoffproben zeigten in ihrem Migrationsverhalten jeweils eigene, probenspezifische Charakteristika, z.B. bezüglich der Polydispersität oder einer bevorzugten Komplexierung von Metallionen in bestimmten Fraktionen. Diese Charakteristika wurden bei den anschließenden Dotierungsexperimenten noch deutlicher. Dabei bestätigten die Elektropherogramme der nicht metallionendotierten Proben die bei der Basis-Charakterisierung erhaltenen Ergebnisse, ohne diese allerdings zu ersetzen. Die UV- und ICP-MS-Signale der CE-fraktionierten Proben beinhalten allerdings durch die hohe Auflösung der transienten Signale deutlich weitergehende Informationen, z.B.:

- Der auf die Anreicherung über Tangentialfluss-Ultrafiltration zurückzuführende hohe Metallionengehalt der Probe OR02RM wurde anhand der

Elektropherogramme in verschiedenen Grobfractionen der Probe sichtbar. Die undotierte Probe ist teilweise in ihrer Komplexierungskapazität bereits gesättigt.

- Auffallend ist das vergleichsweise schmale UV-Signal der Probe OR02RM bei geringen mittleren Migrationszeiten. Dies könnte durch Kompensation negativer Ladungen des Huminstoffs aufgrund adsorbierter und komplexierter Metallkationen verursacht sein, da früh migrierende Huminstoff-Fractionen kleine Ladungs- zu Masse-Verhältnisse aufweisen. Die relativ geringe Signalbreite kann aber auch auf eine geringe Polydispersität der Probe zurückzuführen sein.
- Beim Huminstoff OR02RM wurden darüberhinaus Unterschiede im Fraktionierungsverhalten zwischen der original angereicherten Flüssigprobe und der erneut gelösten, gefriergetrockneten Probe festgestellt. Offensichtlich führte die Gefriertrocknung zu strukturellen Änderungen der Probe, die allerdings nach einigen Tagen Äquilibrierzeit in Lösung kaum noch feststellbar waren.
- Eine Eigenart dieser Probe sind die teilweise in bestimmten Grobfractionen verstärkt migrierenden, wahrscheinlich komplexiert vorliegenden Metallionen (besonders Zink-, Cadmium- und Bleiionen). Diese Eigenschaft bestätigte und verstärkte sich noch bei den Dotierungsexperimenten.
- Die im Vergleich zur Probe OR02RM geringeren Metallionengehalte der Proben HOFA13 und FS-001 lassen sich auf die Anreicherung bzw. Isolierung über das XAD-8-Verfahren zurückführen. Aber auch für diese Proben wurden jeweils sehr charakteristische UV- und ICP-MS-Signale erhalten, die bei den Dotierungsexperimenten mit Veränderungen wiederzufinden waren.

Dass XAD-8 angereicherte Proben verglichen mit der Anreicherung über Ultrafiltration einen erheblich höheren Anteil der komplexierten Metallionen verlieren, hat auch B. Aster anhand ein und derselben Probe deutlich gezeigt, indem sie die auf DOC bezogenen Metallionengehalte der Originalwasserprobe denen der über XAD-8 bzw. Ultrafiltration isolierten Proben gegenübergestellt hat [41].

Die bei der Dotierung verschiedener Huminstoffproben mit Metallionen auftretenden Wechselwirkungen waren bereits bei den sehr kurzen Kontaktzeiten zwischen Huminstoff- und Metallionen-Standardlösung innerhalb der Kapillare sehr ausgeprägt (siehe Abbildung 169 bis Abbildung 172). Die sich kreuzenden Migrationsrichtungen der Probenpfropfen von Huminstoff- und Metallionen-Standardlösung in der CE-Kapillare simulierten - sehr grob - die Verhältnisse und möglichen Wechselwirkungen, die in Fließgewässern bei Anwesenheit von Huminstoffen und Metallionen vorliegen können, wie in der schematischen Darstellung des Transports essentieller und toxischer Verbindungen durch kolloidale Träger in Abbildung 6 (Kapitel 2) gezeigt. Die vorliegenden Bedingungen bei der Fraktionierung mit der CE

scheinen dabei Huminstoff-Metallionen-Komplexe im Sinne eines Aufbrechens labiler Komplexe nicht wesentlich zu beeinflussen (vgl. Abschnitt 4.2.2).

#### **4.2.1.1 Einfluss zunehmender Metallionenmengen auf das Fraktionierungsverhalten von Huminstoffen**

Die hauptsächlich nach einer Äquilibrierzeit von einer Stunde erfolgte Charakterisierung von Huminstoffen mit der CE-UV-ICP-MS nach Dotierung mit ansteigenden Mengen an Metallionen ermöglichte neben dem Erhalt probenspezifischer Charakteristika einige allgemeine Beobachtungen, die am Beispiel der gemeinsamen Dotierung der Probe HOFA13 mit den Metallionen  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$  diskutiert werden sollen. Die Elektropherogramme sind in Abbildung 195 bis Abbildung 198 in auf die Ionen bezogenen Konzentrations-Vergleichsreihen dargestellt.

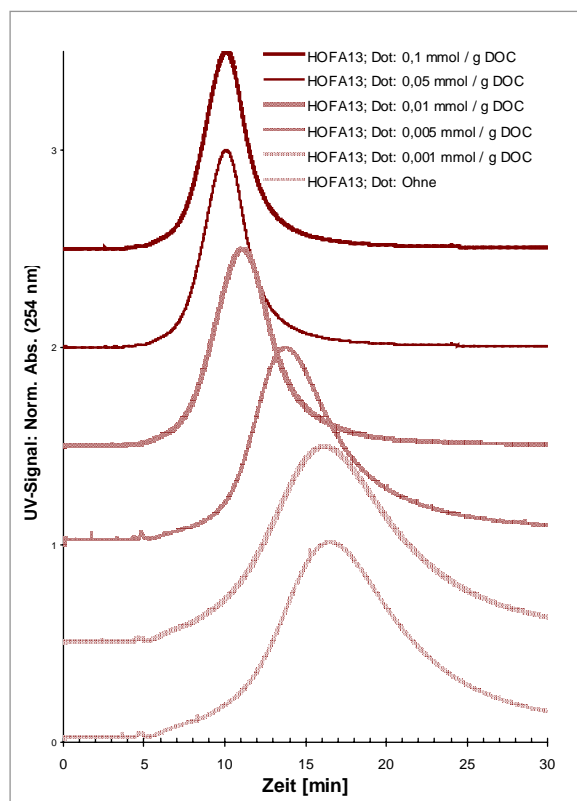


Abbildung 195: Einfluss der Dotierungen der Huminstoffprobe HOFA13 mit ansteigenden Mengen an  $\text{Ni}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -,  $\text{Cd}^{2+}$ -,  $\text{Cs}^+$ - und  $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen auf das CE-Fraktionierungsverhalten

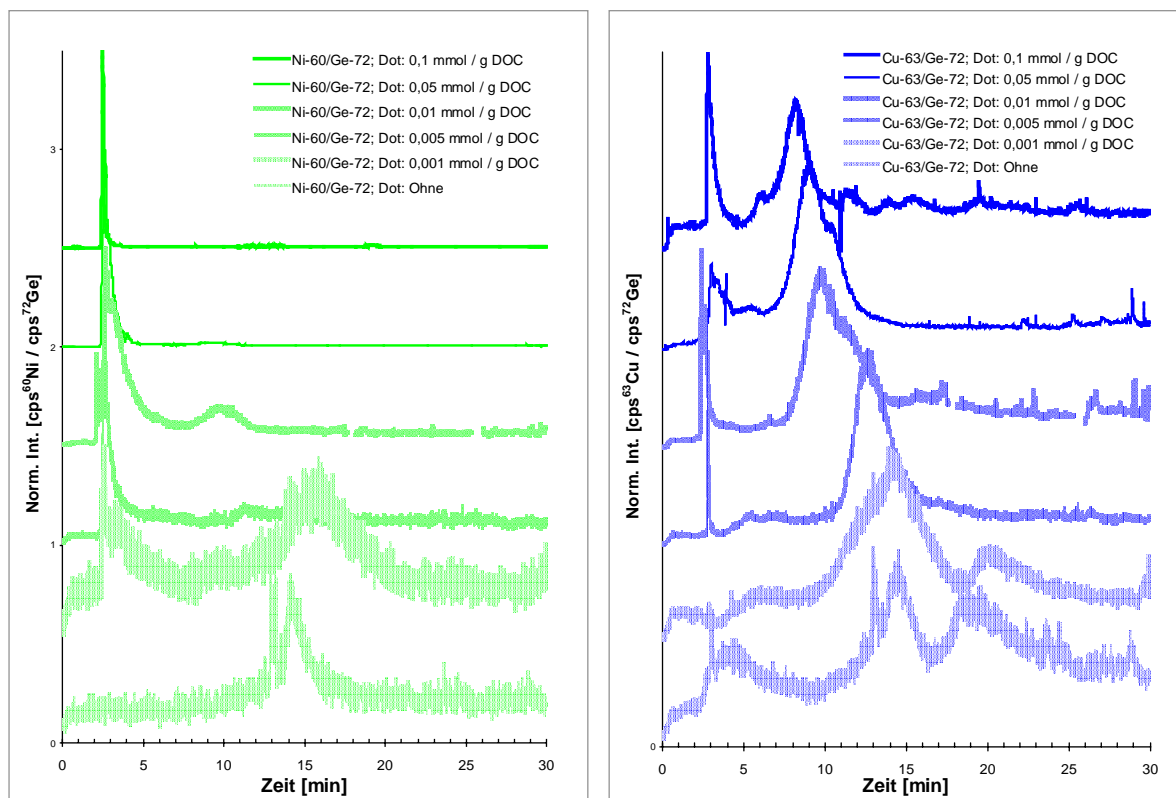


Abbildung 196: Änderungen der  $\text{Ni}^{2+}$ - bzw.  $\text{Cu}^{2+}$ -Signalverläufe der CE-fraktionierten HS-Probe HOFA13 nach Dotierung mit ansteigenden Mengen an  $\text{Ni}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -,  $\text{Cd}^{2+}$ -,  $\text{Cs}^+$ - und  $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen



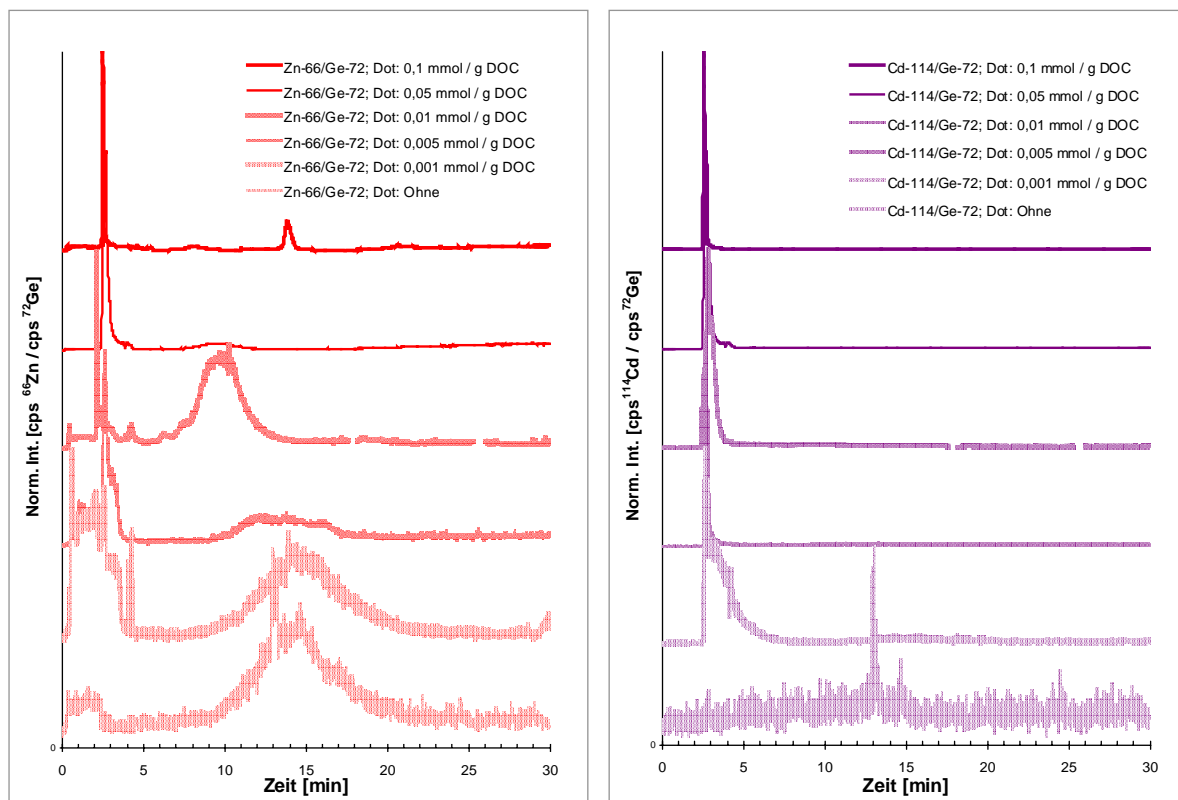


Abbildung 197: Änderungen der  $\text{Zn}^{2+}$ - bzw.  $\text{Cd}^{2+}$ -Signalverläufe der CE-fractionierten HS-Probe HOFA13 nach Dotierung mit ansteigenden Mengen an  $\text{Ni}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -,  $\text{Cd}^{2+}$ -,  $\text{Cs}^+$ - und  $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen

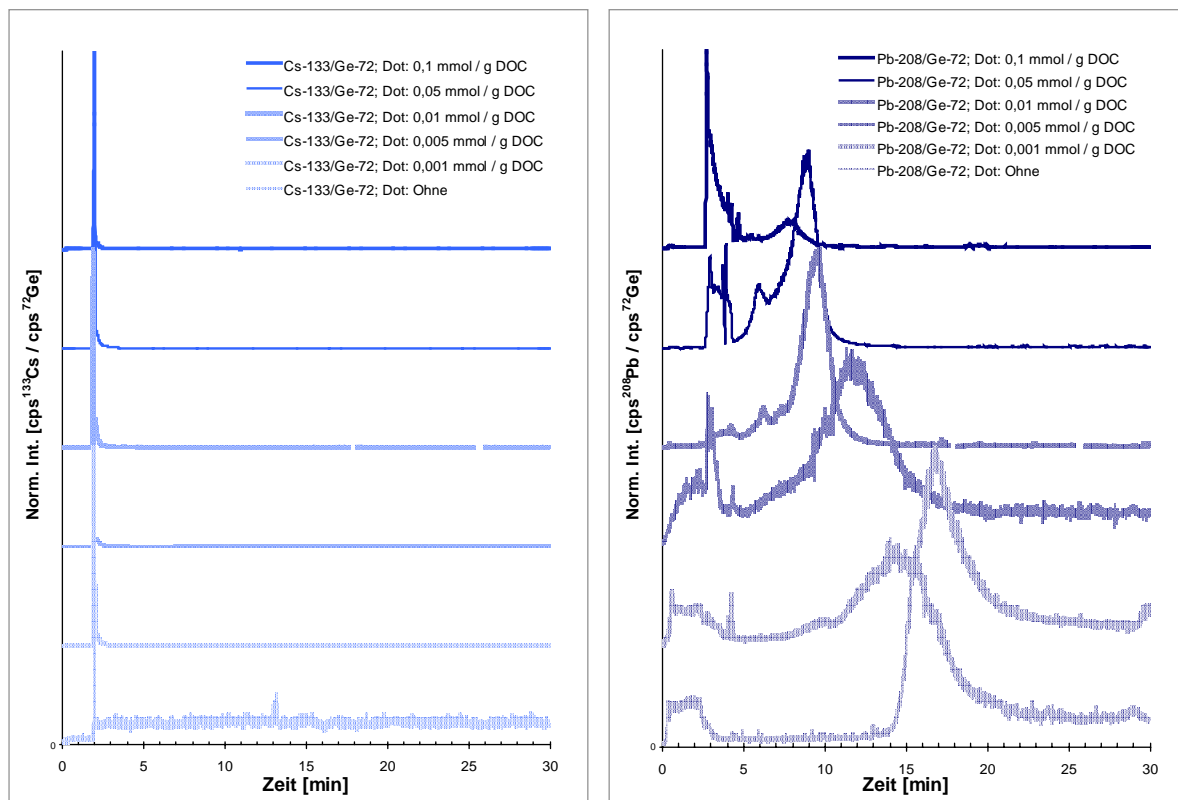


Abbildung 198: Änderungen der  $\text{Cs}^+$ - bzw.  $\text{Pb}^{2+}$ -Signalverläufe der CE-fractionierten HS-Probe HOFA13 nach Dotierung mit ansteigenden Mengen an  $\text{Ni}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -,  $\text{Cd}^{2+}$ -,  $\text{Cs}^+$ - und  $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen

Die Signale der undotierten Probe sind jeweils unten dargestellt, nach oben hin erfolgt die Darstellung der mit zunehmenden Metallionenmengen dotierten Probe. Auffallend ist die mit zunehmender Metallionendotierung eintretende Verschiebung des UV-Signals zu geringeren Migrationszeiten (Abbildung 195). Diese Verschiebung wurde in unterschiedlich starkem Ausmaß und in Abhängigkeit von der Natur der dotierten Metallionen auch bei den anderen untersuchten Huminstoffproben beobachtet.

Im Elektropherogramm früh erscheinende Huminstoff-Fractionen migrieren nur langsam gegen den EOF, sie haben ein kleines Ladungs- zu Masse-Verhältnis, sind also entweder wenig stark negativ geladen und / oder bestehen aus großen Molekülen. Das Verhalten der Signalverschiebung ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass durch die Dotierung der Huminstoffproben mit Metallionen und die damit verbundene Komplexierung der Ionen, die anhand der ICP-MS-Signale deutlich verfolgt werden kann, eine Neutralisierung negativer Ladungen (z.B. Carboxylatgruppen) des Huminstoffs einhergeht. Weiterhin ist es möglich, dass die Huminstoff-Aggregate mit zunehmender Metallionendotierung auch größer werden, was daran liegen könnte, dass Metallionen, die mit außen an den Huminstoffmolekülen liegenden Bindungsplätzen (‘outer-sphere’) reagieren, zu Verbrückungen zwischen Huminstoffmolekülen führen.

Eine Zunahme der höhermolekularen Größenfraktion (> 100 kDa) auf Kosten kleinerer Fraktionen (10 – 50 kDa) bei Zugabe von Metallionen zu einer Huminstofflösung wurde auch von B. Aster nach Fraktionierung mit einem kaskadenförmig aufgebauten Tangentialfluss-Ultrafiltrationssystem (MST-UF) festgestellt [41]. Unter Einsatz eines gekoppelten Systems FFFF-ICP-MS stellten D. Amarasiriwardena, A. Siripinyanond und R.M. Barnes ebenfalls eine Zunahme der Aggregation von Huminstoffen bei steigender  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationen fest [155]. Das Versetzen einer Huminstofflösung (1 mg/mL) mit  $\text{CaCl}_2$ -Lösung (0,002 bis 0,8 mol/L) führte bei den hohen Konzentrationen zu einer Verschiebung der Größenverteilung der Huminstoffmoleküle zu höheren Molekulargewichten. Auch in diesem Fall wird eine Verbrückung von Carboxylatgruppen zweier Huminstoffmoleküle über  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen diskutiert, die zu Huminstoffaggregaten höherer Molekularmassen führt. Die in [155] eingesetzten Konzentrationen an  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen liegen allerdings deutlich über denen, die bei den maximalen Dotierungen in der vorliegenden Arbeit mit der CE-UV-ICP-MS eingesetzt wurden.

Dass die beobachteten Änderungen im Huminstoff-Fraktionierungsverhalten nicht allein durch die Zunahme der Ionenstärke verursacht sein können, sondern mit Ladungsneutralisierung durch Komplexierung bzw. mit größer werdenden Huminstoff-Aggregaten zusammenhängen, wird dadurch angezeigt, dass die Änderungen im Komplexierungsverhalten der Huminstoffproben offensichtlich davon abhängen, in welchem Ausmaß eine Komplexierung der zugegebenen Metallionen erfolgt. So führten Kupferionen, die in starkem Maße komplexiert werden, bei gleicher Stoffmengenkonzentration zu deutlicheren Änderungen im Huminstoff-Fraktionierungsverhalten als Cadmiumionen (vgl.

Abschnitt 3.2.3, Dotierung mit einzelnen Metallionen, z.B. Abbildung 111 bis Abbildung 119).

#### 4.2.1.2 Komplexierungsverhalten von Huminstoffen gegenüber zunehmenden Mengen verschiedener Metallionen

Die Dotierungen der Huminstoffproben mit zunehmenden Mengen an Metallionen führten generell zu etwa proportional ansteigenden Intensitäten der ICP-MS-Signale. Um die elementbezogenen Signalverläufe bei den verschiedenen untersuchten Konzentrationen mit den diesbezüglich möglichen Aussagen über das vorliegende System besser vergleichen zu können, wurden die Signale in Abbildung 195 bis Abbildung 198 jeweils auf ihre Maxima normiert und gestapelt dargestellt. Mit Ausnahme der Cäsiumionen, die selbst bei niedrigsten Konzentrationen überhaupt nicht komplexiert werden, und der Cadmiumionen, die unter den Bedingungen der gemeinsamen Dotierung mit verschiedenen Metallionen nahezu nicht komplexiert werden, zeigt sich bei den Nickel-, Kupfer-, Zink- und Bleiionen, dass die ICP-MS-Signale zunächst bei den geringen dotierten Metallionenkonzentrationen zu den Migrationszeiten des entsprechenden UV-Signals, das den fraktionierten Huminstoff bei der jeweils vorliegenden Metallionenkonzentration anzeigt, ansteigen.

Ab einer bestimmten Metallionenkonzentration, die für jedes der untersuchten Metalle verschieden ist, tritt zusätzlich das Signal dissoziiert vorliegender Metallionen auf. Ab dieser Metallionenkonzentration ist die Fähigkeit der Huminstoffprobe zur Metallionenkomplexierung gesättigt. Bei höheren dotierten Metallionenkonzentrationen gewinnt die frei vorliegende Metallionen anzeigende Signalfäche bei Migrationszeiten zwischen zwei und vier Minuten gegenüber der komplexierten Ionen anzeigenden Signalfäche zunehmend an Gewicht. Die CE-UV-ICP-MS macht die großen Unterschiede der Komplexierung verschiedener Metallionen durch Huminstoffe differenziert sichtbar und gut vergleichbar.

Im Falle der Huminstoffprobe HOFA13 (Abbildung 195 bis Abbildung 198) ergab sich unabhängig von der Natur der untersuchten Huminstoffe für die Stärke der Komplexierung der Metallionen folgende Reihenfolge:  $\text{Cu}^{2+} \approx \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+} \approx \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+} \gg \text{Cs}^+$ . Leichte Unterschiede traten zwischen den in Bezug auf die Komplexierung sehr ähnlichen Ionen von Kupfer und Blei, bzw. Zink und Nickel auf. Die Unterschiede werden detailliert in Abschnitt 4.2.2 bei der Abschätzung von Komplexierungskapazitäten diskutiert. D. Schmitt [39] nennt unter Verweis auf [212] und [213] folgende Reihenfolge der Komplexierungsstärke:  $\text{Pb}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Ni}^{2+}, \text{Cd}^{2+}, \text{Zn}^{2+}$ , bzw.  $\text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+}$ . Die Reihenfolge ist der in der vorliegenden Arbeit gefundenen ähnlich, allerdings mit dem Unterschied, dass die Untersuchungen mit der CE-UV-ICP-MS für Zinkionen eine deutlich stärkere Komplexierung durch Huminstoffe anzeigen als für Cadmiumionen. Dies könnte damit zusammenhängen, dass die als kinetisch labil geltenden Zinkionen-NOM-Komplexe durch die beispielsweise bei der SEC vorliegenden Bedingungen aufgespalten werden und die freien Zinkionen sich der

Bestimmung entziehen [39]. Die Stabilität insbesondere der Blei- und Kupferhumate wird auch von B. Aster [41] betont. Huminstoffkomplexe mit Blei- und Kupferionen werden selbst durch eine Isolierung von Humin- und Fulvinsäuren mit der XAD-8 Methode deutlich weniger stark getrennt als Komplexe mit anderen Metallionen. Bei der alleinigen Dotierung der Huminstoffproben mit Kupfer- bzw. Cadmiumionen lagen die Metallionen-Konzentrationen, ab denen auch dissoziierte Metallkationen detektiert wurden, im Vergleich zur gemeinsamen Dotierung mit den Ionen von sechs Metallen erwartungsgemäß deutlich höher. Eine detailliertere Diskussion erfolgt in Abschnitt 4.2.2.

Teilweise korrelierte das Erreichen der Grenze der Komplexierungskapazität bezüglich eines bestimmten Metallions mit dem Erreichen des Minimums der Migrationszeit des UV-Signals der fraktionierten Huminstoffprobe. Bei weiterer Dotierung, die hauptsächlich zu ICP-MS-Signalen dissoziiert vorliegender Metallionen führte, verschob sich das Maximum des UV-Signals in diesen Fällen wieder zu leicht erhöhten Migrationszeiten. Dies war beispielsweise bei der Dotierung der Probe HOFA13 mit Cadmiumionen (Abbildung 103 bis Abbildung 106), aber auch bei der gemeinsamen Dotierung der Probe OR02RM mit den Ionen von sechs Metallen der Fall (vgl. Abbildung 149 bis Abbildung 152). Nach dem Erreichen der geringsten mittleren Fraktionierungsdauer bei einer Metallionenkonzentration von 0,01 mmol / g DOC führte eine weitere Dotierung auf 0,05 mmol Metallionen /g DOC wieder zu einem breiteren und späteren erscheinenden UV-Signal mit einem Maximum bei etwa 13 Minuten. Bei dieser Metallionenkonzentration war die Komplexierungskapazität der Probe OR02RM auch gegenüber den gut komplexierbaren Ionen  $\text{Cu}^{2+}$  und  $\text{Pb}^{2+}$  deutlich überschritten. Eine mögliche Erklärung könnte darin liegen, dass in der Lösung die bei Überschreiten der maximalen Komplexierungskapazität des Huminstoffs deutlich zunehmende Konzentration an freien Metallionen dazu führt, dass die Huminstoff-Aggregate nicht weiter verbrückt, sondern wiederum etwas kleiner werden, was mit Umkomplexierung und Bildung thermodynamisch spannungsfreier Komplexe zusammenhängen könnte.

Auffallend ist die Tatsache, dass in vielen Fällen die ICP-MS-Signale, die komplexierte Metallionen anzeigen, zu Migrationszeiten erscheinen, die eher im vorderen Bereich des jeweils zugehörigen UV-Signals liegen. Ein Beispiel dafür ist die in Abbildung 190 (Abschnitt 4.1.1) gezeigte, mit der Ultrafiltration angereicherte, undotierte Huminstoffprobe OR02RM. Da früh migrierende Huminstoff-Fractionen ein kleines Ladungs- zu Masse-Verhältnis anzeigen, kann dies zum einen bedeuten, dass die Huminstoffmoleküle gerade durch die Komplexierung der Metallionen weniger stark negativ geladen sind, zum anderen könnte dies heißen, dass die Komplexierung der Metallionen in diesen Fällen eher durch größere Huminstoffmoleküle erfolgt. B. Aster beschreibt in [41] eine natürliche Anreicherung von Metallionen tendentiell in höhermolekularen Ultrafiltrations-Fractionen von Huminstoffproben. Dies würde die gemachte Beobachtung bestätigen. Die Untersuchungen von D. Schmitt [39] mit der SEC-ICP-MS zeigten ebenfalls insbesondere im Falle der Dotierung mit  $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen eine bevorzugte Bindung an hochmolekulare Fractionen von NOM.

Die Fraktogramme der asymmetrischen Fluss-Feld-Fluss-Fraktionierung (AF<sup>4</sup>) analog durchgeführter Dotierungsversuche waren allerdings z.T. schwer interpretierbar, da unklar blieb, ob die nicht NOM-gebundenen Metallionen vollständig durch die Membran abgetrennt wurden oder die erhaltenen breiten Peaks auf Wechselwirkungen freier Metallionen mit der Membran zurückzuführen waren.

#### 4.2.1.3 Einfluss der Zeit auf die Komplexierung von Metallionen durch Huminstoffe

Der Einfluss der Zeit auf die Komplexierung von Metallionen zeigte sich deutlich. Zwar erfolgte bereits bei minimalen Kontaktzeiten zwischen Huminstoff- und Metallionenlösung in der Kapillare eine erhebliche Komplexierung der Metallionen, bei den weiteren vergleichenden Versuchen unter Variation der Äquilibrierzeiten metallionendotierter Huminstofflösungen zwischen 1 Stunde und 360 Stunden ergaben sich jedoch weitere deutliche Unterschiede in den Elektropherogrammen (siehe Vergleich der Dotierung der Probe HOFA13 mit 0,005 mmol Metallionen / g DOC nach 1, 24, bzw. 360 Stunden in Abbildung 173 bis Abbildung 175 in Abschnitt 3.2.5.2). Mit zunehmender Reaktions-Kontaktzeit der metallionendotierten Huminstofflösungen verschob sich das UV-Signal der CE-fraktionierten Huminstoffprobe zu niedrigeren Migrationszeiten. Die Huminstoffmoleküle neigten also mit zunehmender Kontaktzeit zu Aggregatbildung und / oder es erfolgte eine Abnahme ihrer negativen Ladungen. Für letzteres spricht, dass mit zunehmender Kontaktzeit in Abhängigkeit von den jeweiligen Metallionen eine Zunahme der Fläche der Signale, die komplexierte Ionen anzeigt, erfolgte. Besonders deutlich zu sehen war dies bei Nickel- und Zinkionen, aber auch bei Cadmium- und Bleiionen. Kupferionen wurden bereits nach einer Stunde fast vollständig komplexiert, Cäsiumionen auch nach 360 Stunden überhaupt nicht. Bei anderen untersuchten Konzentrationen wurden ähnliche Veränderungen mit zunehmender Kontaktzeit erhalten. In [155] stellten D. Amarasiriwardena, A. Siripinyanond und R.M. Barnes unter Einsatz der FFFF-ICP-MS bei mehreren mit Ca<sup>2+</sup>-Ionen versetzten Huminstofflösungen ebenfalls eine Abhängigkeit der Aggregation von Huminstoffmolekülen von der Reaktions-Kontaktzeit fest. Mit zunehmender Zeit erfolgte eine Zunahme des Molekulargewichtes, wobei die größten Änderungen innerhalb von 5 Stunden beobachtet wurden.

#### 4.2.1.4 Fazit

Die meisten Ergebnisse der Untersuchungen mit der CE-UV-ICP-MS decken sich gut mit denen, die von anderen Gruppen mit ganz anders arbeitenden Methoden erhalten wurden. Dies kann als Bestätigung der Eignung der CE-UV-ICP-MS zur Charakterisierung der metallionenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen gewertet werden. Der Vergleich mit

Methoden wie der SEC-ICP-MS oder der FFFF-ICP-MS ist sinnvoll und nötig, da grundsätzlich jede Methode ihre inhärenten Charakteristika besitzt und u.U. zu operationell bedingten Ergebnissen führen kann. Die bedeutendsten Vorzüge der CE-UV-ICP-MS auch gegenüber der SEC-ICP-MS oder der FFFF-ICP-MS liegen in der Möglichkeit der Speziation der Metallionen im Sinne der Unterscheidung der in einem gegebenen Huminstoff-Metallionen-System vorliegenden dissoziiert bzw. huminstoffkomplexiert vorliegenden Metallionen. Dies ermöglicht den Vergleich von Systemen unterschiedlicher Metallionenkonzentration und ein damit verbundenes Abschätzen von Komplexierungskapazitäten.

#### **4.2.1.5 Vergleichende Huminstoffcharakterisierung mit der Ultrafiltration**

Der Einfluss zunehmender Metallionenmengen auf das Fraktionierungs- und Komplexierungsverhalten von Huminstoffen wurde ergänzend mit der Ultrafiltration untersucht. Abbildung 199 bis Abbildung 202 stellen in Ergänzung zur Darstellung der Signalverläufe nach Dotieren der Probe HOFA13 mit zunehmenden Mengen an Kupferionen (Abbildung 194) die Situation bei simultaner Dotierung mit ansteigenden Mengen an  $\text{Ni}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -,  $\text{Cd}^{2+}$ -,  $\text{Cs}^+$ - und  $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen dar. Anhand dieser Abbildungen ist ein Vergleich der Ergebnisse der Ultrafiltration mit den bereits in Abbildung 195 bis Abbildung 198 entsprechend dargestellten Signalen der CE-UV-ICP-MS möglich.

Die Verteilung des DOC erstreckt sich auch bei den simultanen Dotierungen mit den Ionen von sechs Metallen über einen relativ weiten Bereich von  $< 1$  kDa bis über 100 kDa, wobei mit zunehmender Dotierung der Probe HOFA13 eine leichte DOC-Verlagerung zu höheren Ultrafiltrations-Größenfraktionen festzustellen ist (Abbildung 199). Eine Vergrößerung der Huminstoff-Aggregate mit zunehmender Metallionendotierung wurde auch bei der Fraktionierung mit der Kapillarelektrophorese festgestellt (Abbildung 195). Der Verlauf der einzelnen Metallionen in den verschiedenen Ultrafiltrations-Größenfraktionen bei zunehmender gemeinsamer Dotierung zeigt für Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium und Blei jeweils (mit Ausnahme der höchsten dotierten Metallionenmenge) einen deutlichen Berg in der Größenfraktion 10 – 50 kDa (Abbildung 200 bis Abbildung 202). Die Komplexierung der Metallionen erfolgt damit hauptsächlich in diesem mittleren Größenbereich. Cäsiumionen wurden fast ausschließlich in der Fraktion  $< 1$  kDa gefunden; vermutlich lagen sie, wie bereits eindeutig mit der CE-UV-ICP-MS gezeigt, frei vor. Ein steiles Abfallen des Signals zwischen der ersten ( $< 1$  kDa) und der zweiten (1 – 3 kDa) Fraktion zeigt ein vergleichsweise starkes Vorliegen der entsprechenden Metallionen in der Fraktion  $< 1$  kDa an und ist – insbesondere in Verbindung mit hohen dotierten Metallionenmengen und einem flachen Kurvenverlauf in den mittleren Größenfraktionen – ein deutliches Zeichen für frei vorliegende Metallionen aufgrund Überschreitens der Komplexierungskapazität.

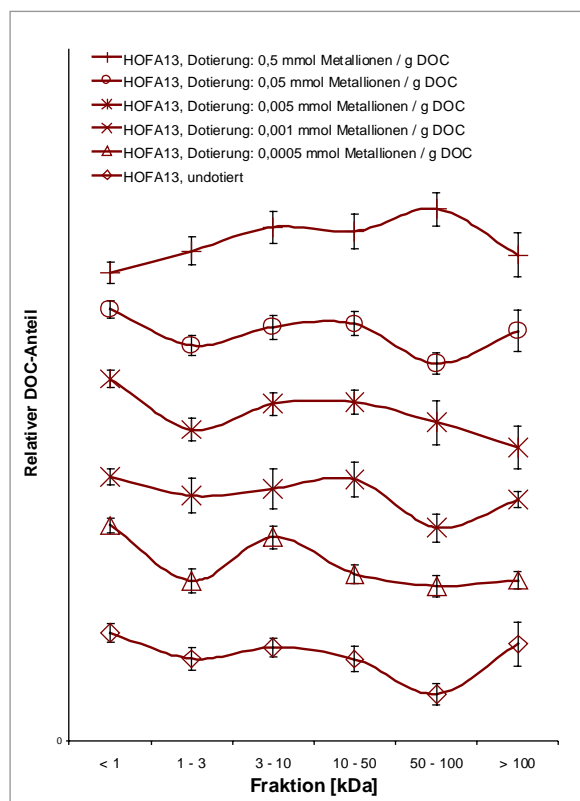


Abbildung 199: Vergleich der Verteilung des DOC auf die Größenfraktionen bei Zunahme der simultanen Dotierung der Probe HOFA13 mit  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen

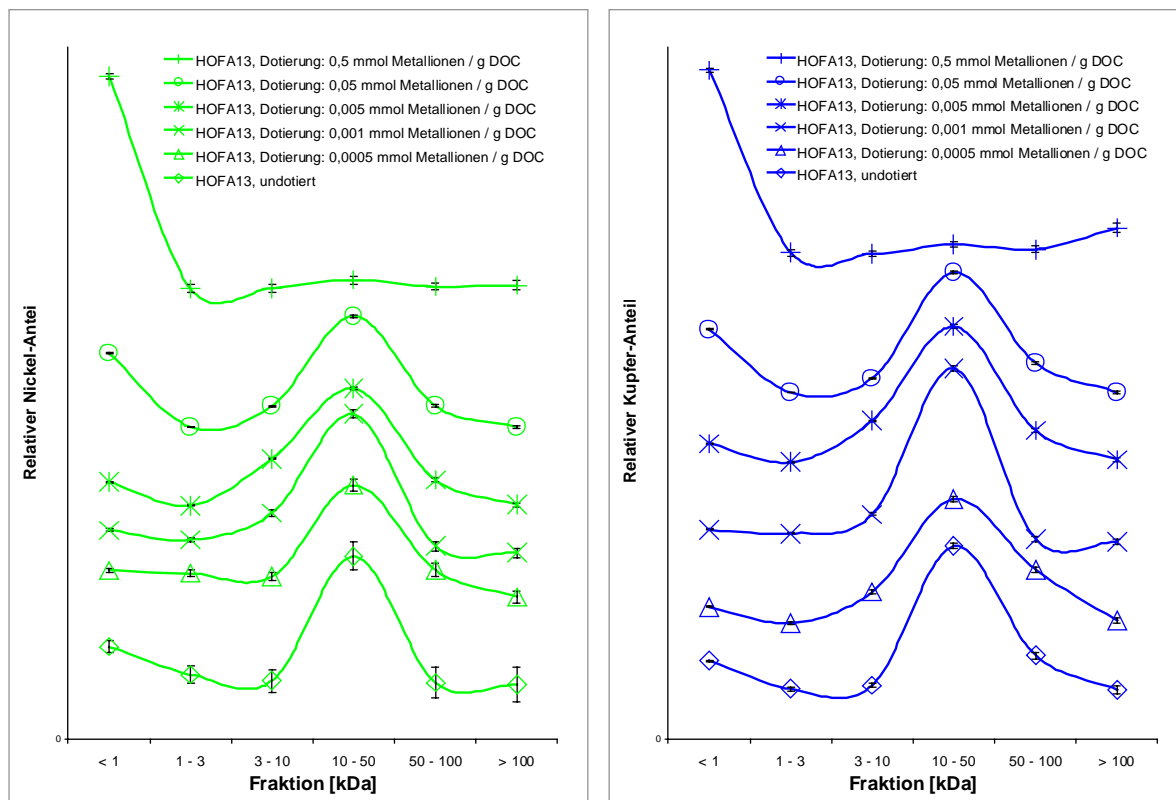


Abbildung 200: Vergleich der Verteilung von  $\text{Ni}^{2+}$  bzw.  $\text{Cu}^{2+}$  auf die Größenfraktionen bei Zunahme der simultanen Dotierung der Probe HOFA13 mit  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen

4. Diskussion der Ergebnisse

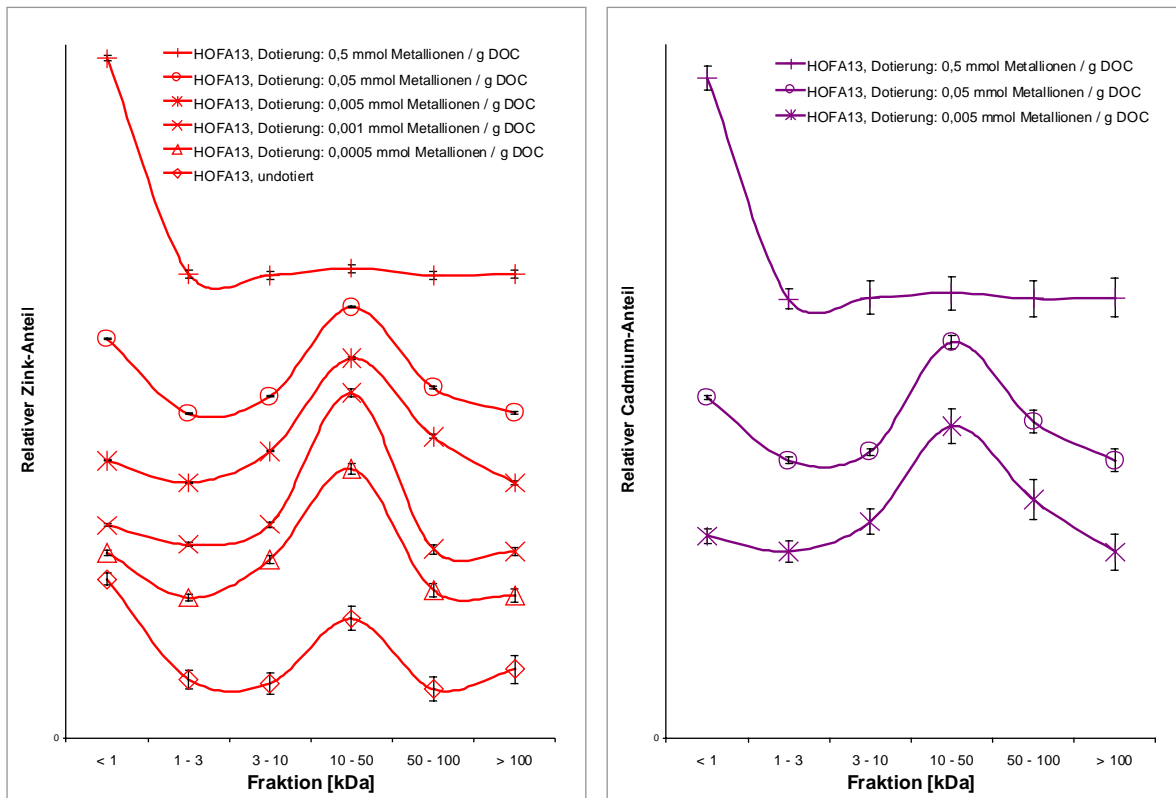


Abbildung 201: Vergleich der Verteilung von  $Zn^{2+}$  bzw.  $Cd^{2+}$  auf die Größenfraktionen bei Zunahme der simultanen Dotierung der Probe HOFA13 mit  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cs^+$  und  $Pb^{2+}$ -Ionen

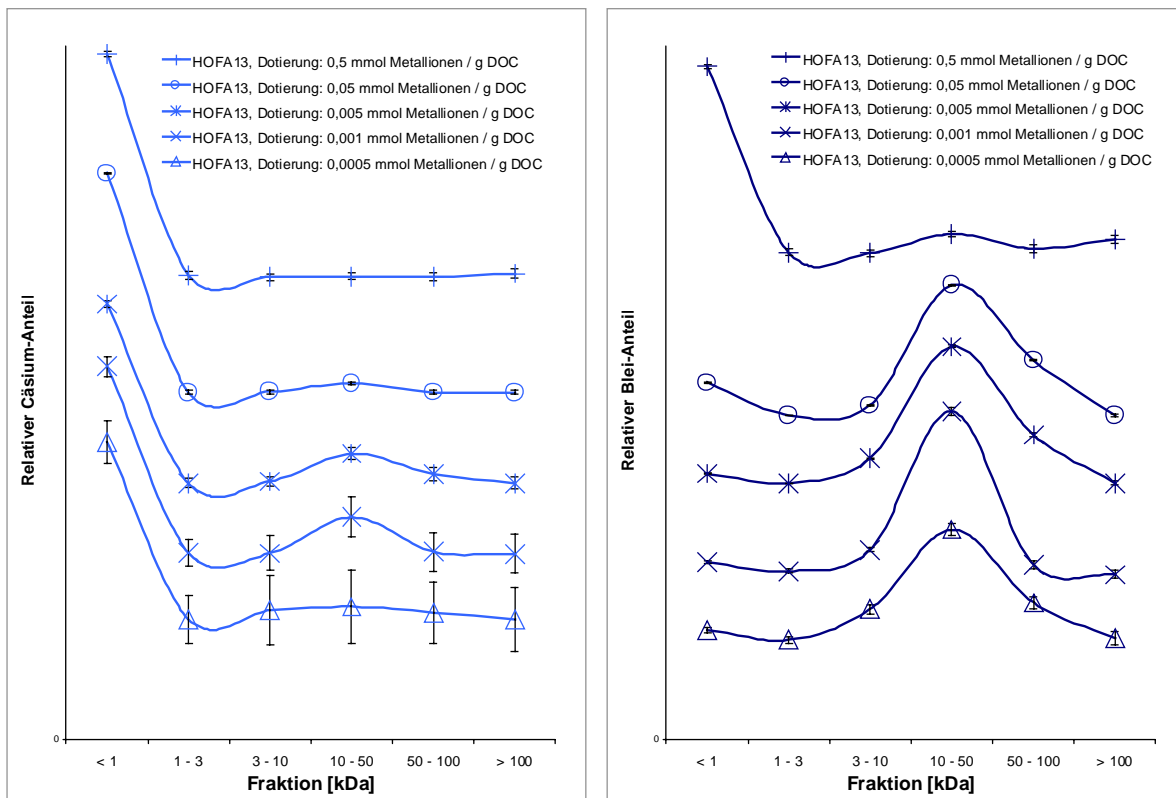


Abbildung 202: Vergleich der Verteilung von  $Cs^+$  bzw.  $Pb^{2+}$  auf die Größenfraktionen bei Zunahme der simultanen Dotierung der Probe HOFA13 mit  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Cs^+$  und  $Pb^{2+}$ -Ionen



Die für die jeweiligen Metallionen zusammengestellten Signalverläufe zeigen, dass die maximale Komplexierungskapazität der Probe HOFA13 unter den vorliegenden Bedingungen der gemeinsamen Dotierung und der Fraktionierung mit der Ultrafiltration für die Nickel-, Kupfer-, Zink-, Cadmium- und Bleiionen im Bereich 0,05 – 0,5 mmol Metallionen / g DOC liegt. Aufgrund des Trennmechanismus nach Molekülgrößen finden sich neben freien Metallionen in der kleinsten Fraktion (< 1 kDa) auch andere Bestandteile der Probe, die durch teilweise relevante DOC-Gehalte deutlich werden und eine exakte Angabe frei vorliegender Metallionen erschweren. Die Größenordnung der abgeschätzten Komplexierungskapazität stimmt jedoch mit derjenigen überein, die mit der CE-UV-ICP-MS ermittelt wurde. Eine Differenzierung der Stärke der Komplexierung gegenüber den einzelnen Metallionen kann allerdings (abgesehen von Cäsiumionen, die eindeutig annähernd nicht komplexiert wurden) durch Fraktionierung mit der Ultrafiltration nur sehr grob zu  $Pb^{2+} > Cu^{2+} \approx Zn^{2+} \approx Ni^{2+} \approx Cd^{2+} \gg Cs^+$  abgeschätzt werden.

Bei den in Abbildung 194 gezeigten DOC- bzw. Kupferionen-Signalen der Fraktionierung der Probe HOFA13 nach alleiniger Dotierung mit Kupferionen zeigte sich eine Zunahme des Signals der Kupferionen in höhermolekularen Fraktionen mit zunehmender Dotierung. Die Komplexierungskapazität der Huminstoffprobe war unter den Bedingungen der alleinigen Dotierung mit Kupferionen und der Fraktionierung mit der Ultrafiltration bei 3 mmol  $Cu^{2+}$  / g DOC offensichtlich überschritten. Auch dies bestätigt die mit der CE-UV-ICP-MS erhaltenen Ergebnisse.

*Fazit:* Die Ergebnisse der CE-UV-ICP-MS werden durch die der Ultrafiltration in ihren wesentlichen Aussagen bestätigt, wobei die CE-UV-ICP-MS eine feinere Charakterisierung der Abstufung der Komplexierung verschiedener Metallionen ermöglicht. Sie vermeidet die Nachteile der Ultrafiltration: die groben Fraktionen und den Mangel an Eindeutigkeit frei vorliegender Metallionen durch deutliche DOC-Gehalte in der kleinsten Fraktion (< 1 kDa). Im Verbund mit der Ultrafiltration, die absolute Größeninformationen liefert, bietet die CE-UV-ICP-MS weite Möglichkeiten zur Charakterisierung von Huminstoffen.

### 4.2.2 Abschätzung und Vergleich von Komplexierungskapazitäten

Die in Kapitel 3 dargestellten Elektropherogramme der Dotierungsexperimente ermöglichen Aussagen über die Stärke der Komplexierung der betrachteten Huminstoffproben gegenüber unterschiedlichen Metallionen, d.h. eine Abschätzung ihrer Komplexierungskapazitäten durch Vergleich der Signalverläufe der einzelnen Metallionen bei ansteigenden Mengen an dotierten Metallionen.

Diejenige Konzentration, ab der bei den Dotierungsexperimenten neben dem huminstoffkomplexierte Ionen anzeigenden Signal ein Signal dissoziierter Ionen auftritt, wurde dabei als maximale Komplexierungskapazität gegenüber diesem Metallion unter den vorliegenden Bedingungen der alleinigen Dotierung mit den betrachteten Metallionen bzw. der gemeinsamen Dotierung mit den Ionen  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$  angesehen (der genaue Wert würde etwas niedriger liegen). Dieses Vorgehen ermöglicht lediglich eine grobe Abschätzung der Komplexierungskapazität einer untersuchten Huminstoffprobe bezüglich eines betrachteten Metallions.

Die in Tabelle 16 angegebenen Zahlenwerte haben daher nur Richtwert-Charakter; sie ermöglichen aber Vergleiche zwischen den Huminstoffproben bzw. den einzelnen Metallionen, sowie zwischen den verschiedenen Arten der Dotierung.

Tabelle 16: Vergleich von Komplexierungskapazitäten, die durch Dotierung der Huminstoffproben mit einzelnen Metallionen ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  bzw.  $\text{Ni}^{2+}$ ) bzw. durch gemeinsame Dotierung mit 6 Metallionen ( $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$ ) abgeschätzt wurden

<i>Dotierung mit ansteigenden Mengen an <math>\text{Ni}^{2+}</math> bzw. <math>\text{Cu}^{2+}</math> bzw. <math>\text{Cd}^{2+}</math>; Dotierung mit ansteigenden Mengen an <math>\text{Ni}^{2+}</math>, <math>\text{Cu}^{2+}</math>, <math>\text{Zn}^{2+}</math>, <math>\text{Cd}^{2+}</math>, <math>\text{Cs}^+</math> und <math>\text{Pb}^{2+}</math></i>							
<i>HS-Probe</i>	<i>Dotierungs-Art: einzel / 6 Ionen gemeinsam (gem.)</i>	<i>Komplexierungs-Kapazität (abgeschätzt)</i>					
		<i>[mmol Metallion / g DOC]</i>					
		$\text{Ni}^{2+}$	$\text{Cu}^{2+}$	$\text{Zn}^{2+}$	$\text{Cd}^{2+}$	$\text{Cs}^+$	$\text{Pb}^{2+}$
<b><i>HOFA13</i></b>	Einzel	-	0,5 – 3	-	0,0005	-	-
	Gem. 6 Ionen	0,005	0,05	0,005 – 0,01	< 0,0005	<< 0,0005	0,05
<b><i>OR02RM</i></b>	Einzel	-	0,1	-	-	-	-
	Gem. 6 Ionen	0,001	0,05	0,001	< 0,0005	<< 0,0005	0,05
<b><i>FS-001</i></b>	Einzel	0,005 – 0,05	0,1 – 0,5	-	0,001	-	-
	Gem. 6 Ionen	0,001 – 0,005	0,05 – 0,1	0,005	< 0,0005	<< 0,0005	0,1
<b><i>FS-023</i></b>	Einzel	-	0,5 – 3	-	0,005	-	-
	Gem. 6 Ionen	0,01 – 0,05	> 0,1	0,01 – 0,05	0,0005 – 0,005	<< 0,0005	> 0,1
<b><i>FS-018</i></b>	Einzel	-	-	-	0,001	-	-
	Gem. 6 Ionen	0,01 – 0,05	> 0,1	0,01 – 0,05	< 0,0005 (Starke Komplexier. in best. Fraktionen)	<< 0,0005	> 0,1

Die alleinige Dotierung der Huminstoffproben mit Kupfer-, Cadmium- bzw. Nickelionen zeigte bei allen untersuchten Proben eine starke Komplexierung der Kupferionen und eine

vergleichsweise schwache Komplexierung der Cadmiumionen. Die im Falle der Probe FS-001 untersuchten Nickelionen lagen in der Stärke der Komplexierung dazwischen, so dass sich folgende Reihe aufstellen lässt:  $\text{Cu}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+}$ . Diese Reihenfolge deckt sich mit derjenigen, die bei der simultanen Dotierung mit den Ionen von sechs Metallen aufgestellt wurde.

Die abgeschätzten Komplexierungskapazitäten liegen für die Kupferionen bei den untersuchten Proben zwischen 0,1 und 3 mmol  $\text{Cu}^{2+}$  / g DOC. Die Werte liegen damit in demselben Bereich, der in der Literatur mit anderen Methoden für ähnliche oder gleiche Huminstoffproben angegeben wird. So nennt G. Marx in [144] für aquatische Huminstoffe Komplexierungskapazitäten von 1 – 3 mmol  $\text{Cu}^{2+}$  / g DOC. In [132] und [214] sind für aquatische Huminstoffe durch Polarographie bestimmte Komplexierungskapazitäten im Bereich von 1 bis 2,5 mmol  $\text{Cu}^{2+}$  / g DOC angegeben.

In unserer Arbeitsgruppe wurden durch F. Miller gegenüber Kupferionen für die Proben HOFA13, OR05KR, FS-001 und FS-023 elektrochemisch mit der DCTASV die Komplexierungskapazitäten  $0,47 \pm 0,03$  mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g HS,  $0,18 \pm 0,01$  mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g HS,  $0,42 \pm 0,03$  mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g HS und  $0,34 \pm 0,02$  mmol  $\text{Cu}^{2+}$ /g HS bestimmt [206]. Eine direkte Gegenüberstellung der Werte beider Methoden ist nicht möglich, da die Äquilibrierzeiten der dotierten Lösungen bei F. Miller nur etwa 10 Minuten betragen (gegenüber 1 Stunde in der vorliegenden Arbeit), die Werte sich auf die Huminstoff-Einwaage beziehen (in der vorliegenden Arbeit Bezug auf DOC; Unterschied grob: Faktor 2) und da es sich im Falle der CE-UV-ICP-MS um abgeschätzte Werte handelt. Dennoch zeigt sich, dass die von F. Miller angegebenen Werte nach Multiplikation mit dem Faktor 2 in demselben Bereich liegen wie diejenigen, die in der vorliegenden Arbeit abgeschätzt wurden. Bezüglich der Komplexierungsstärke wird für die Proben tendenziell dieselbe Reihenfolge gefunden: HOFA13 komplexiert stark, die aus der Oder stammenden Proben OR02RM und OR05KR (beide wurden analog über Tangentialfluss-Ultrafiltration angereichert und haben sehr ähnliche Eigenschaften) vergleichsweise schwach, was auf die durch die Art der Anreicherung verbliebene Grundbeladung an Metallionen bzw. den deutlichen Gehalt an mitangereicherten Substanzen wie mineralische Kolloide oder Proteine zurückzuführen ist. Die Komplexierungsstärke der Probe FS-001 wird mit beiden Methoden in der Mitte eingestuft. Bei der Probe FS-023 ist die Übereinstimmung geringer, sie wird mit der CE-UV-ICP-MS als stark komplexierend, mit der DCTASV als mittelstark komplexierend charakterisiert. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass die Bedingungen der Huminstoff-Fraktionierung mit der Kapillarelektrophorese Metallionen-Huminstoff-Komplexe nicht in nennenswertem Ausmaß durch Aufbrechen labiler Komplexe beeinflussen.

Die Dotierung der Huminstoffproben mit ansteigenden Mengen an Metallionen erfolgte insbesondere bei der alleinigen Dotierung mit Kupfer-, Cadmium- bzw. Nickelionen derart, dass das fokussierte Metallion in seinem Komplexierungsverhalten, insbesondere auch im

Grenzbereich der maximal möglichen Komplexierbarkeit durch die Huminstoffe, charakterisiert werden konnte. Im Falle der nur relativ schwach komplexierbaren Cadmiumionen wurde mit Konzentrationen von 0,0001 mmol  $\text{Cd}^{2+}$  / g DOC begonnen, bei der Dotierung mit Kupferionen mit 0,0005 mmol  $\text{Cu}^{2+}$  / g DOC. Die weiteren untersuchten Konzentrationen wurden jeweils um eine Größenordnung und eine dazwischen liegende Konzentration erhöht (bei den Cadmiumionen wurde in kleineren Schritten dotiert). Diese Vorgehensweise führte mit bis zu acht untersuchten Konzentrationen pro Huminstoffprobe zu einem guten Kompromiss zwischen messtechnischem Aufwand und Informationsdichte. Für ein genaueres Abschätzen von Werten könnten nach einem gröberen Abrastern zusätzlich feiner abgestufte Dotierungen im Konzentrationsbereich der jeweiligen Erschöpfung der Komplexierungskapazitäten vorgenommen werden.

Bei der gemeinsamen Dotierung mit ansteigenden Mengen an  $\text{Ni}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -,  $\text{Cd}^{2+}$ -,  $\text{Cs}^+$ - und  $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen liegt durch die Anwesenheit verschiedener Metallionen eine Konkurrenzsituation vor, die derjenigen in aquatischen Systemen näher kommt. Generell zeigt sich, dass die Komplexierungskapazität der untersuchten Huminstoffe bezüglich der jeweiligen Ionen deutlich geringer als bei den Einzeldotierungen ist (Tabelle 16). Dieses Ergebnis entspricht der theoretisch erwarteten mittleren Verringerung der Werte auf etwa 1/6. Der jeweils auf eine Probe bezogene Vergleich der Elektropherogramme bei alleiniger Dotierung mit Kupfer- bzw. Cadmiumionen mit denen der gemeinsamen Dotierung mit den Ionen von sechs Metallen führt zu der Vermutung, dass Cadmiumionen, die von Huminstoffen – verglichen mit Kupfer- oder Bleiionen – schwach komplexiert werden, bei gleichzeitiger Anwesenheit dieser Ionen deutlich verdrängt und damit weniger als zu 1/6 der alleinigen Dotierung komplexiert werden (anders als bei den Kupferionen). Der Vergleich der Werte in Tabelle 16 kann diese Vermutung allerdings aufgrund der Tatsache, dass es sich um grobe Richtwerte handelt, nicht belegen. Dennoch ist die Deutlichkeit der Komplexierung von allein vorliegenden Cadmiumionen beispielsweise durch die Probe FS-001 in Abbildung 115 bis Abbildung 119 ersichtlich. Auch bei der gemeinsamen Dotierung der Probe OR02RM mit den Ionen  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$  zeigte sich, dass bei einer Konkurrenzsituation wie im vorliegenden Fall die schwächer komplexierbaren Ionen wie  $\text{Ni}^{2+}$  und  $\text{Cd}^{2+}$  gegenüber gut komplexierbaren Ionen wie  $\text{Cu}^{2+}$  oder  $\text{Pb}^{2+}$  geringere Chancen zur Komplexierung besitzen.

Vergleicht man die Stärke der Komplexierung der sechs Metallionen bei den untersuchten Huminstoffproben verschiedener Herkunft (Tabelle 16), so zeigt sich, dass die Reihenfolge  $\text{Cu}^{2+} \approx \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+} \approx \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+} \gg \text{Cs}^+$  bei allen Proben gleich ist. Leichte Variationen gab es nur zwischen den stark komplexierten Kupfer- und Bleiionen bzw. zwischen den im Mittelfeld liegenden Zink- und Nickelionen. Deutlich schwächer wurden in allen Fällen Cadmiumionen komplexiert. Eine Komplexierung von Cäsiumionen erfolgte in keinem Fall.

### 4.2.3 Vergleich des Komplexierungsverhaltens von Huminstoffen mit variierenden Gehalten an Stickstoff bzw. Schwefel

Neben den relativen Komplexierungseigenschaften können die absoluten Komplexierungskapazitäten und das detaillierte Komplexierungsverhalten der unterschiedlichen Huminstoffproben verglichen werden.

Die beiden natürlichen Huminstoffe HOFA13 und OR02RM unterscheiden sich in ihren Eigenschaften. Der natürliche Moorwasser-Huminstoff HOFA13 enthält neben etwa 50 % Kohlenstoff 44,3 % Sauerstoff, 0,6 % Stickstoff und 0,5 % Schwefel. Diese Gehalte, sowie die starke, Carbonsäurefunktionen anzeigende IR-Bande um  $1720\text{ cm}^{-1}$ , ließen gute Metallionen-komplexierende Eigenschaften vermuten, die mit der CE-UV-ICP-MS mit einer abgeschätzten Komplexierungskapazität im Bereich zwischen  $0,5 - 3\text{ mmol Cu}^{2+}/\text{g DOC}$  bestätigt wurden.

Die Elementaranalyse der gefriergetrockneten Probe OR02RM zeigte relativ geringe Gehalte an Kohlenstoff, Wasserstoff und Sauerstoff (16,7 %, 3,0 % bzw. 34,4 %), dagegen aber hohe Gehalte an Stickstoff, Schwefel und „Rest“ (1,1 %, 5,2 % bzw. 39,7 %). Die Donorfunktionen der Heteroatome Stickstoff und Schwefel waren allerdings nicht sehr ausgeprägt, wie die mit der CE-UV-ICP-MS abgeschätzte Komplexierungskapazität von  $0,1\text{ mmol Cu}^{2+}/\text{g DOC}$  (zusätzlich zu den bereits gebundenen  $0,011\text{ mmol Cu}^{2+}/\text{g DOC}$ ) zeigte. Ursachen sind offensichtlich das Vorliegen des Schwefels in oxidiert Form (Sulfonate bzw. Sulfate, wie bereits im IR-Spektrum in Abschnitt 3.2.1 zu sehen), sowie weitere, bereits komplexierte Metallionen, die durch die schonende Anreicherung der Probe mit der Tangentialfluss-Ultrafiltration nicht vom Huminstoff getrennt wurden. Einen Hinweis hierauf gibt auch der hohe „Rest“-Gehalt der Probe, der auf komplexierte Metallionen sowie silikatische Anteile zurückzuführen ist. Die Tangentialfluss-Ultrafiltration führt bei der Anreicherung von Huminstoffen bzw. gelöstem organischen Kohlenstoff in aquatischen Proben aufgrund des Anreicherungsmechanismus über definierte Porengrenzen zu deutlich anderen Produkten als die XAD-Methode. Für Aussagen über die originären Metallionengehalte ist sicherlich die Ultrafiltration, für den Erhalt „möglichst reiner Huminstoffe“ die XAD-Methode vorzuziehen.

Untersuchungen an synthetischen Fulvinsäuren ermöglichten genauere Aussagen über die Huminstoff Struktur-Wirkungs-Beziehungen.

FS-001 wurde ohne Stickstoff bzw. Schwefel synthetisiert. Dennoch weist der hohe Sauerstoffgehalt von 47,9 % auf viele Donorstellen hin und ließ starke Metallionen-komplexierende Eigenschaften vermuten. Im IR-Spektrum zeigte die Probe FS-001 bei  $1720\text{ cm}^{-1}$  im Vergleich zu den anderen Huminstoffen die am stärksten ausgeprägte Bande, die auf die Streckschwingung von C=O-Gruppen von Carbonsäuren bzw. Ketonen zurückzuführen ist. Auch dies deutete stark komplexierende Eigenschaften an, die mit der CE-UV-ICP-MS

mit einer abgeschätzten Komplexierungskapazität von 0,1 – 0,5 mmol Cu<sup>2+</sup>/g DOC bestätigt wurden. Dieses Ergebnis unterstreicht den gravierenden Einfluss der Carboxylatgruppen bei der Komplexierung von Metallionen durch Huminstoffe. Bei dieser Probe wurde – abgesehen vom UV-Signal, das zwei nahezu verschmolzene Maxima zeigte und damit auf zwei grobe Fraktionen hinwies – eine deutliche Ähnlichkeit mit der natürlichen Fulvinsäure HOFA13 festgestellt (die allerdings mit 0,6 % bzw. 0,5 % geringe Gehalte an Stickstoff bzw. Schwefel enthielt). Diese Ähnlichkeit bestätigt den generell möglichen Einsatz der synthetischen Huminstoffe als Modell-Huminstoffe.

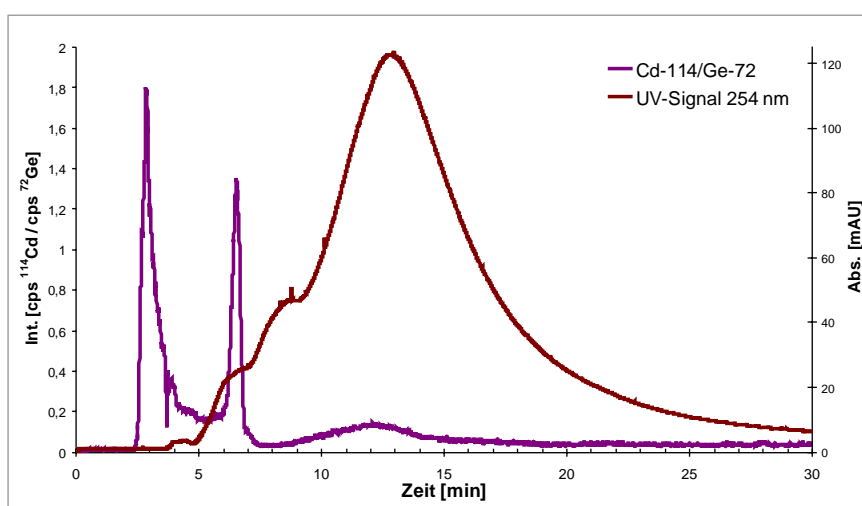
Die Probe FS-023 zeigte trotz ihres hohen Gehaltes an Stickstoff (4,2 %) undotiert ein vergleichsweise unauffälliges Verhalten. Die erwarteten interessanten metallionenbindenden Eigenschaften zeigten sich in einer hohen Komplexierungskapazität dieser Probe gegenüber Metallionen (besonders Cadmiumionen), die auch hier auf den hohen Gehalt an Carboxylatgruppen zurückzuführen sein dürften. Zusätzlich fiel im vorderen Bereich des UV-Signals eine leichte Schulter auf. Die dort anzusiedelnden Fraktionen der Probe schienen im Falle der Dotierung mit Cu<sup>2+</sup>- bzw. Cd<sup>2+</sup>-Ionen eine leicht erhöhte Fähigkeit zur Komplexierung zu haben. Dieses Verhalten fiel auch bei der gemeinsamen Dotierung mit den Ionen von sechs Metallen auf. Die ICP-MS-Signale waren im Vergleich zu den anderen untersuchten Proben relativ unruhig.

Bei der Probe FS-018, in die bei der Synthese neben 3,0 % Stickstoff zusätzlich 11,7 % Schwefel eingebaut wurde, zeigten sich die bei FS-023 minimal beobachteten Besonderheiten ausgeprägter. Bereits die undotierte Probe war durch die über das breite UV-Signal angezeigte hohe Polydispersität auffällig. Die mittleren Migrationszeiten der Fraktionen waren relativ hoch und es traten sehr deutlich zwei diskrete Peaks im ansteigenden Bereich des UV-Signals bei etwa 7 und 10 Minuten hervor. Diese beiden Fraktionen, die sich offensichtlich von der sonstigen, eher gleichmäßigen Verteilung der Moleküle (die den sogenannten „humic hump“ bilden) unterschieden, schienen bereits bei der undotierten Probe in deutlich verstärktem Maße Metallionen zu komplexieren. Bei den Nickel-, Kupfer- und Bleiionen war dies deutlich, bei den Zink- und Cadmiumionen in leichtem Maße der Fall.

Durch den hohen Schwefelgehalt von FS-018 wurden aufgrund der Thiophilie stärker komplexierende Eigenschaften gegenüber Cadmiumionen vermutet. Bei der zunächst erfolgten ausschließlichen Dotierung mit ansteigenden Mengen Cadmiumionen zeigte sich zwar eine vergleichsweise hohe Komplexierungskapazität, sie unterschied sich jedoch nur unwesentlich von derjenigen der stickstoffhaltigen, aber schwefelfreien Probe FS-023. Dies könnte zum einen durch den mit 3 % geringeren Stickstoffgehalt von FS-018 begründet sein. Zum anderen ist bei der Fulvinsäuresynthese (alkalisches, oxidierendes Milieu) offensichtlich sulfidischer Schwefel zum großen Teil zu sulfatischem Schwefel oxidiert worden, wodurch die Donoreigenschaften des Schwefels gegenüber Metallionen wie Cd<sup>2+</sup> erheblich herabgesetzt wurden. Das IR-Spektrum in Abschnitt 3.2.1 bestätigt diese Vermutung.

Allerdings war ein verstärktes Auftreten von Cadmiumsignalen zu Migrationszeiten festzustellen, die denen der in den UV-Signalen hervortretenden Huminstoff-Fractionen entsprachen.

Dieses Verhalten zeigte sich für verschiedene Metallionen besonders deutlich bei der simultanen Dotierung von FS-018 mit  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen (vgl. Abbildung 164 bis Abbildung 168 in Abschnitt 3.2.4.5). Bei sämtlichen zudotierten Metallionenmengen wurden insbesondere die Nickel-, Zink-, Cadmium- und Bleiionen, aber auch die Kupferionen, in starkem Maße in den über das UV-Signal detektierten Fraktionen bei Migrationszeiten zwischen 7 und 10 Minuten komplexiert. Abbildung 203 zeigt das Beispiel der Verteilung von Cadmiumionen in der auf 0,005 mmol  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$  / g DOC dotierten Lösung der Probe FS-018.



**Abbildung 203:** In verschiedenen Fraktionen der S-haltigen HS-Probe FS-018 komplexierte, sowie freie  $\text{Cd}^{2+}$ -Ionen (Dotierung: 0,005 mmol  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$  / g DOC)

Deutlich ist bei etwa 3 Minuten das dissoziiert vorliegende Cadmiumionen anzeigende Signal zu sehen, die Komplexierungskapazität des Huminstoffs FS-018 ist bei den vorliegenden Konzentrationen eindeutig überschritten. Dennoch ist das komplexierte Cadmiumionen anzeigende breite Signal zwischen 8 und 16 Minuten zu sehen, das sich gleichförmig über die verschiedenen Huminstoff-Fractionen verteilt und eine weitgehend homogene Verteilung der komplexierten Ionen über das Molekülspektrum anzeigt. Sehr deutlich und typisch für die Probe FS-018 ist im Cadmiumsignal der scharfe Peak bei 6,5 Minuten zu sehen. Trotz der deutlichen Überschreitung des Komplexierungsvermögens von FS-018 wird an diesem Beispiel – stellvertretend für die weiteren untersuchten Konzentrationen – die Eigenschaft des erheblich verstärkten Metallionenbindungsvermögens in früh migrierenden Huminstoff-Fractionen deutlich. Die Ursache für diese früh migrierenden, verstärkt komplexierenden und sich damit von der ansonsten eher



huminstofftypischen breiten Verteilung und Überlagerung der Eigenschaften von Einzelmolekülen abhebenden Fraktionen in der Fulvinsäure FS-018 ist möglicherweise auf Molekülstrukturen der bei der Synthese dieser Probe eingesetzten Aminosäuren Glycin und Cystin zurückzuführen.

*Fazit:* Der gezielte Einbau von Stickstoff bzw. Stickstoff und Schwefel in die synthetischen Huminstoffe hat offensichtlich keinen großen Einfluss auf das Metallionenkomplexierungsverhalten der Proben. Die Heteroatome führten zwar kaum zu einer Erhöhung der Komplexierungskapazität, allerdings bewirkten die eingebauten Heteroatome ein verändertes Fraktionierungsverhalten und eine damit in Zusammenhang stehende teilweise erhöhte Komplexierung von Metallionen in bestimmten Huminstoff-Fractionen.

### 4.3 Ausblick

Als Weiterentwicklung des Systems CE-UV-ICP-MS wäre zu prüfen, inwieweit eine UV-Detektion durch Einsatz einer anderen CE-Apparatur bzw. durch eine aus dem Gerät ausgelagerte, weitgehend am Kapillarende installierte UV-Detektionszelle realisiert werden könnte. Dies ist jedoch aufgrund der Integration von mehr als 5 cm der Kapillare in das Interface schwierig.

Eine Erweiterung der Möglichkeiten der Huminstoff-Charakterisierung könnte auch im Einsatz oberflächenmodifizierter Kapillaren bzw. Gel-gefüllter Kapillaren bestehen.

Denkbar wäre auch eine Erweiterung der Methode im Sinne der Charakterisierung des Bindungsverhaltens von Huminstoffen gegenüber organischen Schadstoffen. Diese könnten über  $^{13}\text{C}$ , Schwefel oder Chlor markiert und entsprechend detektiert werden (z.B. Cl-haltige Schadstoffe).

Zusätzlich zur durchgeführten Charakterisierung von Huminstoffen mit der CE-UV-ICP-MS ist eine weitere Charakterisierung der Proben mit der Kapillarelektrophorese und Elektrospray-Ionisations-Massenspektrometrie (ESI-MS) [215] [216] sowie Flugzeit-Massenspektrometrie (ESI-TOF-MS) [217] [218] [219] Detektion denkbar, wie sie aktuell in der Gruppe von G. Hieftje an der Indiana University realisiert wurde.

Die Elektrospray-Ionisation führt als weiche Ionisierungstechnik zu Ionen höherer Massen bis hin zu Molekülonen. Mit derartigen Fraktionierungsmustern könnten in Verbindung mit einer ICP-MS-Detektion zusätzliche Informationen über Polydispersität, strukturelle Huminstoffbestandteile sowie die Komplexierung von Metallionen erhalten werden.



## 5 Experimenteller Teil

### 5.1 Materialien

Für die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Experimente wurden folgende Geräte und Verbrauchsmaterialien eingesetzt.

#### 5.1.1 Geräte

Tabelle 17 gibt eine Übersicht über die eingesetzten Geräte.

**Tabelle 17: Eingesetzte Geräte**

<i>Bezeichnung</i>	<i>Firma</i>
Analysenwaage MC1	Sartorius, Göttingen
Analysenwaage 2442	Sartorius, Göttingen
Ausdampf-Apparatur	Kürner, Rosenheim
CE-ICP-MS Interface CEI 100	CETAC, Omaha (USA)
Clean Bench	Bleymehl, Inden-Pier, Köln
Dampfreinigung für PFA Gefäße	Trabold, Bern (Schweiz)
DOC-Analysator TOC 5050	Shimadzu
Feinwaage P1200	Mettler Toledo, Giessen
Gefriertrocknungs-ApparaturHetosicc CD4	Heto, München
Hydraulische Presse	Perkin Elmer
ICP-MS Elan 6000	Perkin Elmer
ICP-MS 7500 S	Agilent, Waldbrunn
IR-Spektrometer PE 1720, Infrared Fourier Transform Spectrometer; Spectrum V. 2.00	Perkin Elmer
Kapillarelektrophorese 3 D CE	Agilent, Waldbrunn
Mikroskop	Leitz, Wetzlar

## 5. Experimenteller Teil

---

Nanopur Wasseranlage	Barnstedt, Dubuque, Iowa, USA
PFA Gefäße, diverse	VitLab, Seeheim-Jugenheim
pH Meter inolab	WTW, Weinheim
Pipetten, diverse (0,5 µL – 1000 µL)	Eppendorf, Hamburg
Reinstwasseranlage Milli-Q-Element	Millipore, Eschborn
Schüttelapparatur KSB 392	Bühler, Tübingen
TXRF 8030 C	Atomika, Waldbronn
Ultraschallbad Sonorex RK 102 H	Bandelin, Berlin
UV/VIS-Spektrometer Cary 17	Varian
Vorreinigung zur Q-Element Elix 3	Millipore, Eschborn
Zentrifuge Centrifuge 5804 R	Eppendorf, Hamburg

## 5.1.2 Verbrauchsmaterialien

In Tabelle 18 sind die Verbrauchsmaterialien aufgeführt, die in der vorliegenden Arbeit zum Einsatz kamen.

**Tabelle 18: In der vorliegenden Arbeit eingesetzte Verbrauchsmaterialien**

<i>Bezeichnung</i>	<i>Firma</i>
CE-Vials 500 µL	Agilent, Waldbronn
Einmalspritzen, Injekt, 10 mL bzw. 50 mL Luer	Braun, Melzungen
Eppendorftubes 1,5 mL	Eppendorf, Hamburg
Filter, diverse	Schleicher und Schüll, Dassel
Kanister, PE-HD, 10 L, 20 L	VWR International
Kapillaren	Agilent, Waldbronn
Membranfilter aus Celluloseacetat GF 92 für Einmalspritzen, Durchmesser 30 mm, Porenweite 0,45 µm	Schleicher und Schüll, Dassel
Pipettenspitzen, diverse Größen	Eppendorf, Hamburg
UF Membran, regenerierte Cellulose, 0,46 m <sup>2</sup> , 1 kD; Pellicon Kassettensystem	Millipore, Eschborn
UF Membranen Microsep, zw. 1 und 1000 kD	Pall Filtron
2 mL Probengefäße	Eppendorf, Hamburg
15 mL Probenröhrchen	Sarstedt, Sarstedt
30 mL Probenröhrchen, PP	Sarstedt, Sarstedt
50 mL Probenröhrchen, PP	Greiner

## 5.2 Chemikalien und Gefahrenhinweise

Im folgenden sind die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Chemikalien, sowie Angaben zu gesundheitlichen Gefahren, allgemeinen Sicherheitsratschlägen und zur Entsorgung aufgeführt [220] [221] [222] [223] [224] [225] [226].

<b><i>Kaliumhydroxid</i></b>	
<b>Gefahrensymbol</b>	<b>C</b>
<b>R-Sätze</b>	<b>R 22-35</b>
	Gesundheitsschädlich beim Verschlucken. Verursacht schwere Verätzungen.
<b>S-Sätze</b>	<b>S 26-36/37/39-45</b>
	Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille oder Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.
<b>Entsorgung</b>	Rückstände werden in Wasser gelöst und nach Neutralisation in den Sammelbehälter für Salzlösungen (pH-Wert 6-8) entsorgt.

<b><i>Ammoniaklösung (25 %)</i></b>	
<b>Gefahrensymbol</b>	<b>C, N</b>
<b>R-Sätze</b>	<b>R 34-50</b>
	Verursacht Verätzungen. Sehr giftig für Wasserorganismen.
<b>S-Sätze</b>	<b>S 26-36/37/39-45-61</b>
	Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille oder Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen. Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
<b>Entsorgung</b>	Rückstände werden in Wasser gelöst und nach Neutralisation in den Sammelbehälter für Salzlösungen (pH-Wert 6-8) entsorgt.

<b>Salpetersäure (65 %)</b>	
<b>Gefahrensymbol</b>	<b>C</b>
<b>R-Sätze</b>	<b>R 35</b>
	Verursacht schwere Verätzungen.
<b>S-Sätze</b>	<b>S 23.2-26-36/37/39-45</b>
	Dampf nicht einatmen. Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille oder Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.
<b>Entsorgung</b>	Rückstände werden in den Sammelbehälter für saure, schwermetallsalzhaltige Lösungen entsorgt.

<b>Essigsäure (96 %)</b>	
<b>Gefahrensymbol</b>	<b>C</b>
<b>R-Sätze</b>	<b>R 10-35</b>
	Entzündlich. Verursacht schwere Verätzungen.
<b>S-Sätze</b>	<b>S 23.2-26-36/37/39-45</b>
	Dampf nicht einatmen. Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille oder Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.
<b>Entsorgung</b>	Rückstände werden in Wasser gelöst und nach Neutralisation in den Sammelbehälter für Salzlösungen (pH-Wert 6-8) entsorgt.

<i>Ammoniumacetat</i>	
<b>Gefahrensymbol</b>	-
<b>R-Sätze</b>	-
	-
<b>S-Sätze</b>	-
	-
<b>Entsorgung</b>	In Wasser lösen, gegebenenfalls pH 6-8 einstellen und in den Sammelbehälter für Salzlösungen (pH-Wert 6-8) entsorgen.

<i>Mesityloxid</i>	
<b>Gefahrensymbol</b>	<b>Xn</b>
<b>R-Sätze</b>	<b>R 10-20/21/22</b>
	Entzündlich. Gesundheitsschädlich beim Einatmen, Verschlucken und Berührung mit der Haut.
<b>S-Sätze</b>	<b>S 25</b>
	Berührung mit den Augen vermeiden.
<b>Entsorgung</b>	Behälter für halogenfreie organische Lösungsmittel und Lösungen organischer Substanzen.

<i>Nickel(II)-nitrat-Hexahydrat</i>	
<b>Gefahrensymbol</b>	<b>O, Xn</b>
<b>R-Sätze</b>	<b>R 8-22-43</b>
	Feuergefahr bei Berührung mit brennbaren Stoffen. Gesundheitsschädlich beim Verschlucken. Sensibilisierung durch Hautkontakt möglich.
<b>S-Sätze</b>	<b>S 24-37</b>
	Berührung mit der Haut vermeiden. Geeignete Schutzhandschuhe tragen.
<b>Entsorgung</b>	Rückstände werden in den Sammelbehälter für saure, schwermetallsalzhaltige Lösungen (Nitrit/Nitrat) entsorgt.



<b><i>Kupfer(II)-nitrat-Trihydrat</i></b>	
<b>Gefahrensymbol</b>	<b>Xn, N</b>
<b>R-Sätze</b>	<b>R 22-36/38-50/53</b>
	Gesundheitsschädlich beim Verschlucken. Reizt die Augen und die Haut. Sehr giftig für Wasserorganismen, kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkungen haben.
<b>S-Sätze</b>	<b>S 61</b>
	Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
<b>Entsorgung</b>	Rückstände werden in den Sammelbehälter für saure, schwermetallsalzhaltige Lösungen (Nitrit/Nitrat) entsorgt.

<b><i>Zinknitrat-Tetrahydrat</i></b>	
<b>Gefahrensymbol</b>	<b>O, Xn</b>
<b>R-Sätze</b>	<b>R 8-22-36/37/38</b>
	Feuergefahr bei Berührung mit brennbaren Stoffen. Gesundheitsschädlich beim Verschlucken. Reizt die Augen, Atmungsorgane und die Haut.
<b>S-Sätze</b>	<b>S 26</b>
	Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.
<b>Entsorgung</b>	Rückstände werden in den Sammelbehälter für saure, schwermetallsalzhaltige Lösungen (Nitrit/Nitrat) entsorgt.

<b><i>Cadmiumnitrat-Tetrahydrat</i></b>	
<b>Gefahrensymbol</b>	<b>Xn, N</b>
<b>R-Sätze</b>	<b>R 20/21/22-50/53</b>
	Gesundheitsschädlich beim Einatmen, Verschlucken und Berührung mit der Haut. Sehr giftig für Wasserorganismen, kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkungen haben.
<b>S-Sätze</b>	<b>S 60-61</b>
	Dieser Stoff und/oder sein Behälter sind als gefährlicher Abfall zu entsorgen. Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
<b>Entsorgung</b>	Rückstände werden in den Sammelbehälter für saure, schwermetallsalzhaltige Lösungen (Nitrit/Nitrat) entsorgt.

<b><i>Cäsium-Standardlösung (1000 mg/L; Cäsiumnitrat in HNO<sub>3</sub> 0,5 mol/L)</i></b>	
<b>Gefahrensymbol</b>	<b>Xi</b>
<b>R-Sätze</b>	<b>R 36/38</b>
	Reizt die Augen und die Haut.
<b>S-Sätze</b>	<b>S 26</b>
	Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.
<b>Entsorgung</b>	Rückstände werden in den Sammelbehälter für saure, schwermetallsalzhaltige Lösungen (Nitrit/Nitrat) entsorgt.

<b><i>Blei(II)-nitrat</i></b>	
<b>Gefahrensymbol</b>	<b>T, N</b>
<b>R-Sätze</b>	<b>R 61-E20/22-33-50/53-62</b>  Kann das Kind im Mutterleib schädigen. Auch gesundheitsschädlich beim Einatmen und Verschlucken. Gefahr kumulativer Wirkungen. Sehr giftig für Wasserorganismen, kann in Gewässern längerfristig schädliche Wirkungen haben. Kann möglicherweise die Fortpflanzungsfähigkeit beeinträchtigen.
<b>S-Sätze</b>	<b>S 53-45-60-61</b>  Exposition vermeiden – vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen. – Nur für den berufsmäßigen Verwender –. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt hinzuziehen. Dieser Stoff und/oder sein Behälter sind als gefährlicher Abfall zu entsorgen. Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
<b>Entsorgung</b>	Rückstände werden in den Sammelbehälter für saure, schwermetallsalzhaltige Lösungen (Nitrit/Nitrat) entsorgt.

## 5.3 Arbeitstechniken

Im Rahmen dieser Arbeit wurden für verschiedene Untersuchungen Standardverfahren entwickelt und optimiert.

### 5.3.1 Reinigung von Gefäßen

Die zur Probennahme einzusetzenden neuen PE-Gefäße und Kanister werden bereits im Labor gekennzeichnet und mehrfach mit HNO<sub>3</sub>-haltigem, entionisiertem Wasser und reinem entionisiertem Wasser gespült. Vor Ort an der Probennahmestelle werden die eingesetzten Gefäße mit dem jeweiligen Flusswasser vorgespült.

Sämtliche Gefäße für Standards, Puffer und weitere Lösungen werden gründlich mit verdünnter HNO<sub>3</sub> (suprapur) und entionisiertem Wasser gereinigt. Die PFA-Gefäße werden vor Gebrauch in einer Dampfreinigungsapparatur mit HNO<sub>3</sub> gereinigt. Pipettenspitzen werden zur Reduzierung von Blindwerten mit verdünnter HNO<sub>3</sub> und entionisiertem Wasser vorgereinigt und in geschlossenen Gefäßen in einem Reinraum oder unter einer Clean-Bench aufbewahrt. Direkt vor dem Einsatz werden sie mit Reinstwasser und der entsprechend einzusetzenden Lösung vorgespült. Die 500 µL CE-vials werden vor Einbringen der gewünschten Lösung mit entionisiertem H<sub>2</sub>O und der entsprechenden Lösung vorgespült.

### 5.3.2 Probennahme und Anreicherung aquatischer Huminstoffe

Zur Anreicherung aquatischer Huminstoffe mit der Tangentialfluss-Ultrafiltration werden Wasserproben von etwa 120 L benötigt. Die Probennahme erfolgt unter Vorfiltration in vorgereinigte und mit entsprechendem Flusswasser gespülte 10 bzw. 20 L PE-Kanister.

Die Anreicherung der Huminstoffe in den Wasserproben muss schnellstmöglich im Anschluss an die Probennahme erfolgen. Die unumgängliche zwischenzeitliche Lagerung der Proben erfolgt bei 4 °C im Kühlraum. Die Anreicherung des DOC in Wasserproben erfolgt nach erneuter Vorfiltration mit der Tangentialfluss-Ultrafiltration (TF-UF). Dabei kommt ein Pellicon 2 System mit einer Membran aus regenerierter Cellulose der Ausschlussgrenze 1 kD und einer Fläche von 0,46 m<sup>2</sup> der Fa. Millipore zum Einsatz. Die Anreicherung erfolgt unter Beibehaltung des originalen pH-Wertes der jeweiligen Probe. Sie wird durch DOC- und ICP-MS-Messungen in der Originalprobe, im Retentat, sowie im Permeat in ihrer Effektivität verfolgt. Wichtige Parameter der Anreicherung mit der Tangentialfluss-Ultrafiltration sind der Rückhalt (Retention, R) und der Durchlass (Passage, P) [227]:

$$R = 1 - \left( \frac{C_p}{C_r} \right) \quad \text{und} \quad P = 1 - R = \left( \frac{C_p}{C_r} \right)$$

Mit: **R** = Retention; **P** = Passage

**C<sub>p</sub>** = Permeate Concentration of the Target Solute; **C<sub>r</sub>**: Retentate Concentration of the Target Solute

Die Ausbeute über den gesamten DOC-Anreicherungsprozess, und damit entsprechend der Verlust, wird berechnet, indem die Masse des angereicherten Produkts durch die anfangs vorhandene Masse dividiert wird.

### 5.3.3 Ansetzen von Puffern und Lösungen

Zur Herstellung des Acetatpuffers (50 mmol/L, pH-Wert 5,1) werden 1,1562 g CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub> (Reinheit: Fractopur; 77,08 g/mol) in 300 mL entionisiertem Wasser gelöst und mit CH<sub>3</sub>COOH (Suprapur) auf pH 5,1 eingestellt. Analog werden Acetatpuffer der Konzentrationen 25 mmol/L und 12,5 mmol/L hergestellt.

Die Huminstoffprobenlösungen werden in der Konzentration 1 mg/mL bezüglich DOC angesetzt. Nach der Einwaage der Probe, die sich am Kohlenstoffgehalt der jeweiligen Probe orientiert, wird mit entionisiertem Wasser auf das benötigte Volumen (z.B. 5 mL) aufgefüllt. Die Probe muss vollständig gelöst sein. Vor der Charakterisierung mit der CE-UV-ICP-MS werden die Proben über ein 0,45 µm Membranfilter filtriert, um evtl. vorhandene Partikel zu entfernen und Verstopfungen in Kapillare und Interface vorzubeugen.

Für die Dotierungsexperimente von Huminstoffproben mit Metallionen werden  $\text{Ni}^{2+}$ -,  $\text{Cu}^{2+}$ -,  $\text{Zn}^{2+}$ -,  $\text{Cd}^{2+}$ -,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$ -Stammlösungen der Konzentration 1000 mg/L durch Lösen der entsprechenden Nitrate (Reinheitsstufe: zur Analyse) angesetzt.

Der  $\text{Ni}^{2+}$ -Standard (1000 mg/L) wird durch Lösen von 148,7 mg  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (molare Masse: 290,81 g/mol; molare Masse von Nickel: 58,69 g/mol) in 30 mL entionisiertem Wasser angesetzt. Der  $\text{Zn}^{2+}$ -Standard (1000 mg/L) wird durch Lösen von 120,0 mg  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (molare Masse: 261,44 g/mol; molare Masse von Zink: 65,39 g/mol) in 30 mL entionisiertem Wasser angesetzt. Der  $\text{Cu}^{2+}$ -Standard (1000 mg/L) wird durch Lösen von 114,0 mg  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (molare Masse: 241,6 g/mol; molare Masse von Kupfer: 63,5 g/mol) in 30 mL entionisiertem Wasser angesetzt. Der  $\text{Cd}^{2+}$ -Standard (1000 mg/L) wird durch Lösen von 82,3 mg  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (molare Masse: 308,4 g/mol; molare Masse von Cadmium: 112,4 g/mol) in 30 mL entionisiertem Wasser angesetzt. Der  $\text{Pb}^{2+}$ -Standard (1000 mg/L) wird durch Lösen von 53,3 mg  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  (molare Masse: 331,2 g/mol; molare Masse von Blei: 207,2 g/mol) in 30 mL entionisiertem Wasser angesetzt.

Ausgehend von diesen Stammlösungen werden für die Dotierungen täglich durch 1:10-Verdünnung frische Lösungen der Konzentrationen 100 mg/L, sowie aus diesen durch weitere 1:10-Verdünnung Lösungen der Konzentrationen 10 mg/L angesetzt und jeweils mit  $\text{HNO}_3$  (Suprapur) auf pH 2 angesäuert. Die Dotierungen der Huminstoffprobenlösungen mit Metallionen erfolgen jeweils berechnet auf die Stoffmengenkonzentrationen und je nach gewünschtem Metallionengehalt in der Huminstofflösung derart aus den drei Metallionen-Standardlösungen (1000 mg/L, 100 mg/L bzw. 10 mg/L), dass sich das Gesamtvolumen der Lösungen nur minimal ändert und dennoch noch eine gute Pipettierbarkeit gewährleistet ist.

Für den Betrieb des gekoppelten Systems CE-UV-ICP-MS werden verschiedene Lösungen benötigt: Zum Tunen der ICP-MS wird eine Li-, Y-, Ce- und Tl-haltige Lösung aus Standardlösungen (Titrisol, CertiPUR) der Fa. Merck benutzt. Die Zerstäubungskontrolle erfolgt über eine germaniumhaltige Ammoniumnitrat Make-up-Lösung. Diese Lösung wird durch Einstellen von Ammoniak-Lösung mit  $\text{HNO}_3$  (Suprapur) auf pH 7 hergestellt. Das Germanium wird über einen Germanium-Standard (CertiPUR; 1000 mg/L Ge,  $(\text{NH}_4)_2\text{GeF}_6$  in  $\text{H}_2\text{O}$ ) der Fa. Merck zugefügt. Als EOF-Marker für die UV-Detektion dient Mesityloxid (zur Synthese) der Fa. Merck. Als Markersubstanzen für die ICP-MS-Detektion werden die Komponenten Arsenocholin, Arsenobetain und Dimethylarsinsäure in einem Arsenspeziesgemisch (Standards der Fa. Sigma, Steinheim) eingesetzt. Die Herstellung der zum Betrieb des Systems CE-UV-ICP-MS benötigten Tune-, Make-up- und Marker-Lösungen ist detailliert in Abschnitt 5.4.4 dargestellt.

Die für die Reinigung und Konditionierung der Kapillare benötigten Lösungen werden folgendermaßen hergestellt: Die KOH-Lösung der Konzentration 1 mol/L wird durch Einwaage von 3,71 g  $\text{KOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$  (Suprapur; 74,13 g/mol) und Lösen in 50 mL entionisiertem Wasser erhalten. Für den Erhalt der zweiten KOH-Lösung der Konzentration 0,1 mol/L

werden 5 mL der KOH-Lösung der Konzentration 1 mol/L entnommen und mit entionisiertem Wasser auf 50 mL aufgefüllt. Die Ammoniaklösung der Konzentration 1 mol/L wird erhalten, indem 3,89 mL einer 25 %igen Ammoniaklösung (Suprapur) mit entionisiertem Wasser auf 50 mL aufgefüllt werden. 2 %ige HNO<sub>3</sub>-Lösung wird durch Verdünnung von 1,68 mL 65 %iger HNO<sub>3</sub>-Lösung des Reinheitsgrades Suprapur mit entionisiertem Wasser auf 50 mL erhalten.

### 5.3.4 Basis-Charakterisierung der Huminstoffproben

Die Bestimmung des DOC spielt insbesondere bei der Anreicherung der Refraktären Organischen Substanzen (ROS) in aquatischen Proben eine wichtige Rolle. Der DOC wird nach 0,45 µm-Membranfiltration mit einem DOC-Analysator bestimmt. Die relativen Standardabweichungen der gemessenen Konzentrationswerte sollten unterhalb von 4 % liegen.

C, H, N, S und O werden in den getrockneten und Luft-äquilibrierten Proben in der zentralen Analytik des Instituts für Anorganische und Angewandte Chemie der Universität Hamburg unter Verwendung verschiedener Elementaranalysatoren (Vario EL, Leco) bestimmt. C, H und N werden simultan nach Verbrennung bei 940 °C in O<sub>2</sub>-Atmosphäre und Anwesenheit von CuO bestimmt. Für die Sauerstoffbestimmung werden die Proben bei 1120°C in Formiergas gecrackt. Die relativen Standardabweichungen sollten unterhalb von 3 % liegen.

Die UV-VIS-Spektren (und damit die Absorption bei  $\lambda = 254$  nm und  $\lambda = 436$  nm) werden mit einem UV-VIS-Spektrometer mit 1 mm Quarzzellen und destilliertem Wasser als Referenz gemessen. Die DOC-Konzentrationen werden auf etwa 50 mg/L und die pH-Werte auf 7 eingestellt.

Die IR-Spektren werden an einem PE 1720 Infrared Fourier Transform Spectrometer der Fa. Perkin Elmer aufgezeichnet. Als Auswerte-Software dient das Programm Spectrum V2.00. Zum Pressen der Proben-tabletten wird ca. 1 mg der jeweiligen Probe mit etwa 100 mg KBr versetzt und im Mörser homogenisiert. Das Gemenge wird zwischen die Press-Stempel der hydraulischen Presse verbracht, Vakuum angelegt und mit einem Druck von ca. 12 bar eine Tablette von 1 cm Durchmesser und etwa 1 mm Dicke gepresst.

Aufgrund der geringen zur Verfügung stehenden Huminstoff-Probenvolumina wird die Bestimmung der Metallionengehalte mit der TRFA durchgeführt. Die Huminstofflösungen werden in der Konzentration 1 mg DOC / mL angesetzt und vor der Metallgehaltsbestimmung über einen 0,45 µm Polyvinylidendifluorid-Filter filtriert. Auf gereinigte Quarzglasprobenträger werden jeweils 25 µL 1,1,1,3,3,3-Hexamethyldisilazan aufpipettiert und durch Schwenken der Probenträger gleichmäßig verteilt, um durch Silanisierung der

Oberfläche eine bessere Tropfenbildung zu ermöglichen. Bei den TRFA-Messungen wird eine Gallium-Standardlösung (1000 mg/L,  $\text{Ga}(\text{NO}_3)_3$  in  $\text{HNO}_3$  0,5 mol/L) der Fa. Merck in der Verdünnung 1:20 für den internen Standard eingesetzt. Jeweils 990  $\mu\text{L}$  Huminstofflösung (1 mg/mL DOC) werden mit 10  $\mu\text{L}$  Gallium-Standardlösung der Konzentration 50 mg/L versetzt und mit dem Schüttler homogenisiert. Unter der Clean-Bench werden jeweils 20  $\mu\text{L}$  der zu bestimmenden Probenlösung auf die Mitte der Probenträger pipettiert und auf der Heizplatte zu einem amorphen Film eingedampft. Die Proben werden mit der TXRF 8030 C der Fa. Atomika jeweils 5000 s bei Anregung durch eine Feinstruktur-Röntgenröhre mit Molybdän- bzw. Wolfram-Target gemessen. Die erhaltenen Spektren werden mit Hilfe einer Elementliste mit dem installierten Auswerteprogramm automatisch ausgewertet, wobei die Quantifizierung anhand der zugegebenen internen Gallium-Standardlösung erfolgt.

### 5.3.5 Fraktionierung von Huminstoffen mit UF-Membranen

Die Proben werden in der gleichen Weise angesetzt wie bei der Charakterisierung mit der CE-UV-ICP-MS. Auch die Dotierung mit Metallionen erfolgt der Vergleichbarkeit halber auf die gleiche Art und Weise und bei gleichen Konzentrationen. Es werden 400 mL einer Lösung von 1 mg/mL DOC der Probe HOFA13 in einem Acetatpuffer der Konzentration 12,5 mmol/L mit einem pH-Wert von 5,1 angesetzt. Der DOC des Acetatpuffers wird durch Fünffachbestimmung ermittelt und im Folgenden von den jeweiligen DOC-Messungen der Huminstoff-Fractionen abgezogen.

Zur Fraktionierung der Huminstoff-Proben mit der Ultrafiltration werden mehrfach mit entionisiertem Wasser gespülte Membranen mit acht verschiedenen Trenngrößen (NMWCO: 1, 3, 10, 30, 50, 100, 300, 1000 kDa) eingesetzt. Je 4 mL Probenlösung werden durch Zentrifugation in einer Zentrifuge mit Schwingrotor (Eppendorf 5804R) bei 5000 Umdrehungen in Microsep Gefäßen der Fa. Pall über die jeweiligen Membranen ultrafiltriert und somit die entsprechenden Fraktionen erhalten. Die Verteilung des Huminstoffs auf die verschiedenen Fraktionen wird durch die jeweilige Bestimmung des DOC im Filtrat ermittelt. TRFA-Messungen dienen der Bestimmung der Metallionengehalte.

## 5.4 Bedienung des Systems CE-UV-ICP-MS

Da es sich bei dem gekoppelten System CE-ICP-MS nicht um ein direkt erhältliches Gerät, sondern um zwei unabhängige Geräte handelt, die mit dem käuflichen Interface CEI 100 der Fa. CETAC miteinander verbunden und getrennt voneinander angesteuert werden, werden einige Hinweise bezüglich der Bedienung des Systems dargestellt.

### 5.4.1 Starten des Systems CE-UV-ICP-MS

- Frisches Ansetzen und Abfüllen sämtlicher benötigter Lösungen.
- Öffnen des Kühlwasserhahnes.
- Starten des CE-Gerätes, Starten des CE-Rechners, Starten der CE-Software (Instrument 1 online) und Initialisieren des Systems; Einstellen der gewünschten Betriebsparameter.
- Starten des ICP-MS-Rechners, Starten der ICP-MS-Software.
- Konditionieren der Kapillare (KOH) und Spülen mit dem gewünschten Puffer; Spülen bei offenem Kapillarende und Blindstopfen auf dem Kreuzstück; anschließend abgespülte Kapillare bis zum leichten Anschlag ins Kreuzstück schieben und zuschrauben.
- Spitze der Zerstäuberkapillare abspülen, vorsichtig trocknen und über Öffnen des Carrier-Gasstromes trockenblasen (Instrument, Maintenance, Sample Introduction, Carrier Gas auf 1 setzen, Open Ar-Gas Valve).
- Gereinigten und im Gasstrom getrockneten Zerstäuberglaswinkel aufsetzen, Verbindung des Kapillarausganges der CE über das Interface mit der ICP-MS vollständig herstellen.
- Zünden des Plasmas (Instrument-Fenster).
- Kontrolle, ob die Tune- bzw. Make-Up-Lösung vom Interface angesaugt wird; gegebenenfalls über Anlegen eines leichten Unterdruckes (mit einer Spritze) nachhelfen.
- Tunen der ICP-MS (siehe unten).
- Vor Beginn einer Messung Remote-Steckverbindung zwischen CE und ICP-MS setzen.
- ICP-MS: Messbedingungen einstellen; durch „Run Method“ wartet ICP-MS auf das Startsignal der CE.
- CE-Start startet dann die gesamte Messung.
- Betrachten der transienten Signale der ICP-MS über Data Analysis, Main Panel, Time Chart, Extract Ion Chart, Add 72, 75 (Masse der gewünschten Elemente).

Zum Beenden der Messungen und Herunterfahren des Systems ist folgendermaßen vorzugehen:



- Austausch der Make-Up-Lösung durch Reinstwasser.
- Postkonditionierung der Kapillare und Füllen mit Wasser.
- Remote Kabel lösen.
- Plasma stoppen.
- CE: Lampe ausschalten, Gerät, Kühlung ausschalten.
- Wassertropfen an die Spitze der Zerstäuberkapillare hängen und geschlossenen Glaswinkel überstülpen.
- Kühlwasserkreislauf stoppen.
- Alle Teile des Interfaces über Nacht gut abdecken.

### 5.4.2 Einstellen der Betriebsparameter der CE

Nach dem Starten der CE und des CE-Rechners wird die Software *Instrument 1 Online* aufgerufen. Über die in Abbildung 204 dargestellte Oberfläche können die Betriebsmodi und Parameter der Messung eingestellt und die Messung überwacht werden.

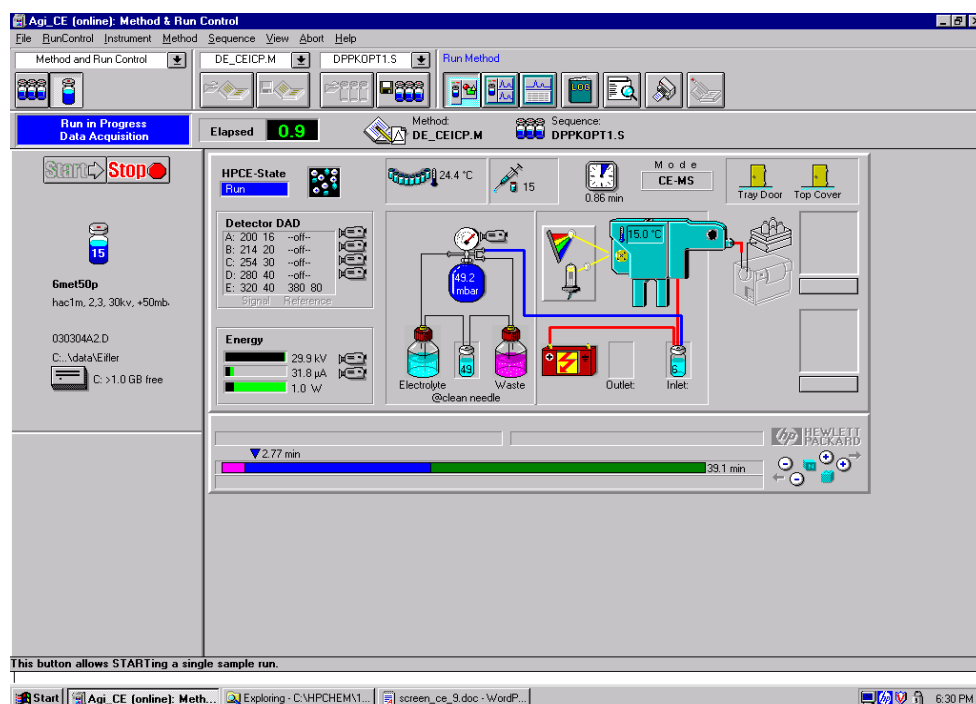


Abbildung 204: Steuerungsoberfläche der Kapillarelektrophorese CE 3D; Programm: Instrument 1 Online

Abbildung 205 zeigt als Beispiel einer Parametereinstellung die Oberfläche beim Einstellen einer Reinigungssequenz (Conditioning), die die Kapillare automatisch nach einer Messung wieder in einen reproduzierbar guten Zustand für eine Folgemessung versetzt. Die wichtigsten Parameter einer Messung werden über das links unten zu sehende Fenster eingestellt (Home values, Conditioning, Injection, Electric, Timetable, Detector). Die genauen Einstellungen einer Reinigungssequenz sind in Tabelle 22 in Abschnitt 5.4.7 zusammengefasst.

Bei der Aufzeichnung von UV-Signalen (z.B. 254 nm) kann u.U. ein zu starkes Rauschen durch Herausnehmen von Ref=450,80 verringert werden. Für den Datenexport der UV-Signale, der eventuell aufgezeichneten 3D-Signale oder auch der Signale für Strom oder Druck wird folgender Weg beschriftet: Data-Analysis, File, Export CSV File, Auswahl der zu exportierenden Daten, Angabe eines Namens.

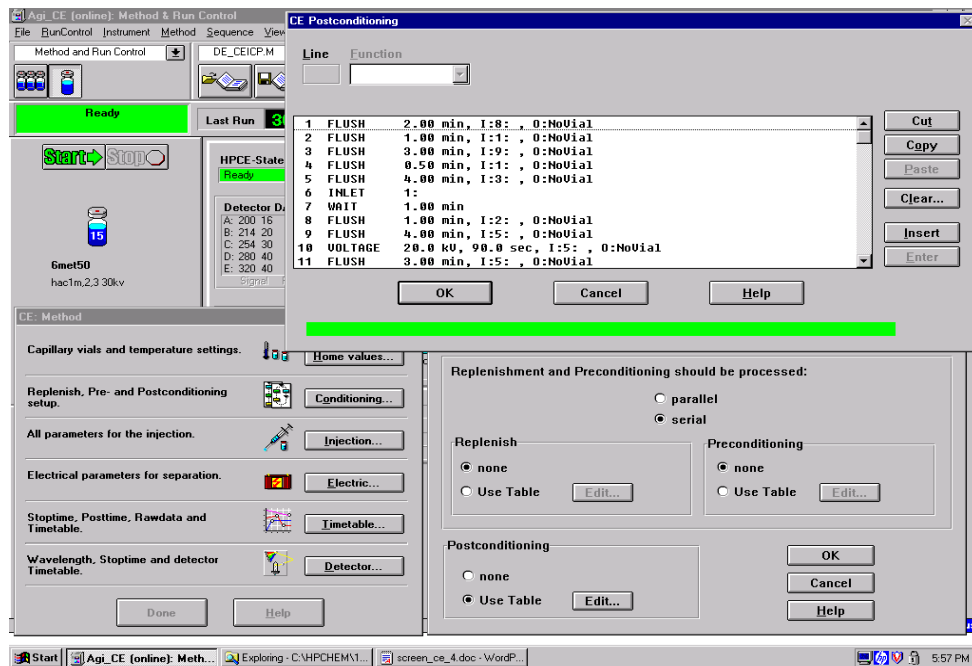


Abbildung 205: Oberfläche beim Einstellen einer Kapillar-Postkonditionierung

### 5.4.3 Tunen der ICP-MS und gemessene Elemente

Die Ansteuerung des ICP-MS-Instruments sowie das Tunen der ICP-MS vor Beginn der Messungen erfolgt über die ICP-MS-Software (Abbildung 206 und Abbildung 207).

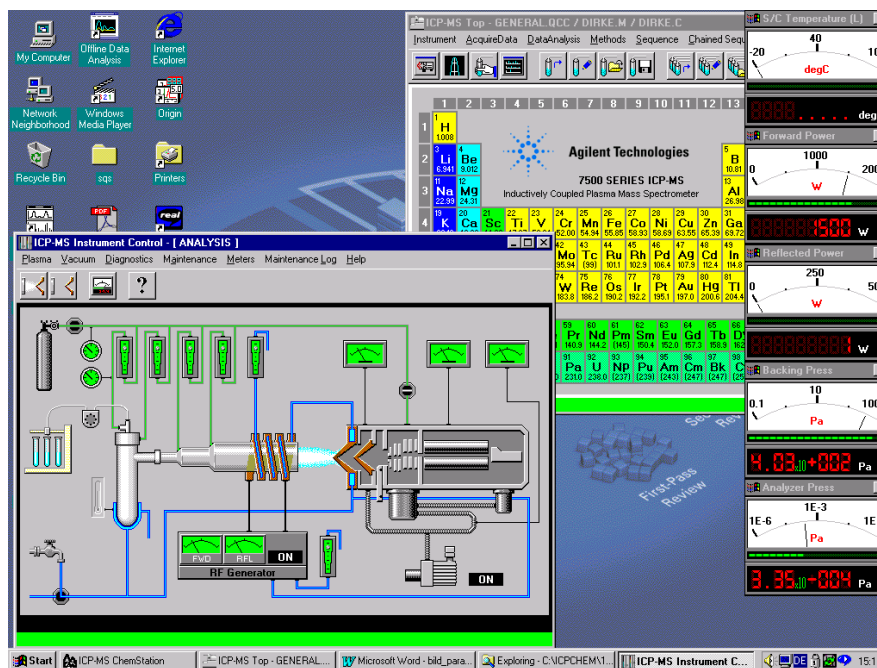


Abbildung 206: Fenster der ICP-MS-Software: Instrument Control

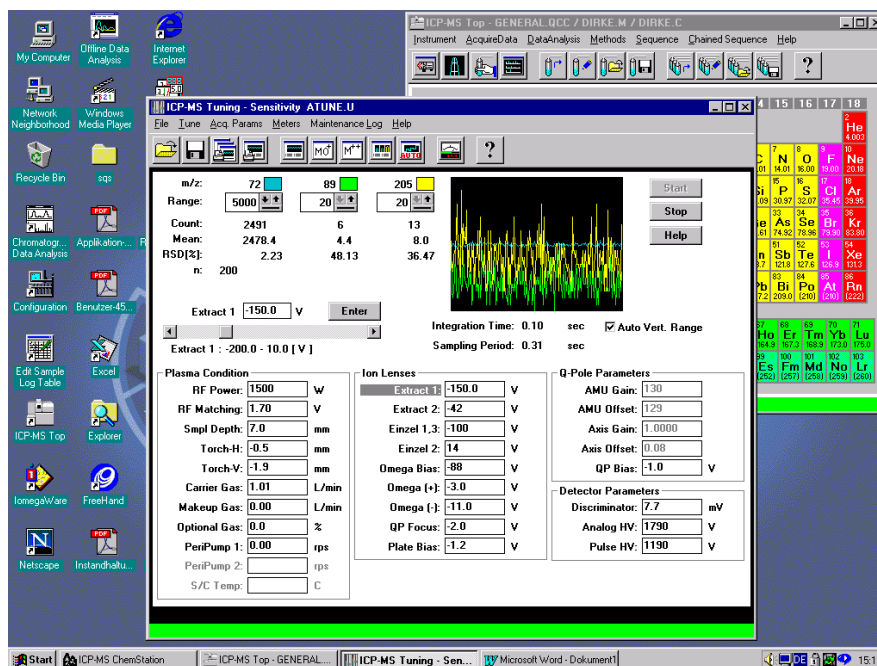


Abbildung 207: Fenster der ICP-MS-Software: Tuning Sensitivity

Das Tunen der ICP-MS für die Detektion transientser Signale erfolgt über das Anwählen der Aquisitionparameter 7, 89 und 205 im Tune Fenster (Abbildung 207) unter Ansaugen der entsprechenden Tune-Lösung. Unter Tune, Sensitivity, Start wird der aktuelle Signalverlauf der angewählten Elemente auf dem Monitor angezeigt. Manuell werden die verschiedenen zu optimierenden Parameter (RF-Power, Sample Depth, ...) variiert und unter dem Kriterium hoher Empfindlichkeit bzw. Intensität optimiert. Dabei sollten die Intensitäten möglichst über den gesamten erwünschten Massenbereich hinweg hoch sein. Die Detektor-Parameter werden über Auto-Tune (EM: Electron Multiplier) optimiert. Die ICP-MS-Integration Time wird auf 0,05 bzw. 0,1 Sekunden pro Element gesetzt. Die durch die Geräteparameter-Optimierung erreichten Werte werden über ICP, File, Generate Report ausgedruckt und mit denen anderer Messtage verglichen. Der Datenexport für die Darstellung und Auswertung der Ergebnisse mit Excel erfolgt über ein Macro zum Erstellen von CSV-Files (makro tabchr 32. g).

Aufgrund möglicher Interferenzen werden Puffer und Lösungen mit Kalium als Gegenion angesetzt, da Natriumionen die Kupfer-Bestimmung durch Bildung von Na-Ar stören. Auch die Konzentration an Cl-Ionen sollte möglichst gering gehalten werden, um bei der Bestimmung von  $^{75}\text{As}$  Interferenzen durch Bildung von Ar-Cl zu minimieren.

### 5.4.4 Lösungen für Tuning und Betrieb der CE-UV-ICP-MS

Die in Tabelle 19 aufgeführten Lösungen werden für das Tuning der ICP-MS, den Betrieb der Zerstäubung am Interface zwischen Kapillarausgang und ICP-MS, bzw. zur Kontrolle bei Messungen benötigt. Die Lösungen werden gemäß der Angaben in den Zeilen „Ansatz“ hergestellt.

**Tabelle 19: Tune-, Make-Up- und Marker-Lösung**

<i>Lösungen für Tuning und Betrieb der CE-UV-ICP-MS</i>	
<b><i>Tune-Lösung</i></b>	
Funktion	Tuning über: ${}^7\text{Li}$ , ${}^{89}\text{Y}$ , ${}^{140}\text{Ce}$ , ${}^{204}\text{Tl}$
Enthält	Lithium, Yttrium, Cer, Thallium
Konzentration	Je 10 $\mu\text{g/L}$
Ansatz	Je 50 $\mu\text{L}$ der Li-, Y-, Ce- sowie Tl-Standards (10 mg/L) werden mit 1,5 mL $\text{HNO}_3$ versetzt und mit entionisiertem Wasser auf 50 mL aufgefüllt
<b><i>Make-up-Lösung</i></b>	
Funktion	Stromschluss, Lösungsvolumen für Zerstäubung, Zerstäubungskontrolle über ${}^{72}\text{Ge}$
Enthält	$\text{NH}_4\text{NO}_3$ ; Ge-Standard; Auch Puffer selbst kann als Make-Up-Lsg. genutzt werden
Konzentration	10 mmol/L $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ; 10 $\mu\text{g/L}$ Ge; pH-Wert: 7,4 bzw. je nach eingesetztem Puffer
Ansatz	195 $\mu\text{L}$ 25 %ige $\text{NH}_3$ -Lösung (Suprapur) mit entionisiertem Wasser auf 250 mL auffüllen; pH 7 mit $\text{HNO}_3$ (Suprapur; 10 %ig) einstellen; 250 $\mu\text{L}$ Ge-Standard (10 mg/L; herstellen aus Ge-Standard 1000 mg/L) zufügen
<b><i>Marker-Lösung</i></b>	
Funktion	Kontrolle der Qualität der Messung; EOF-Kontrolle
Enthält	Arsenocholin (AsCh), Arsenobetain (AsB), Dimethylarsinsäure (DMA), Cs-Ionen
Konzentration	Je 200 $\mu\text{g/L}$ (Cäsium teilw. 20 $\mu\text{g/L}$ )
Ansatz	Je 10 $\mu\text{L}$ der Standard-Lösungen (10 mg/L) werden direkt in ein CE-Vial gegeben, mit entionis. Wasser auf 500 $\mu\text{L}$ aufgefüllt und mit einem Rüttler homogenisiert

Folgende Lösungen werden zur Reinigung und Konditionierung der Kapillare benötigt:

- **KOH-Lösung:** Konzentration 1 mol/L
- **KOH-Lösung:** Konzentration 0,1 mol/L
- **NH<sub>3</sub>-Lösung:** Konzentration 1 mol/L
- **HNO<sub>3</sub>-Lösung:** 10 %ig und 2 %ig
- **Puffer-Lösung:** jeweils eingesetzter Puffer
- **H<sub>2</sub>O:** Entionisiertes Wasser

Die Lösungen werden im Probenkarussell der Kapillarelektrophorese in der in Tabelle 20 aufgeführten Reihenfolge positioniert. Die Vials werden mit maximal 500 µL befüllt, um Kontaminationen und Verschleppungen durch Eintauchen des Durchsteckers in Lösungen zu vermeiden.

**Tabelle 20: Eingesetzte Lösungen und ihre Positionen in der CE**

<i>Positionen der Lösungen in der CE</i>		
<i>Position</i>	<i>Vial-Inhalt</i>	<i>Funktion</i>
1	H <sub>2</sub> O	Vorreinigen, Eintauchen der Kapillarspitze zur Reinigung (auch: Outlet Vial zum Hineinspülen bei reinem CE-Betrieb)
2	H <sub>2</sub> O	Spülen zwischen den Lösungen; Befüllen der Kapillare über Nacht
3	KOH (1 mol/L)	Kapillarkonditionierung
4	KOH (0,1 mol/L)	Kapillarkonditionierung
5	Puffer	Spülen vor der Messung
6	Puffer	Trennpuffer „Inlet Home Vial“
7	Leer	
8	HNO <sub>3</sub> (2 %ig)	Kapillarreinigung
9	NH <sub>3</sub> (1 mol/L)	Kapillarreinigung
10	Puffer (nur bei reinem CE-Betrieb)	„Outlet Home Vial“
12	Marker	EOF-Kontrolle
15	Probe	„Inject Vial“

### 5.4.5 Präparation von Kapillaren

Das Schneiden von Kapillaren erfolgt mit einem speziellen Kapillarschneidegerät. Die gewünschte Länge (z.B. 60 cm) wird auf der Kapillare markiert, das Schneidegerät auf die Kapillare geschoben, fixiert und das Ablängen durch Drehen des Schneide-Rades durchgeführt. Die geschnittenen Kapillarenden werden mit Methanol im Ultraschallbad gereinigt und mit dem Mikroskop auf Sauberkeit und geraden Schnitt geprüft. Die Kapillaren werden anschließend gründlich mit H<sub>2</sub>O, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O und NH<sub>3</sub>-Lösung gespült und mit KOH-Lösung konditioniert.

### 5.4.6 Probenaufgabe

Die Probenaufgabe erfolgt durch den Austausch des „In Home“-Vials, das den Laufpuffer enthält, gegen das Vial, das die zu fraktionierende Probe enthält. Durch Anlegen eines Drucks auf der Probenaufgabeseite wird ein Probenpfropfen in die Kapillare injiziert. Im Anschluss erfolgt erneut der Wechsel des Proben-Vials gegen das „In Home“-Vial.

Tabelle 21 zeigt beispielhaft eine Probenaufgabe einer CE-ICP-MS Messung eines Metallionenstandards („Inject Vial“) sowie einer Marker-Lösung, die verschiedene Arsen-Spezies enthält („Vial 12“).

**Tabelle 21: Probenaufgabe eines Metallionenstandards sowie der Marker-Lösung**

<i>Schritt</i>	<i>Funktion</i>	<i>Druck [mbar]</i>	<i>Zeit [s]</i>	<i>Inlet Vial</i>	<i>Outlet Vial</i>
1	Pressure	10	2	In Home	No Vial
2	Pressure	10	2	12	No Vial
3	Pressure	10	2	In Home	No Vial
4	Pressure	10	2	Inject	No Vial
5	Pressure	10	2	In Home	No Vial

Das „In Home Vial“ enthält den entsprechenden Puffer der Messung. Als „Outlet Vial“ wird „No Vial“ angegeben, da am Ende der Kapillare das Interface zur ICP-MS angebracht ist. Zwischen der Marker-Lösung und der Probenlösung wird jeweils ein kleiner Pfropfen

Pufferlösung injiziert. Dieser Schritt erfolgt ebenfalls vor und nach Aufgabe der ersten und der letzten Lösung.

### 5.4.7 Postkonditionierung der Kapillare

Zur Wiederherstellung annähernd desselben Kapillarzustandes wie vor einer Messung wird jeweils nach einer Messung eine Kapillarpostkonditionierung durchgeführt. Die Postkonditionierung richtet sich nach der Art der zuvor erfolgten Messung. Bei metallionendotierten Huminstoffproben ist eine umfangreiche Postkonditionierung erforderlich. Die Kapillare wird nacheinander mit 2 %iger Salpetersäure, Wasser, Ammoniaklösung der Konzentration 1 mol/L, Wasser, KOH-Lösung der Konzentration 1 mol/L, Wasser und zuletzt mit dem gewünschten Laufpuffer gespült. In Tabelle 22 ist das eingesetzte Programm zur Kapillarpostkonditionierung mit den jeweiligen Spülzeiten aufgeführt.

**Tabelle 22: Postkonditionierung der Kapillare (Reinigungsschritte nach einer Messung)**

*Postkonditionierung bei Messungen mit dem System CE-UV-ICP-MS*

<i>Schritt</i>	<i>Funktion</i>	<i>Zeit [min]</i>	<i>Inlet Vial</i>	<i>Inhalt</i>	<i>Outlet Vial</i>
1	Flush	2	8	HNO <sub>3</sub> (2 %ig)	No Vial
2	Flush	1	1	H <sub>2</sub> O	No Vial
3	Flush	3	9	NH <sub>3</sub> (1 mol/L)	No Vial
4	Flush	0,5	1	H <sub>2</sub> O	No Vial
5	Flush	4	3	KOH (1 mol/L)	No Vial
6	Inlet		1	H <sub>2</sub> O	No Vial
7	Wait	1			No Vial
8	Flush	1	2	H <sub>2</sub> O	No Vial
9	Flush	4	5	Puffer	No Vial
10	Voltage, 20 kV	1,5	5	Puffer	No Vial
11	Flush	3	5	Puffer	No Vial
12	Flush	1	6	Puffer	No Vial



## 6 Zusammenfassung

In den letzten Jahren hat die Elementspeziationsanalytik in den Umwelt- und Lebenswissenschaften mit der Fragestellung nach der Art des Vorliegens bestimmter Elemente und den damit in Zusammenhang stehenden Wirkungsmechanismen zunehmend an Bedeutung gewonnen. Auch in aquatischen Systemen stellt sich besonders die Frage, in welchem Ausmaß bestimmte Schwermetalle durch Huminstoffe komplexiert und damit mobilisiert und in ihrem Transportverhalten verändert werden.

Um diese Fragestellung detailliert untersuchen zu können, ist in dieser Arbeit unter Nutzung der Kapillarelektrophorese mit UV-Detektion und online gekoppelter ICP-MS-Detektion (CE-UV-ICP-MS) eine Methode entwickelt und optimiert worden, die die Charakterisierung von Huminstoffen ermöglicht, einschließlich der Untersuchung von Schwermetallen, die an verschiedene Huminstoff-Grobfractionen gebunden sind.

Die Entwicklung der Methode erfolgte in mehreren Schritten; zunächst wurden die Fraktionierungsbedingungen bei alleiniger UV-Detektion optimiert. Es zeigte sich, dass bei hohen pH-Werten eine CE-Fraktionierung von Huminstoffen aufgrund einer großen Anzahl deprotonierter funktioneller Gruppen bei einem schnellen elektroosmotischen Fluss in relativ kurzen Analysenzeiten gut möglich war. Je niedriger der pH-Wert gewählt wurde, desto länger dauerte die Fraktionierung. Sowohl Carbonat-, Borat-, Acetat- als auch Phosphatpuffer hatten bei pH-Werten zwischen 11 und 7 eine gute Eignung als Hintergrundelektrolyten für die Huminstoff-Fraktionierung. Besonders der Acetat- und der Phosphatpuffer ließen dabei gute Voraussetzungen für eine Huminstoff-Fraktionierung mit zusätzlicher simultaner ICP-MS-Detektion auch bei niedrigeren pH-Werten und veränderten Versuchsbedingungen erkennen.

In einem weiteren Schritt erfolgte die Optimierung der zur Charakterisierung der metallionenbindenden Eigenschaften CE-fraktionierter Huminstoffproben angestrebten ICP-MS-Detektion. Nach Überprüfung möglicher Interferenzen wurden die Massen der folgenden ökologisch relevanten Elemente für die ICP-MS-Detektion gewählt:  $^{60}\text{Ni}$ ,  $^{63}\text{Cu}$ ,  $^{66}\text{Zn}$ ,  $^{75}\text{As}$ ,  $^{114}\text{Cd}$ ,  $^{133}\text{Cs}$  und  $^{208}\text{Pb}$ .  $^{72}\text{Ge}$  diente über eine mit Germanium dotierte Make-Up-Lösung der Kontrolle der regelmäßigen Zerstäubung. Nicht huminstoffkomplexierte, freie Metallionen sind bei neutralen bzw. leicht alkalischen Versuchsbedingungen allerdings nicht stabil und waren mit dem System CE-ICP-MS daher nicht in Form scharfer Metallionensignale detektierbar.

Versuchsreihen mit Metallionen-Standardlösungen bei steigenden pH-Werten des Hintergrundelektrolyten beginnend mit einem Wert von 2,3 zeigten, dass die Grenze für den Erhalt scharfer Metallionensignale bei einem pH-Wert von 5,1 lag. Mit diesem Acetat-

Puffersystem konnten bezüglich der Detektion von freien Metallionen noch gute Ergebnisse erreicht werden. In weiteren Untersuchungen zeigte sich, dass Huminstoffproben, insbesondere die in aquatischen Systemen gelösten Fulvinsäuren, bei einem pH-Wert von 5,1 aufgrund der bereits deutlichen Deprotonierung von Carboxylgruppen ebenfalls noch fraktionierbar waren.

Es erfolgte daher, aufbauend auf diesen Versuchsbedingungen, eine Optimierung der Gesamtmethode CE-UV-ICP-MS. Ein zusätzlich zur Spannung angelegter Druck erlaubte beim pH-Wert von 5,1 die Fraktionierung von Huminstoffen mit UV- und ICP-MS-Detektion der Fraktionen in einer Zeit von 30 Minuten.

Unter diesen Bedingungen war dann die Charakterisierung von Huminstoffen und die Bestimmung der Schwermetallanteile, die an verschiedene Huminstoff-Grobfractionen gebunden sind, möglich, und zwar neben der Fraktionierung von Humin- und insbesondere Fulvinsäuren und der Bestimmung des gebundenen Schwermetallanteils auch die Detektion des freien Anteils an Metallionen in niedrigen und hohen Konzentrationen. Über die jeweiligen Signalfächen können Mengenverhältnisse von Metallionen in verschiedenen Fraktionen abgeschätzt werden.

Die Eignung des Verfahrens wurde prototypisch an fünf unterschiedlichen Huminstoffproben, sowohl natürlichen, über das XAD-8- bzw. Tangentialfluss-Ultrafiltrations-Verfahren angereicherten, als auch synthetischen Modellen von Huminstoffen demonstriert. Sie wurden in ihrem Komplexierungsverhalten gegenüber verschiedenen umweltrelevanten Schwermetallionen unter den Bedingungen des Fließgleichgewichtes der Kapillarelektrophorese charakterisiert. Untersucht wurde auch die Beladbarkeit der unterschiedlichen Huminstoffproben – also die relative Komplexierungskapazität – bezüglich der Schwermetallkationen  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cs}^+$  und  $\text{Pb}^{2+}$ , sowie die Abhängigkeit des Komplexierungsverhaltens von der Art des Huminstoffs, des komplexierten Metallions und des zeitlichen Einflusses bei der Komplexierung.

Eine Validierung und ein Vergleich der Ergebnisse, sowie der Erhalt absoluter Informationen über die Molekulargewichtsverteilung, erfolgte durch Ultrafiltration mit DOC- und TRFA- Detektion (offline).

Über die UV-Signale ließen sich für die CE-fraktionierten, zunächst nicht metallionendotierten Proben charakteristische Fingerprints mit Informationen über die Huminstoff-Polydispersität erhalten. Die ICP-MS-Detektion zeigte die jeweiligen auf die Huminstoff-Fractionen verteilten Metallionengehalte, die bei den über Tangentialfluss-Ultrafiltration angereicherten Proben höher lagen als bei den Proben, deren Anreicherung über die XAD-8-Methode erfolgte.

Der Kontakt der Huminstofflösungen mit zugegebenen Metallionen führte bereits nach wenigen Minuten (Kontakt ausschließlich innerhalb der Kapillare) zu einer Komplexierung der Kationen durch die Huminstoffe.

Bei den Dotierungsexperimenten mit ansteigenden Mengen an Metallionen erfolgte die CE-Fraktionierung mit UV- und ICP-MS-Detektion nach einer Kontaktzeit von jeweils einer Stunde. Mit der entwickelten Methode ist es möglich, das beginnende Auftreten freier Metallionen in der Probe bei Überschreiten der Bindungsvermögens des Huminstoffs aufzuzeigen und die Metallionenkonzentration, ab der dies geschieht, als ungefähres Maß zur Abschätzung einer Komplexierungskapazität der entsprechenden Probe gegenüber den untersuchten Metallionen zu nutzen.

Die ungefähren Komplexierungskapazitäten von  $\text{Cu}^{2+}$ - sowie  $\text{Cd}^{2+}$ -Ionen der fünf untersuchten Huminstoffproben wurden verglichen, wobei sich der Einfluss von bei der Synthese von Modell-Huminstoffen eingebautem Stickstoff nur durch eine geringfügig höhere Komplexierungskapazität bemerkbar machte. Der zusätzliche Einbau von Schwefel führte nicht zu einer Erhöhung der (Gesamt-)Komplexierungskapazität, er veränderte allerdings das Fraktionierungsverhalten des Huminstoffs; eine Komplexierung von Metallionen erfolgte teilweise deutlich verstärkt in bestimmten Huminstoff-Fraktionen.

Die absoluten Werte der abgeschätzten Komplexierungskapazitäten waren Literaturwerten ähnlich, die mit anderen Methoden für vergleichbare aquatische Huminstoffe ermittelt wurden.

Bezüglich der verschiedenen, simultan dotierten Schwermetallionen ergab sich folgende Reihenfolge der Stärke der Komplexierung:  $\text{Cu}^{2+} \approx \text{Pb}^{2+} > \text{Zn}^{2+} \approx \text{Ni}^{2+} > \text{Cd}^{2+} \gg \text{Cs}^+$ . Die Komplexierung der dotierten Metallionen durch die Huminstoffproben führte zu einer Verringerung der effektiven negativen Ladungen bzw. zu einer Vergrößerung der Huminstoffmoleküle durch Verbrückung oder Aggregation.

Die Untersuchungen zeigten, dass der Gehalt der Huminstoffe an Sauerstoff, Stickstoff und Schwefel Einfluss auf das Fraktionierungs- und Komplexierungsverhalten der Proben hat. Insbesondere beim Vergleich der Huminstoffmodelle ohne bzw. mit eingebautem Stickstoff und Schwefel zeigten sich aufgrund der Huminstoff-Strukturänderungen anzeigenden Veränderungen im Fraktionierungs- und Komplexierungsverhalten die Vorzüge der hohen Signalauflösung der CE-UV-ICP-MS. Diskrete Fraktionen der Metallionensignale konnten erkannt und den entsprechenden Fraktionen der UV-Signale zugeordnet werden. Dies lässt auf eine teilweise deutlich verstärkte Komplexierung von Metallionen wie z.B.  $\text{Cd}^{2+}$  in bestimmten Fraktionen des Huminstoffs schließen.

Die Möglichkeit der feinen Differenzierung der Signalverläufe verschiedener Metallionen ist ein großer Vorzug dieser Methode, die durch die Ultrafiltration um den Erhalt absoluter Größeninformationen ergänzt wurde.

Mit der entwickelten Methode für die CE-UV-ICP-MS besteht eine neue und umfassende Möglichkeit der Charakterisierung der metallionenbindenden Eigenschaften von Huminstoffen; hieraus ergeben sich neue Möglichkeiten zur Erfassung des Binde- und Transportverhaltens von Huminstoffen gegenüber Metallionen.

---

## 7 Literatur

- [1] Buffle J, Leppard GG. *Characterization of Aquatic Colloids and Macromolecules. 1. Structure and Behaviour of Colloidal Material*. Environmental Science and Technology. Vol. 29, No. 9 (1995) 2169-2175.
- [2] McCarthy JF, Zachara JM. *Subsurface transport of contaminants. Mobile colloids in the subsurface environment may alter the transport of contaminants*. Environ. Sci. Technol. Vol 23, No. 5 (1989) 496-592.
- [3] Frimmel FH (Hrsg). *Wasser und Gewässer: Ein Handbuch*. Heidelberg, Berlin, Spektrum, Akad. Verl. (1999).
- [4] Ryan JN, Elimelech M. *Colloid mobilisation and transport in groundwater. Review*. Coloids and Surfaces, A: Physicochemical and Engineering Aspects, 107 (1996) 1-56.
- [5] Spitzzy A, Leenheer J. *Dissolved organic carbon in rivers*. In: Degens ET, Kempe S, Richey JE. *Biogeochemistry of major world rivers*. Scope, John Wiley & Sons Ltd (1991).
- [6] Hofmann T. *Kolloide. Die Welt der vernachlässigten Dimensionen*. Chem. Unserer Zeit, 38/1 (2004) 24-35.
- [7] Frimmel FH. *Scriptum: Struktur und Reaktionen aquatischer Huminstoffe*. Universität Karlsruhe (TU), Engler-Bunte-Institut (ohne Jahresangabe).
- [8] Schnitzer M, Khan SU. *Humic Substances in the Environment*. Marcel Dekker Inc. New York (1972).
- [9] Stevenson FJ. *Humus Chemistry. Genesis, Composition, Reactions*. John Wiley and Sons Inc. New York, Second Edition (1994).
- [10] Bliefert C. *Umweltchemie*. Wiley-VCH, Weinheim, 2. Auflage (1997).
- [11] Frimmel FH, Abbt-Braun G, Heumann KG, Hock B, Lüdemann H-D, Spitteller M (Hrsg). *Refractory Organic Substances in the Environment*. Wiley-VCH, Weinheim (2002).
- [12] Aiken GR, McKnight DM, Wershaw RL, MacCarthy P. *Humic Substances in Soil, Sediment and Water. Geochemistry, Isolation and Characterization*. John Wiley and Sons, New York (1985).

- [13] Hayes MHB, MacCarthy P, Malcolm RL, Swift R (Hrsg). *Humic Substances II. In Search of Structure*. John Wiley and Sons, Chichester (1989).
- [14] Senesi N, Miano TM. *Humic Substances in the Global Environment and Implications on Human Health*. Elsevier, Amsterdam (1994).
- [15] MacCarthy P. *Aquatic Humic Substances and Their Influence on the Fate and Treatment of Pollutants*. In: Suffet IH, MacCarthy P. *Aquatic Humic Substances: Influences on Fate and Treatment of Pollutants*. Adv. Chem. Ser. 219, Denver, USA (1989), xvii.
- [16] Frimmel FH. *Einführung*. In: Frimmel FH, Abbt-Braun G. *Refraktäre organische Säuren in Gewässern*. VCH, Weinheim (1992), 1.
- [17] Ziechmann W. *Huminstoffe und ihre Wirkungen*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg (1996).
- [18] Fischer WR. *Definitionen, Abgrenzungen und experimentelle Engpässe*. In: Frimmel FH, Abbt-Braun G. *Refraktäre organische Säuren in Gewässern*. VCH, Weinheim (1992), 5.
- [19] Ziechmann W. *Huminstoffe: Probleme, Methoden, Ergebnisse*. Verlag Chemie, Weinheim (1980).
- [20] Zumstein J, Buffle J. *Circulation of pedogenic and aquagenic organic matter in an eutrophic lake*. Water Res. 23 (1989) 229.
- [21] Schachtschabel P, Blume H-P, Brümmer B, Hartge K-H, Schwertmann U. *Lehrbuch der Bodenkunde*. Ferdinand Enke Verlag, 13. Auflage (1992), 56.
- [22] Frimmel FH, Abbt-Braun G (Hrsg). *Refraktäre organische Säuren in Gewässern*. DFG-Senatskommission für Wasserforschung. DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim (1993) 1.
- [23] Abbt-Braun G. *Untersuchungen zur Struktur isolierter Huminstoffe. Allgemeine Charakterisierung und massenspektrometrische Bestimmungen*. Dissertation, TU München (1987) 13.
- [24] Autorenkollektiv. *Römpp Chemielexikon*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1989).
- [25] Swift R. *Fractionation of Soil Humic Substances*. In: Aiken GR, McKnight DM, Wershaw RL, MacCarthy P. *Humic Substances in Soil, Sediment and Water. Geochemistry, Isolation and Characterization*. John Wiley and Sons, New York (1985) 387-408.

- 
- [26] Kleinhempel D. Albrecht Thaer Arch. 14 (1970) 3-11.
- [27] McCarthy JF. *Bioavailability and Toxicity of Metals and Hydrophobic Organic Contaminants*. In: Suffet ICH, McCarthy P. *Aquatic Humic Substances, Influence on Fate and Treatment of Pollutants*. Am. Chem. Soc, Washington (1989) 263-280.
- [28] Michaelis W, Richnow HH, Seifert R. *Chemically Bound Chlorinated Aromatics in Humic Substances*. Naturwissenschaften 82 (1995) 139-142.
- [29] Richnow HH, Seifert R, Hefter J, Link M, Francke W, Schaefer G, Michaelis W. *Organic Pollutants Associated with Macromolecular Soil Organic Matter: Mode of Binding*. Org. Geochem. Vol. 26, Nos. 11-12 (1997) 745-758.
- [30] Richnow HH, Seifert R, Hefter J, Kästner M, Mahro B, Michaelis W. *Metabolites of Xenobiotica and Mineral Oil Constituents Linked to Macromolecular Organic Matter in Polluted Environments*. Org. Geochem. Vol. 22, No. 3-5 (1994) 671-681.
- [31] Richnow HH, Reidt C, Seifert R, Michaelis W. *Chemical Cross-linking of Xenobiotica and Mineral Oil Constituents to Humic Substances Derived from Polluted Environments*. In: Senesi N, Miano TM. *Humic Substances in the Global Environment and Implications on Human Health*. Elsevier, Amsterdam (1994).
- [32] Wang Z-D, Gamble DS, Langford CH. *Interaction of Atrazine with Laurentian Fulvic Acid: Binding and Hydrolysis*. Analytica Chimica Acta, 232 (1990) 181-188.
- [33] Klaus U, Oesterreich T, Volk M, Spiteller M. *Interaction of Aquatic Dissolved Organic Matter (DOM) with Amitrole: The Nature of the Bound Residues*. Acta Hydrochim. Hydrobiol. 26 (1998) 311-317.
- [34] Klaus U, Mohamed S, Volk M, Spiteller M. *Interaction of Aquatic Humic Substances with Anilazine and its Derivates: The Nature of the Bound Residues*. Chemosphere, Vol. 37, No. 2 (1998) 341-361.
- [35] Frimmel FH, Niedermann H. *Komplexierung von Metallionen durch Gewässerhuminstoffe. I. Ein Braunwassersee als Huminstofflieferant*. Z. Wasser Abwasser Forschung 13 (1980).
- [36] Tipping E. *Cation Binding by Humic Substances*. Cambridge University Press (2002).
- [37] Buffle J. *Complexation Reactions in Aquatic Systems: An Analytical Approach*. Ellis Horwood Limited, Chichester (1988).

- [38] Weber JH. *Binding and Transport of Metals by Humic Materials*. In: Frimmel FH, Christman RF (Hrsg). *Humic Substances and Their Role in the Environment*. John Wiley and Sons Limited (1988) 165-178.
- [39] Schmitt D. *Charakterisierung der Bindung von Metallionen an natürliche organische Substanzen und deren Auswirkungen auf Adsorption und Transport*. Dissertation, TH Karlsruhe (2002).
- [40] Burba P. *Zur Analytik von Huminstoffen und ihren Metallspezies in Gewässern*. In: *Analytiker Taschenbuch* Bd. 20, Springer Verlag, Berlin Heidelberg (1998).
- [41] Aster B. *Fraktionierung und Charakterisierung von aquatischen Huminstoffen und ihrer Metallspezies: Untersuchungen mittels Mehrstufen-Ultrafiltration, Metallaffinitäts-Chromatographie sowie Austauschreaktionen*. Dissertation, Universität Dortmund (1998).
- [42] Burba P, Rocha J, Klockow D. *Labile Complexes of Trace Metals in Aquatic Humic Substances: Investigations by means of an Ion Exchange-Based Flow Procedure*. *Fresenius J. Anal. Chem.* 349 (1994) 800-807.
- [43] Magi E. *Determination of Trace Metals Complexed with Humic Acids in Antarctic Marine Sediments*. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 9, 2 (1997) 67-70.
- [44] Buffle J, Staub Ch. *Measurement of Complexation Properties of Metal Ions in Natural Conditions by Ultrafiltration: Measurement of Equilibrium Constants for Complexation of Zinc by Synthetic and Natural Ligands*. *Anal. Chem.* 56 (1984) 2837-2842.
- [45] Grassi MT, Shi B, Allen HE. *Sorption of Copper by Suspended Particulate Matter*. *Colloids and Surfaces. A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 120 (1997) 199-203.
- [46] Carter RJ, Hoxey A, Verheyen TV. *Complexation Capacity of Sediment Humic Acids as a Function of Extraction Technique*. *The Science of the Total Environment*, 125 (1992) 25-31.
- [47] Sugimae A, Barnes RM. *Determination of Trace Elements in Suspended Particulate Matter by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry with Electrothermal Vaporization*. *Anal. Chem.* 58 (1986) 785-789.
- [48] Evans RD, Villeneuve JY. *A Method for Characterization of Humic and Fulvic Acids by Gel Electrophoresis Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*. *J Anal At Spectrom* 15 (2000) 157-161.
- [49] Senkýr J, Rocáková A, Fetsch D, Havel J. *The Acidobasic and Complexation Properties of Humic Acids*. *Toxicological and Environmental Chemistry* 68 (1999) 377-391.



- 
- [50] Herms U, Brümmer G. *Solubility and Retention of Heavy Metals in Soils*. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 147 (1984) 400.
- [51] Sanders JR, Bloomfield C. *The Influence of pH, Ionic Strength and Reactant Concentrations on Copper Complexing by Humified Organic Matter*. J. Soil Sci. 31 (1980) 53.
- [52] Schnitzer M, Khan SU. *Soil Organic Matter*. Elsevier, Amsterdam (1978).
- [53] Fischer WR. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 149 (1986) 120-129.
- [54] Blaser P, Sposito G. Soil Sci. Soc. Am. J. 51 (1987) 612-619.
- [55] Stevenson FJ, Ardakani MS. In: Mortvedt JJ et al. *Micronutrients in Agriculture*. Soil Sci. Soc. Am. Madison (Wisc.) (1973).
- [56] Pranzas PK. *Charakterisierung von Struktur und Koagulationsverhalten von Refraktären Organischen Säuren (ROS) mit Hilfe von Neutronenkleinwinkelstreuung (SANS), Röntgenkleinwinkelstreuung (SAXS) und Röntgenmikroskopie*. Dissertation, Universität Hamburg (1999).
- [57] Malcolm RL. *Geochemistry of stream fulvic and humic substances*. In: Aiken GR, McKnight DM, Wershaw RL, MacCarthy P (Hrsg). *Humic substances in soil, sediment and water*. Wiley, New York (1985) 181.
- [58] Mantoura RFC, Riley JP. *The analytical concentration of humic substances from natural waters*. Anal. Chim. Acta 76 (1975) 97.
- [59] Abbt-Braun G, Frimmel FH, Lipp P. Isolation of organic substances from aquatic and terrestrial systems – Comparison of some methods. Z. Wasser-Abwasser-Forsch. 24 (1991) 285-292.
- [60] Aiken GR. *Isolation and concentration technique for aquatic humic substances*. In: Aiken GR, McKnight DM, Wershaw RL, MacCarthy P. *Humic Substances in Soil, Sediment and Water*. Wiley, New York (1985), 363-385.
- [61] Peuravuori J, Pihlaja K. *Isolation and Fractionation of Humic Substances in Lake Waters*. In: Allard B, Borén H, Grimvall A. (Hrsg). *Humic Substances in the Aquatic and Terrestrial Environment*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg (1991) 123.
- [62] Hiraide M, Miwa T, Iwata Y, Kawaguchi H. *Sorption on Diethylaminoethyl-Sephadex A-25 for the Measurement of Electrochemical Lability of Metal-Humic Complexes in Water*. Analytical Sciences, 7, December (1991) 951-953.

- [63] Senesi N, Miano TM, Brunetti G. *Methods and related problems for sampling soil and sediment organic matter. Extraction, fractionation and purification of humic substances.* Química Analítica 13 [Suppl 1] (1994) 26-33.
- [64] Magi E, Giusto T, Frache R. *Humic Acids in Marine Sediments: an Extraction Procedure for the Determination of the Complexed Metals.* Analytical Proceedings Including Analytical Communications. 32, July (1995) 267-269.
- [65] Belzile N, Joly HA, Li H. *Characterization of humic substances extracted from Canadian lake sediments.* Can. J. Chem. 75 (1997) 14-27.
- [66] Pinheiro Dick D, Burba P. *Extraction Kinetics and Molecular Size Fractionation of Humic Substances from two Brazilian Soils.* J. Braz. Chem. Soc., Vol 10, No. 2 (1999) 146-152.
- [67] Pinheiro Dick D, Burba P, Herzog H. *Influence of Extractant and Soil Type on Molecular Characteristics of Humic Substances from two Brazilian Soils.* J. Braz. Chem. Soc., Vol 10, No. 2 (1999) 140-145.
- [68] International Humic Substance Society (IHSS). Standards and Reference Committee. Denver, Colorado (1981).
- [69] Frimmel FH. *Der Einsatz physikalischer Trennmethode und ableitbare Aussagen.* In: DFG-Senatskommission für Wasserforschung, Frimmel FH, Abbt-Braun G. *Refraktäre organische Säuren in Gewässern.* DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft, VCH-Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim (1993) 13.
- [70] Thurman EM, Malcolm RL. *Preparative isolation of aquatic humic substances.* Environ. Sci. Technol. 15 (1981) 463-466.
- [71] Aiken GR, Thurman EM, Malcolm RL. *Comparison of XAD macroporous resins for the concentration of fulvic acids from aqueous solution.* Anal. Chem. 51 (1979) 1799.
- [72] Malcolm RL, Aiken GR, Bowles EC, Malcolm JD. *Isolation of Suwannee River Fulvic and Humic Acids.* In: Averett RC, Leenheer JA, McKnight DM, Thorn KA (Hrsg). *Humic Substances in the Suwannee River, Georgia: Interactions, Properties and Proposed Structures.* U.S: Geological Survey (1989) 27.
- [73] Malcolm RL. *Factors to be considered in the isolation and characterization of aquatic humic substances.* In: Allard B, Borén H, Grimmvall A (Hrsg). *Humic substances in the aquatic and terrestrial environment.* Springer, Berlin (1991) 9.

- 
- [74] Frimmel FH. *Characterization of Organic Acids in Freshwater: A Current Status and Limitations*. In: Perdue EM, Gjessing ET. *Organic Acids in Aquatic Ecosystems*. John Wiley and Sons Ltd, New York (1990), 5-23.
- [75] Buffle J, Deladoey P, Haerdi W. *The Use of Ultrafiltration for the Separation and Fractionation of Organic Ligands in Fresh Waters*. *Anal. Chim. Acta*, 101 (1978) 339-357.
- [76] Spiteller M. *Isolation and Characterization of Dissolved Organic Carbon from Natural and Lysimeter Waters by Ultrafiltration*. *The Science of the Total Environment*, 62 (1987) 47-54.
- [77] Millipore. *Katalog für pharmazeutische und biotechnologische Separationstechnik*. (1999).
- [78] Frimmel FH, Gorenflo A. *Aufbereitung wässriger Lösungen durch Membranverfahren*. Engler-Bunte-Institut Bereich Wasserchemie, Universität Karlsruhe (2002).
- [79] Flaig W. *Chemische Untersuchung von Huminstoffen*. *Z. Chem.*, 4, 253-265, 1964.
- [80] Eller W, Koch K. *Synthetische Darstellung von Huminsäuren*, *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 53, 1469-1476, 1920.
- [81] Erdtman H, Granath M. *Studies of humic acids V. The reaction of p-benzochinone with alkali*. *Acta Chemica Scand.* 8 (1954) 811-816.
- [82] Herdering W, Knöchel A, Miller F, Pranzas K. *Synthesis of model substances for metal specification in ROS-material*. In: Frimmel FH, Abbt-Braun G. *Symposium on refractory organic substances in the environment – ROSE: Abstracts of oral and poster papers*. Veröffentlichungen des Lehrstuhls für Wasserchemie und der DVGW-Forschungsstelle am Engler-Bunte-Institut der Universität Karlsruhe (1997) 115-117.
- [83] Herdering W, Grunwald N, Knöchel A. *Synthetische Huminstoffmodelle mit variablen Stickstoff-, Schwefel- und Carboxylgruppen-Gehalten*. In: Tagungsband der Wasserchemischen Gesellschaft, Fachgruppe der Gesellschaft Deutscher Chemiker, Jahrestagung vom 17. bis 19. Mai in Bad Saarow (2004) 170-171.
- [84] Grunwald N. *Synthese und Charakterisierung von Huminstoffmodellen mit unterschiedlichen Carboxylat- und Phenolatgruppengehalten auf Basis von p-Benzochinon*. Diplomarbeit, Universität Hamburg, Arbeitsgruppe Prof. Dr. A. Knöchel, 2001.

- [85] Tambo Y. *Validierung eines Enzymimmunoassays und Entwicklung von Standardmaterialien für die Analytik freier und gebundener Triazinrückstände*. Dissertation, Universität Hamburg (2002).
- [86] Schwedt G. *Analytische Chemie. Grundlagen, Methoden und Praxis*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1995).
- [87] Skoog DA, Leary JJ. *Instrumentelle Analytik. Grundlagen-Geräte-Anwendungen*. Springer, Berlin (1996).
- [88] Cammann K (Hrsg). *Instrumentelle Analytische Chemie. Verfahren, Anwendungen, Qualitätssicherung*. Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg (2001).
- [89] Abbt-Braun G, Frimmel FH. *Basic Characterization of Norwegian NOM Samples – Similarities and Differences*. Environment International. Vol. 25, No. 2/3 (1999) 161-180.
- [90] Frimmel FH, Abbt-Braun G. *Basic Characterization of Reference NOM from Central Europe – Similarities and Differences*. Environment International. Vol. 25, No. 2/3 (1999) 191-207.
- [91] Frimmel FH. *Characterization of Organic Acids in Freshwater: A Current Status and Limitations*. In: Perdue EM, Gjessing ET (Hrsg). *Organic Acids in Aquatic Ecosystems*. John Wiley and Sons Ltd. S. Bernhard, Dahlem Konferenzen (1990) 5-23.
- [92] Artinger R, Buckau G, Geyer S, Fritz P, Wolf M, Kim JI. *Characterization of Groundwater Humic Substances: Influence of Sedimentary Organic Carbon*. Applied Geochemistry. 15 (2000) 97-116.
- [93] Buffle J, Deladoey P, Zumstein J, Haerdi W. *Analysis and Characterization of Natural Organic Matter in Freshwaters. I. Study of Analytical Techniques*. Schweiz. Z. Hydrol. 44/2 (1982) 325-362.
- [94] Knöchel A, Pranzas K, Stuhmann H, Willumeit R. *Structural Analysis of Refractory Organic Substances by Small-Angle Neutron Scattering*. Physica B, 234-236 (1997) 292-294.
- [95] Abbt-Braun G, Schmiedel U, Frimmel FH. *Elementaranalytische Untersuchungen isolierter Fulvinsäuren unterschiedlichen Ursprungs*. Vom Wasser 75 (1990) 59-73.
- [96] Abbt-Braun G. *Spectroscopic Characterization of Humic Substances in the Ultraviolet and Visible Region and by Infrared Spectroscopy*. In: Matthes G, Frimmel F, Hirsch P, Schulz HD, Usdowski H-E (Hrsg). *Progress in Hydrogeochemistry*. Springer Verlag, Berlin (1992) 29-36.

- 
- [97] Swift RS. *Organic Matter Characterization*. In: Sparks DL, et al. (Hrsg). *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*. Soil Science Society of America, Inc. American Society of Agronomy, Inc. Wadison, Wisconsin (1996).
- [98] MacCarthy P, Rice JA. *Spectroscopic Methods (Other than NMR) for Determining Functionality in Humic Substances*. In: Aiken GR, McKnight DM, Wershaw RL, MacCarthy P. *Humic Substances in Soil, Sediment and Water. Geochemistry, Isolation and Characterization*. John Wiley and Sons, New York (1985) 527-560.
- [99] Bloom PR, Leenheer JA. *Vibrational, Electronic and High-Energy Spectroscopic Methods for Characterizing Humic Substances*. In: Hayes MHB, MacCarthy P, Malcolm RL, Swift R (Hrsg). *Humic Substances II. In Search of Structure*. John Wiley and Sons, Chichester (1989) 409-448.
- [100] Frimmel FH, Abbt-Braun G. *Comparison of Aquatic Humic Substances of Different Origin*. In: Allard B, Borén H, Grimvall A. (Hrsg). *Humic Substances in the Aquatic and Terrestrial Environment*. Springer-Verlag, Berlin (1991) 37-46.
- [101] Johnston CT, Aochi YO. *Fourier Transform Infrared and Raman Spectroscopy*. In: Sparks DL, et al. (Hrsg). *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*. Soil Science Society of America, Inc. American Society of Agronomy, Inc. Wadison, Wisconsin (1996).
- [102] Havers N, Burba P, Lambert J, Klockow D. *Spectroscopic Characterization of Humic-Like Substances in Airborne Particulate Matter*. *Journal of Atmospheric Chemistry*. 29 (1998) 45-54.
- [103] Hesse M, Meier H, Zeeh B. *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 6. Auflage (2002).
- [104] Günzler H, Heise HM. *IR-Spektroskopie. Eine Einführung*. Verlag Chemie, Weinheim (1996).
- [105] Haiber S. *Quantifizierung von Partialstrukturen in Erdölen und aquatischen Huminstoffen durch  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie*. Dissertation, Dortmund (1998).
- [106] Wershaw RL. *Application of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy for Determining Functionality in Humic Substances*. In: Aiken GR, McKnight DM, Wershaw RL, MacCarthy P. *Humic Substances in Soil, Sediment and Water*. John Wiley and Sons, New York (1985) 561-582.
- [107] Shkinev V, Fedorova OM, Spivakov B, Mattusch J, Wennrich R, Lohse M. *Anal. Chim. Acta*, 327 (1996) 167.

- [108] Vogl J, Heumann KG. *Fresenius J Anal Chem* 359 (1997) 438.
- [109] Prange A. *Totalreflexions-Röntgenfluoreszenz*. *Nachr. Chem. Tech. Lab.* 41 No. 1 (1993) 40-45.
- [110] Prange A, Schirmacher M. *Analysis by Total-Reflection X-Ray Fluorescence Spectrometry (TXRF)*. In: Grasshoff K, Kremling K, Ehrhardt M (Hrsg). *Methods of Seawater Analysis*. Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim (1999).
- [111] Post B, Klamberg H. *Characterization of Humic Substances Extracted by Organic Solvents*. In: Matthes G, Frimmel FH, Hirsch P, Schulz HS, Usdowski E (Hrsg). *Progress in Hydrogeochemistry*. Springer, Berlin (1992) 56-61.
- [112] Burba P, Shkinev V, Spivakov BY. *Fresenius J. Anal. Chem.* 351 (1995) 74.
- [113] Swift RS. *Molecular Weight, Shape and Size of Humic Substances by Ultracentrifugation*. In: Hayes MHB, MacCarthy P, Malcolm RL, Swift R (Hrsg). *Humic Substances II. In Search of Structure*. John Wiley and Sons, Chichester (1989) 476-496.
- [114] Frimmel FH. *Chromatographic Characterization of the Acid-Soluble Part of Humic Substances*. In: Matthes G, Frimmel FH, Hirsch P, Schulz HS, Usdowski E (Hrsg). *Progress in Hydrogeochemistry*. Springer, Berlin (1992) 24-28.
- [115] Klein T, Niessner R. *Mikrochim. Acta.* 129 (1998) 47.
- [116] Schmitt P, Kettrup A, Freitag D, Garrison AW. *Fresenius J. Anal. Chem.* 354 (1996) 915.
- [117] Havers N, Burba P, Klockow D, Klockow-Beck A. *Chromatographia* 47 (1998) 619.
- [118] Cornelis R, Caruso J, Crews H, Heumann K (Hrsg). *Handbook of Elemental Speciation. Techniques and Methodology*. Wiley, Chichester (2003).
- [119] Caruso JA, Sutton KL, Ackley KL (Hrsg). *Elemental Speciation. New Approaches for Trace Element Analysis*. In der Reihe: Barceló D (Hrsg). Wilson and Wilson's. *Comprehensive Analytical Chemistry. Volume XXXIII*. Elsevier, Amsterdam (2000).
- [120] Günther K, Weber G. *Elementspeziesanalytik: Ein Überblick*. In: Günzler H et al. (Hrsg). *Analytiker Taschenbuch 20*. Springer, Berlin (1999) 71-103.
- [121] Prange A. *Instrumentelle und chemische Verfahren zur Multielement- und Elementspezies-Analyse in aquatischen Umweltkompartimenten*. Habilitationsschrift. Universität Hamburg (1999).

- 
- [122] Prange A. *Moderne Methoden der Elementspezies Analyse in Umwelt- und Lebenswissenschaften. Skriptum.* Universität Hamburg (2001).
- [123] Szpunar J, Lobinski R, Prange A. *Hyphenated Techniques for Elemental Speciation in Biological Systems.* Applied Spectroscopy, Vol. 57, No. 3 (2003) 102-112.
- [124] Prange A. *Speziesanalyse mit gekoppelten Systemen: das Beispiel CE/ICP-MS.* Nachrichten aus der Chemie, 50/6 (2002) 728-732.
- [125] Prange A, Schaumlöffel D. *Hyphenated Techniques for the Characterization and Quantification of Metallothionein Isoforms.* Anal Bioanal Chem, 373 (2002) 441-453.
- [126] Buffle J, van Leeuwen HP (Hrsg). *Environmental Particles. Volume 1.* Environmental Analytical and Physical Chemistry Series. Lewis Publishers Inc. Chelsea, Michigan (1992).
- [127] Vanhaecke F, Köllensperger G. *Detection by ICP-Mass Spectrometry.* In: Cornelis R, Caruso J, Crews H, Heumann K (Hrsg). *Handbook of Elemental Speciation. Techniques and Methodology.* Wiley, Chichester (2003) 281-312.
- [128] Ackley KL, Sutton KL, Caruso JA. *The Use of ICP-MS as a Detector for Elemental Speciation Studies.* In: Caruso JA, Sutton KL, Ackley KL (Hrsg). *Elemental Speciation. New Approaches for Trace Element Analysis.* In der Reihe: Barceló D (Hrsg). Wilson and Wilson's. *Comprehensive Analytical Chemistry. Volume XXXIII.* Elsevier, Amsterdam (2000) 249-275.
- [129] Yamasaki S. *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry in Environmental Analysis.* In: Meyers RA (Hrsg). *Encyclopedia of Analytical Chemistry. Applications, Theorie and Instrumentation. Volume 3.* John Wiley and Sons, Ltd. Chichester, 2672-2692.
- [130] Burba P, Aster B, Ninfant'eva T, Shkinev V, Spivakov BYa. *Membrane Filtration Studies of Aquatic Humic Substances and Their Metal Species: A Concise Overview. Part 1. Analytical Fractionation by Means of Sequential-Stage Ultrafiltration.* Talanta 45 (1998) 977-988.
- [131] Ninfant'eva T, Shkinev V, Spivakov BYa, Burba P. *Membrane Filtration Studies of Aquatic Humic Substances and Their Metal Species: A Concise Overview. Part 2. Evaluation of Conditional Stability Constants by Using Ultrafiltration. Review.* Talanta 48 (1999) 257-267.
- [132] Van den Bergh J. *Vor-Ort-Charakterisierung von aquatischen Huminstoffen und ihren Metallspezies.* Dissertation, Dortmund (2001).
-

- [133] Burba P, Shkinev V, Spivakov BYa. *On-Line Fractionation and Characterization of Aquatic Humic Substances by Means of Sequential-Stage Ultrafiltration*. *Fresenius J Anal Chem* 351 (1995) 74-82.
- [134] Burba P, Geckeler KE, Mattusch J, Wenrich R, Spivakov BYa, Shkinev VM. *On-Line Multi-Stage Membrane Filtration Devices Optimized for Analytical Separation of Microparticles and Dissolved Macromolecules*. *International Labmate* 22, Oct (1997) 24-25.
- [135] Aster B, Burba P, Broekaert JAC. *Analytical Fractionation of Aquatic Humic Substances and Their Metal Species by Means of Multistage Ultrafiltration*. *Fresenius J Anal Chem* 354 (1996) 722-728.
- [136] Nifant'eva TI, Burba P, Fedorova O, Shkinev VM, Spivakov BYa. *Ultrafiltration and Determination of Zn- and Cu-Humic Substances Complexes Stability Constants*. *Talanta* 53 (2001) 1127-1131.
- [137] Aster B, Bohlen Av, Burba, P. *Determination of Metals and Their Spezies in Aquatic Humic Substances by Using Total-Reflection X-Ray Fluorescence Spectrometry*. *Spectrochimica Acta Part B* 52 (1997) 1009-1018.
- [138] Ackley KL, Caruso JA. *Separation Techniques. Liquid Chromatography*. In: Cornelis R, Caruso J, Crews H, Heumann K (Hrsg). *Handbook of Elemental Speciation. Techniques and Methodology*. Wiley, Chichester (2003) 147-162.
- [139] Blanco González E, Sanz-Medel A. *Liquid Chromatographic Techniques for Trace Element Speciation Analysis*. In: Caruso JA, Sutton KL, Ackley KL (Hrsg). *Elemental Speciation. New Approaches for Trace Element Analysis*. In der Reihe: Barceló D (Hrsg). Wilson and Wilson's. *Comprehensive Analytical Chemistry. Volume XXXIII*. Elsevier, Amsterdam (2000) 81-121.
- [140] Klein J, Kulicke W-M, Hollmann J. *Chromatographie zur Bestimmung der Molmassen- und Teilchengrößenverteilung von Polymeren*. In: Günzler H et al. (Hrsg). *Analytiker Taschenbuch 19*. Springer, Berlin (1998) 317-349.
- [141] Rottmann L, Heumann KG. *Determination of Heavy Metal Interactions with Dissolved Organic Materials in Natural Aquatic Systems by Coupling a High-Performance Liquid Chromatography System with an Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer*. *Anal. Chem.* 66 (1994) 3709-3715.
- [142] Rottmann L, Heumann KG. *Development of an On-Line Isotope Dilution Technique with HPLC/ICP-MS for the Accurate Determination of Elemental Species*. *Fresenius J Anal Chem* 350 (1994) 221-227.



- [143] Vogl J, Heumann KG. *Determination of Heavy Metal Komplexes with Humic Substances by HPLC/ICP-MS Coupling Using On-Line Isotope Dilution Technique*. Fresenius J Anal Chem 359 (1997) 438-441.
- [144] Marx G. *Elementspezifische Wechselwirkungen von aquatischen Huminstoffen*. Dissertation. Johannes Gutenberg Universität, Mainz (2000).
- [145] Ruiz-Haas P, Amarasiriwardena D, Xing B. *Determination of Trace Metals Bound to Soil Humic Acid Species by Size Exclusion Chromatography and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*. Humic Substances. Special Publ. 228 (1998) 147-163.
- [146] Bhandari SA, Amarasiriwardena D, Xing B. *Application of High Performance Size Exclusion Chromatography (HPSEC) with Detection by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) for the Study of Metal Complexation Properties of Soil Derived Humic Acid Molecular Fractions*. Humic Substances. Special Publ. 247 (1999) 203-221.
- [147] Schmitt D, Müller MB, Frimmel FH. *Metal Distribution in Different Size Fractions of Natural Organic Matter*. Acta Hydrochim. Hydrobiol. 28/7 (2000) 400-410.
- [148] Beckett R, Hart BT. *Use of Field-Flow-Fractionation Techniques to Characterize Aquatic Particles Colloids, and Macromolecules*. In: Buffle J, van Leeuwen HP (Hrsg). *Environmental Particles. Volume 2*. Environmental Analytical and Physical Chemistry Series. Lewis Publishers Inc. Chelsea, Michigan (1993) 165-206.
- [149] Buffle J, Leppard GG. *Characterization of Aquatic Colloids and Macromolecules. 2. Key Role of Physical Structures on Analytical Results*. Environ Sci Technol 29 (1995) 2176-2184.
- [150] Beckett R, Jue Z, Giddings JC. *Determination of Molecular Weight Distributions of Fulvic and Humic Acids Using Flow Field-Flow Fractionation*. Environ Sci Technol 21 (1987) 289-295.
- [151] Thang NM, Geckeis H, Kim JI, Beck HP. *Application of the Flow Field Flow Fractionation (FFFF) to the Characterization of Aquatic Humic Colloids: Evaluation and Optimization of the Method*. Coloids and Surfaces. A: Physicochemical and Engineering Aspects 181 (2001) 289-301.
- [152] Kammer Fvd, Förstner U. *Natural Colloid Characterization Using Flow-Field-Flow-Fractionation Followed by Multi-Detector Analysis*. Wat Sci Tech 37, 6-7 (1998) 173-180.
- [153] Schimpf ME, Petteys MP. *Characterization of Humic Materials by Flow Field-Flow Fractionation*. Coloids and Surfaces. A: Physicochemical and Engineering Aspects 120 (1997) 87-100.

- [154] Dycus PJM, Healy KD, Stearman GK, Wells MJM. *Diffusion Coefficients and Molecular Weight Distributions of Humic and Fulvic Acids Determined by Flow Field-Flow Fractionation*. Separation Science and Technology 30, 7-9 (1995) 1435-1453.
- [155] Amarasiriwardena D, Siripinyanond A, Barnes RM. *Flow Field-Flow Fractionation-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (Flow-FFF-ICP-MS): A Versatile Approach for Characterization of Trace Metals Complexed to Soil-Derived Humic Acids*. Humic Substances 259 (2000) 215-226.
- [156] Siripinyanond A, Barnes RM. *Flow Field-Flow Fractionation-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry and Metal Speciation in Proteins: A Feasibility Study*. J Anal At Spectrom 14 (1999) 1527-1531.
- [157] Contado C, Blo G, Fagioli F, Dondi F, Beckett R. *Characterization of River Po Particles by Sedimentation Field-Flow Fractionation Coupled to GFAAS and ICP-MS*. Colloids and Surfaces. A: Physicochemical and Engineering Aspects 120 (1997) 47-59.
- [158] Murphy DM, Garbarino JR, Taylor HE, Hart BT, Beckett R. *Determination of Size and Element Composition Distributions of Complex Colloids by Sedimentation Field-Flow Fractionation-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*. Journal of Chromatography 642 (1993) 459-467.
- [159] Engelhardt H, Beck W, Kohr J, Schmitt T. *Kapillarelektrophorese: Methoden und Möglichkeiten*. Angew Chem 105, 5 (1993) 659-679.
- [160] Engelhardt H, Beck W, Schmitt T. *Kapillarelektrophorese. Methoden und Möglichkeiten*. Vieweg, Braunschweig (1994).
- [161] St. Claire, RL. *Capillary Electrophoresis. Review*. Anal Chem 68 (1996) 569R-586R.
- [162] Heiger D. *High Performance Capillary Electrophoresis. An Introduction*. Handbuch der Fa. Agilent Technologies (2000).
- [163] Padaruskas A. *Kapillarelektrophorese in der Anorganischen Analytik*. In: Günzler H et al. (Hrsg). *Analytiker Taschenbuch 19*. Springer, Berlin (1998) 263-316.
- [164] Siles BA. *Capillary Electrophoresis*. In: Meyers RA (Hrsg). *Encyclopedia of Analytical Chemistry. Applications, Theorie and Instrumentation. Volume 13*. John Wiley and Sons, Ltd. Chichester, 11278- 11316.
- [165] Kim Y. *Inorganic Analysis in Environmental Samples by Capillary Electrophoresis*. In: Meyers RA (Hrsg). *Encyclopedia of Analytical Chemistry. Applications, Theorie and Instrumentation. Volume 3*. John Wiley and Sons, Ltd. Chichester, 2739-2760.

- 
- [166] García-Ruiz C, Crego AL, Marina ML. *Organic Analysis in Environmental Samples by Capillary Electrophoresis*. In: Meyers RA (Hrsg). *Encyclopedia of Analytical Chemistry. Applications, Theorie and Instrumentation. Volume 4*. John Wiley and Sons, Ltd. Chichester, 3002-3035.
- [167] Dunkel R, Rüttinger HH, Peisker K. *Comparative Study for the Separation of Aquatic Humic Substances by Electrophoresis*. *Journal of Chromatography A* 777 (1997) 355-362.
- [168] Dunkel R. *Einsatz elektrophoretischer Techniken zur Charakterisierung aquatischer Huminstoffe*. Dissertation, Halle-Wittenberg (1998).
- [169] Garrison AW, Schmitt P, Kettrup A. *Capillary Electrophoresis for the Characterization of Humic Substances*. *Wat Res* 29, 9 (1995) 2149-2159.
- [170] Schmitt-Kopplin Ph, Freitag D, Kettrup A. *Einsatz von kapillarelektrophoretischen Methoden in der Pestizid- und Huminstoff-Analytik*. *GSF-Bericht* 25, 97 (1997) 82-100.
- [171] Schmitt Ph, Garrison AW, Freitag D, Kettrup A. *Capillary Isoelectric Focussing (CIEF) for the Characterization of Humic Substances*. *Wat Res* 31, 8 (1997) 2037-2049.
- [172] Schmitt-Kopplin Ph, Hertkorn N, Garrison AW, Freitag D, Kettrup A. *Influence of Borate Buffers on the Electrophoretic Behaviour of Humic Substances in Capillary Zone Electrophoresis*. *Anal Chem* 70 (1998) 3798-3808.
- [173] Schmitt-Kopplin Ph, Garrison AW, Perdue EM, Freitag D, Kettrup A. *Capillary Electrophoresis in the Analysis of Humic Substances. Facts and Artifacts*. *Journal of Chromatography A* 807 (1998) 101-109.
- [174] Schmitt-Kopplin Ph, Freitag D, Kettrup A, Schoen U, Egeberg PK. *Capillary Zone Electrophoretic Studies on Norwegian Surface Water Natural Organic Matter*. *Environment International* 25, 2/3 (1999) 259-274.
- [175] Schmitt-Kopplin Ph, Garmash AV, Kudryavtsev AV, Menzinger F, Perminova IV, Hertkorn N, Freitag D, Petrosyan VS, Kettrup A. *Quantitative and Qualitative Precision Improvements by Effective Mobility-Scale Data Transformation in Capillary Electrophoresis Analysis*. *Electrophoresis* 22 (2001) 77-87.
- [176] Fetsch D, Albrecht-Gary AM, Pena-Méndez EM, Havel J. *Capillary Zone Electrophoresis and Other Separation Methods for Humic Substances Study. A Review*. *Scripta Fac Sci Nat Univ Masaryk Brun Chemistry* 27-28 (1997-1998) 3-26.

- [177] Fetsch D, Hradilová M, Pena-Méndez EM, Havel J. *Capillary Zone Electrophoresis Study of Aggregation of Humic Substances*. Journal of Chromatography A 817 (1998) 313-323.
- [178] Rigol A, Vidal M, Rauret G. *Ultrafiltration-Capillary Zone Electrophoresis for the Determination of Humic Acid Fractions*. Journal of Chromatography A 807 (1998) 275-284.
- [179] Egeberg PK, Bergli SO. *Fingerprinting of Natural Organic Matter by Capillary Zone Electrophoresis Using Organic Modifiers and Pattern Recognition Analysis*. Journal of Chromatography A 950 (2002) 221-231.
- [180] Pompe S, Heise KH, Nitsche H. *Capillary Electrophoresis for a „Finger-Print“ Characterization of Fulvic and Humic Acids*. Journal of Chromatography A 723 (1996) 215-218.
- [181] De Nobili M, Bragato G, Mori A. *Combined Effects of Molecular Size and Electroosmotic Flow on the Capillary Electrophoretic Behaviour of Humic Substances*. Acta Hydrochim Hydrobiol 26, 3 (1998) 186-190.
- [182] De Nobili M, Bragato G, Mori A. *Capillary Electrophoretic Behaviour of Humic Substances in Physical Gels*. Journal of Chromatography A 863 (1999) 195-204.
- [183] Landgraf MD, De CássiaAlonso Javaroni R, De Oliveira Rezende MO. *Characterization of Humic Substances by Capillary Electrophoresis*. J Cap Elec 005, 5/6 (1998) 193-199.
- [184] Trubetskoy OA, Trubetskaya OE, Afanas'eva GV, Reznikova OI, Saiz-Jimenez C. *Polyacrylamide Gel Electrophoresis of Soil Humic Acid Fractionated by Size-Exclusion Chromatography and Ultrafiltration*. Journal of Chromatography A 767 (1997) 285-292.
- [185] Hosse M, Wilkinson KJ. *Determination of Electrophoretic Mobilities and Hydrodynamic Radii of Three Humic Substances as a Function of pH and Ionic Strength*.
- [186] Keuth U, Leinenbach A, Beck HP, Wagner H. *Separation and Charakterization of Humic Acids and Metal Humates by Electrophoretic Methods*. Electrophoresis 19 (1998) 1091-1096.
- [187] Nordén M, Dabek-Zlotorzynska E. *Study of Metal-Fulvic Acid Interactions by Capillary Electrophoresis*. Journal of Chromatography A 739 (1996) 421-429.
- [188] Schmitt P, Kettrup A, Freitag D, Garrison AW. *Flocculation of Humic Substances with Metal Ions as Followed by Capillary Zone Electrophoresis*. Fresenius J Anal Chem 354 (1996) 915-920.

- 
- [189] Fetsch D, Fetsch M, Peña Méndez EM, Havel J. *Humic Acid Capillary Zone Electrophoresis Adsorption on Capillary Walls, Separation in Metal Ion Supplemented Buffer and the Fingerprints*. *Electrophoresis* 19 (1998) 2465-2473.
- [190] Lubal P, Siroký D, Fetsch D, Havel J. *The Acidobasic and Complexation Properties of Humic Acids. Study of Complexation of Czech Humic Acids with Metal Ions*. *Talanta* 47 (1998) 401-412.
- [191] Vogt C, Klunder GL. *Separation of Metal Ions by Capillary Electrophoresis – Diversity, Advantages, and Drawbacks of Detection Methods*. *Fresenius J Anal Chem* 370 (2001) 316-331.
- [192] Michalke B. *Capillary Electrophoresis in Speciation Analysis*. In: Cornelis R, Caruso J, Crews H, Heumann K (Hrsg). *Handbook of Elemental Speciation. Techniques and Methodology*. Wiley, Chichester (2003) 201-223.
- [193] Olesik JW. *Capillary Electrophoresis for Elemental Speciation Studies*. In: Caruso JA, Sutton KL, Ackley KL (Hrsg). *Elemental Speciation. New Approaches for Trace Element Analysis*. In der Reihe: Barceló D (Hrsg). Wilson and Wilson's. *Comprehensive Analytical Chemistry. Volume XXXIII*. Elsevier, Amsterdam (2000) 151-211.
- [194] Barnes R. *Capillary Electrophoresis and Inductively Coupled Plasma Spectrometry: Status Report*. *Fresenius J Anal Chem* 361 (1998) 246-251.
- [195] Dabek-Zlotorzynska E, Lai EPC, Timerbaev AR. *Capillary Electrophoresis: The State-Of-The-Art in Metal Speciation Studies. Review*. *Analytica Chimica Acta* 359 (1998) 1-26.
- [196] Wang X. *Capillary Electrophoresis Coupled to Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry for Elemental Speciation Analysis*. In: Meyers RA (Hrsg). *Encyclopedia of Analytical Chemistry. Applications, Theorie and Instrumentation. Volume 3*. John Wiley and Sons, Ltd. Chichester, 2318-2333.
- [197] Wang Z, Prange A. *Use of Surface-Modified Capillaries in the Separation and Characterization of Metallothionein Isoforms by Capillary Electrophoresis Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*. *Anal Chem* 74, 3 (2002) 626-631.
- [198] Schaumlöffel D, Prange A, Marx G, Heumann KG, Brätter P. *Characterization and Quantification of Metallothionein Isoforms by Capillary Electrophoresis-Inductively Coupled Plasma-Isotope-Dilution Mass Spectrometry*. *Anal Bioanal Chem* 372 (2002) 155-163.

- [199] Wolf Ch, Schaumlöffel D, Richarz A-N, Prange A, Brätter P. *CZE-ICP-MS Separation of Metallothioneins in Human Brain Cytosols: Comparability of Electropherograms Obtained from Different Sample Matrices*. Analyst 128 (2003) 576-580.
- [200] Schaumlöffel D, Prange A. *A New Interface for Combining Capillary Electrophoresis with Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry*. Fresenius J Anal Chem 364 (1999) 452-456.
- [201] Prange A, Schaumlöffel D. *Determination of Element Species at Trace Levels Using Capillary Electrophoresis-Inductively Coupled Plasma Sector Field Mass Spectrometry*. J Anal At Spectrom 14 (1999) 1329-1332.
- [202] Prange A, Schaumlöffel D, Brätter P, Richarz A-N, Wolf C. *Species Analysis of Metallothionein Isoforms in Human Brain Cytosols by Use of Capillary Electrophoresis Hyphenated to Inductively Coupled Plasma-Sector Field Mass Spectrometry*. Fresenius J Anal Chem 371 (2001) 764-774.
- [203] Pröfrock D, Prange A, Schaumlöffel D, Ruck W. *Optimization of Capillary Electrophoresis-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry for Species Analysis of Metallothionein-Like Proteins Extracted from Liver Tissues of Elbe-Bream and Roe Deer*. Spectrochimica Acta Part B 58 (2003) 1403-1415.
- [204] Pröfrock D, Leonhard P, Prange A. *Determination of Phosphorus in Phosphorylated Desoxyribonucleotides Using Capillary Electrophoresis and High Performance Liquid Chromatography Hyphenated to Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry with an Octopole Reaction Cell*. J Anal At Spectrom 18 (2003) 708-713.
- [205] Brookins DG. *Eh-pH Diagrams for Geochemistry*. Springer Verlag, Berlin (1988).
- [206] Miller F. *Elektrochemische Charakterisierung von Gewässerinhaltsstoffen*. Dissertation, Universität Hamburg (2005).
- [207] Kinzel, T. *Untersuchungen zur Belastungssituation und zu Bindungsformen von Schadelementen in industriell geprägten Fließgewässern*. Dissertation, Universität Hamburg (2004).
- [208] Doerffel K. *Statistik in der analytischen Chemie*. Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig (1990).
- [209] Gottwald W. *Statistik für Anwender*. Wiley-VCH, Weinheim (2000).
- [210] Meyer A-K. *Die Belastung der Oder. Ergebnisse des Internationalen Oderprojekts (IOP)*. Erstellt im Auftrag des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF), Universität Hamburg (2002).

- [211] Pickhardt C, Zoriy M, Becker JS, Becker Jsu, Przybylski M. *Metallomics und Phosphoproteomics an 2D-Gelen. Die Kombination zweier massenspektrometrischer Verfahren, LA-ICP-MS und Maldi-FT-ICR-MS, ermöglicht die quantitative Elementanalyse von Proteinen*. Nachrichten aus der Chemie, 53, 1 (2005) 31-33.
- [212] Christensen JB, Botma JJ, Christensen TH. *Complexation of Cu and Pb by DOC in Polluted Groundwater: A Comparison of Experimental Data and Predictions by Computer Speciation Models (WHAM and MINTEQA2)*. Wat Res 33, 15 (1999) 3231-3238.
- [213] Christensen JB, Jensen DL, Christensen TH. *Effect of Dissolved Organic Carbon on the mobility of Cadmium, Nickel and Zinc in LeachatePolluted Groundwater*. Wat Res 30, 12 (1996) 3037-3049.
- [214] Frimmel FH. *Interaction of Inorganics with Humic Substances. Investigation of Metal Complexation by Polarography and Fluorescence Spectroscopy*. In: Matthess G, Frimmel FH, Hirsch P, Schulz HD, Usdowski E (Hrsg). *Progress in Hydrogeochemistry*. Springer-Verlag, Berlin (1992) 61-65.
- [215] Mahoney PP, Gutzowski JP, Ray SJ, Hieftje GM. *Electrospray Ionisation Time-of-Flight Mass Spectrometer for Elemental Analysis*. Applied Spectroscopy, 51, 10 (1997) 1464-1470.
- [216] These A, Winkler M, Thomas Ch, Reemtsma Th. *Determination of Molecular Formulas and Structural Regularities of Low Molecular Weight Fulvic Acids by Size-Exclusion Chromatography with Electrospray Ionisation Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry*. Rapid Commun Mass Spectrom 18 (2004) 1777-1786.
- [217] Mahoney PP, Ray SJ, Hieftje GM. *Time-of-Flight Mass Spectrometry for Elemental Analysis*.
- [218] Costa-Fernandez JM, Bings NH, Leach AM, Hieftje GM. *Rapid Simultaneous Multielemental Speciation by Capillary Electrophoresis Coupled to Inductively Coupled Plasma Time-of-Flight Mass Spectrometry*. J Anal At Spectrom, 15 (2000) 1063-1067.
- [219] Leach AM, Heisterkamp M, Adams FC, Hieftje GM. *Gas Chromatography - Inductively Coupled Plasma Time-of-Flight Mass Spectrometry for the Speciation Analysis of Organometallic Compounds*. J Anal At Spectrom, 15 (2000) 151-155.
- [220] *Verordnung zur Novellierung der Gefahrstoffverordnung, zur Aufhebung der Gefährlichkeitsmerkmaleverordnung und zur Änderung der Ersten Verordnung zum Sprengstoffgesetz*. Bundesgesetzblatt, Teil 1 (1993) 1762.

- [221] Hörath H. *Gefährliche Stoffe und Zubereitungen*. 5. Aufl. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart (1997).
- [222] Merck Eurolab GmbH. *Der Laborkatalog Merck*. (2000).
- [223] Sigma-Aldrich Chemie GmbH. *Fluka laboratory chemicals*. (2001/2002).
- [224] Welzbacher U. *Neue Datenblätter für gefährliche Arbeitsstoffe nach der Gefahrstoffverordnung*. WEKA-Fachverlag für technische Führungskräfte (1994).
- [225] Sorbe G. *Sicherheitstechnische Kenndaten, Gefahrenindex chemischer Stoffe*. 44. Ergänzungslieferung 3/95, ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg (1995).
- [226] Kühn, Birett. *Merkblätter Gefährlicher Arbeitsstoffe*. 107. Ergänzungslieferung 5/98, ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg (1998).
- [227] Millipore Process Systems Division. *Pellicon Acrylic Holders Assemblies and Systems. Operating and Assembly Instructions*. P17508, Katalog der Fa. Millipore (ohne Jahresangabe).



---

## Wissenschaftliche Publikationen

### Veröffentlichungen:

- Abbadi S, Anders B, Behrens K, Cichon M, Clausen B, Eifler D, Kinzel T, Knöchel A, Meyer A-K, Miller F, Runge B, Staub S, Tambo Y. *The Behaviour of Heavy Metals, Organometallic Compounds as well as Humic Fractions of the Odra System – IOP-TP 5 Huminstoffe (BMBF WT 97093) Jahresbericht 1999*. In: Meyer A-K (Ed). *The International Odra Project (IOP) – Annual Report 1999 (3<sup>rd</sup> Interim Report)*, Eigenverlag der Universität Hamburg (2000).
  - Attenkofer K, Cichon M, Eifler D, Huwe H, Kinzel T, Knöchel A, Welter E. *Characterisation of Arsenic in Sediments of the Saxonian Erzgebirge by EXAFS and NEXAFS*. Abstract, HASYLAB Annual Report, Hamburg (2001).
  - Abbadi S, Anders B, Behrens K, Cichon M, Clausen B, Eifler D, Feuerborn J, Herdering W, Kinzel T, Knöchel A, Kristandt U, Meyer A-K, Miller F, Potgeter H, Runge B, Staub S, Tambo Y, Taraschewski N. *Verhalten von Schwermetallen und Organometallverbindungen in Schwebstoffen, Sedimenten, Biofilmen und Huminfractionen des Odersystems*. Schlussbericht im Auftrag des BMBF zum Teilprojekt 5 (02-WT 9709) des Internationalen Oderprojekt. Eigenverlag der Universität Hamburg, ISBN 3-924330-55-7 (2001).
  - Cichon M, Eifler D, Feuerborn J, Kinzel T, Knöchel A, Welter E. *Characterisation of Arsenic and Iron in Sediments of the Saxonian Erzgebirge and the Mulde River by EXAFS and NEXAFS*. Abstract, HASYLAB Annual Report, Hamburg (2002).
  - Beuge P, Klemm W, Degner T, Scheel M, Baacke D, Calmano W, Zoumis T, de Arevalo AM, Knöchel A, Cichon M, Eifler D, Feuerborn J, Kinzel T, Meyer A-K, Miller F, Staub S. *Entwicklung geochemischer Methoden zur naturnahen Schadstoffdemobilisierung im Muldesystem*. Abschlussbericht im Auftrag des BMBF zu den Projekten (02-WT 9640/4, 02-WT 9641/7, 02-WT 9642/0, 02-WT 0038). Eigenverlag TU Hamburg-Harburg (2002).
  - García C, Reichardt D. *Las vanguardias literarias en Argentina, Uruguay y Paraguay. Bibliografía y antología crítica*. Con la colaboración de Dirk Eifler, Eva Grottko, Doris Wansch. Vervuert, Iberoamericana, Frankfurt am Main, Madrid (2004).
-

---

### Poster/Abstracts:

- Behrens K, Clausen B, Eifler D, Kinzel T, Knöchel A, Meyer A-K, Protasowicki M, Niedzwiecki E. *The Pollution of Lower Odra with Heavy Metals*. Fifth International Symposium and Exhibition of Environmental Contamination in Central and Eastern Europe, Prag, Tschechien, September (2000).
- Eifler D, Bonsack S, Kinzel T, Knöchel A, Meyer A-K, Prange A, Präfröck D, Schaumlöffel D. *Characterization of Humic Substances from the Odra River by Use of Capillary Electrophoresis Hyphenated to Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*. Euroanalysis, Dortmund, 08. – 13. September (2002).
- Eifler D, Knöchel A, Meyer A-K, Prange A, Schaumlöffel D. *Charakterisierung von Huminstoffen mittels eines gekoppelten Systems Kapillarelektrophorese - Induktiv gekoppeltes Plasma Massenspektrometer*. ANAKON, Konstanz, 02. – 05. April (2003).
- Eifler D, Knöchel A. *Untersuchungen zum Metallbindungsverhalten von Huminstoffen mit einem gekoppelten System: Kapillarelektrophorese – Induktiv gekoppeltes Plasma Massenspektrometer*. GDCh-Jahrestagung, Fachgruppe Wasserchemie, Bad Saarow, 17-19. Mai (2004).

### Vorträge:

- Eifler D, Knöchel A. *Methoden und Möglichkeiten der Kapillarelektrophorese (CE)*. DFG-Graduiertenkolleg 611 “Design and Characterization of Functional Materials”, Hamburg, 05. Februar (2003).
  - Eifler D, Knöchel A. *Charakterisierung von Huminstoffen mittels eines gekoppelten Systems CE-UV-ICP-MS*. DFG-Graduiertenkolleg 611 “Design and Characterization of Functional Materials”, Tagung in Leck, 17. Oktober (2003).
-

---

**Eidesstattliche Versicherung über die selbständige Anfertigung der Arbeit  
und Erklärung über frühere Promotionsversuche**

*Hiermit erkläre ich, die vorliegende Arbeit selbständig und  
nur mit den angegebenen Hilfsmitteln angefertigt zu haben.  
Es handelt sich um meinen ersten Promotionsversuch.*

*Dirk Eifler  
Hamburg, den 08. April 2005*

---