



HPLC Methodenentwicklung zur Detektion von H₂O₂ und organischen Hydroperoxiden in der Troposphäre

Sascha Hafermann (Sascha.Hafermann@mpic.de)

Zusammenfassung

Zur Detektion von Wasserstoffperoxid und organischen Hydroperoxiden in Luft wurde ein voll automatisiertes Messinstrument aufgebaut. Dabei werden die Luftmassen kontinuierlich auf einer Sammelwendel in eine flüssige Phase überführt, anschließend mittels HPLC getrennt und über Fluoreszenz detektiert. Die organischen Hydroperoxide werden auf einer C18-Säule getrennt und in einem Nachsäulenderivatisierungssofen mit Hilfe des Enzyms Meerrettichperoxidase in ein fluoreszenzfähiges Dimer umgewandelt. Dieses Instrument wurde auf der Feldmesskampagne CYPHEX (Cyprus Photochemistry Experiment) 2014 erstmals getestet.

Einleitung

Wasserstoffperoxid ist neben vielen weiteren Komponenten eine oft diskutierte Substanz in der Atmosphärenchemie. Es besitzt einen direkten Einfluss auf das HO_x Budget und ist somit an der Oxidationskapazität der Erde direkt beteiligt. Der Einfluss, den die organischen Hydroperoxide auf die Oxidationskraft der Atmosphäre ausüben, ist noch nicht in gleichem Maße untersucht worden. Dies liegt unter anderem an der Tatsache, dass H₂O₂ wesentlich leichter detektiert werden kann, als die einzelnen voneinander getrennten organischen Hydroperoxide.

Die sensitivsten bekannten Methoden zur Detektion von Wasserstoffperoxid beruhen auf Anreicherungen in wässrigen Lösungen. Im Laufe der Zeit entwickelten sich verschiedene Probenahmemethoden vom Sammeln in Waschflaschen über Kältefallen hin zu Glassammelwendeln. Der Vorteil der Sammelwendel ist ihre Eignung zum vollautomatisierten Betrieb.

So wurde erstmals 1989 von Hellpointner und Gäb eine HPLC-Methode zur Detektion von organischen Hydroperoxiden beschrieben. In den darauf folgenden Jahren entwickelten sich die HPLC-Anlagen zur Detektion von organischen Hydroperoxiden weiter bis hin zu vollautomatisierten Messinstrumenten.

Material und Methoden

Luftprobenahme

Die Luftproben werden kontinuierlich mit einer Glassammelwendel gesammelt. Dabei wird auf eine 50 cm lange Glaswendel mit einem Innendurchmesser von 2 mm eine phosphorsaure wässrige Lösung mit einem kontinuierlichen Fluss von 0,37 mL/min aufgetragen. Diese Lösung wird dauerhaft mit einem Luftstrom von 2 slm (Standard Liter pro Minute) umspült, wodurch sich die organischen Hydroper-

oxide aus der Luft lösen und somit nasschemisch detektiert werden können. Die Sammelwendel wird auf 0°C gekühlt, um eine verbesserte Lösungseffizienz nach Henry's Gesetz zu erhalten. Am Ende der Sammelwendel werden die beiden Phasen wieder separiert, wobei die flüssige Phase direkt der Probenschleife der HPLC zugeführt wird. Die Lösungseffizienzen für die einzelnen Hydroperoxide liegen bei 60 bis 100% und wurden eigens über Messungen mit zwei in Reihe geschalteten Sammelwendeln bestimmt. In Abbildung 1 ist ein schematischer Aufbau der beschriebenen Luftprobenahme sowie die daran angeschlossene HPLC zu sehen.

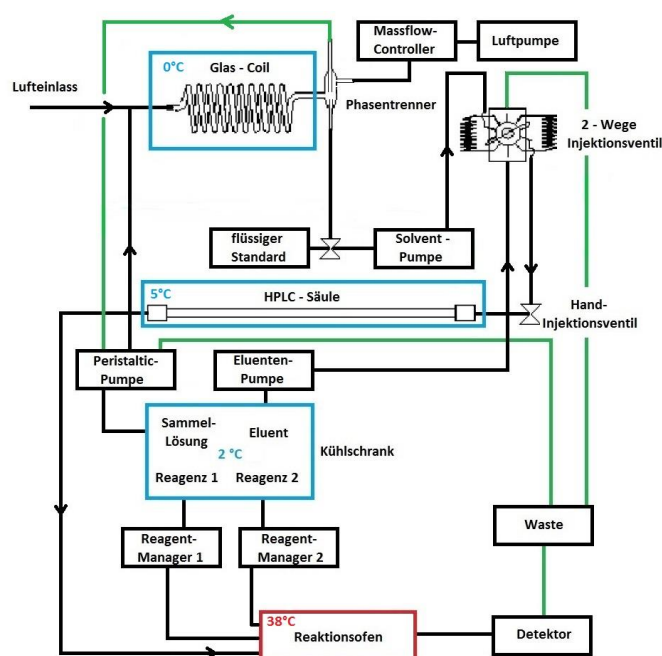


Abb. 1: Schematische Darstellung der Kopplung von Luftprobenahme und HPLC-Analyse

Trennung und Detektion

Zwischen dem Einlass und der HPLC ist ein 2-Wege-Ventil angebracht, um zwischen Kalibration und Außenluftmessung zu wechseln. Die gelösten Hydroperoxide werden direkt vom Einlass auf die Probenschleifen transportiert. Das System besteht aus zwei Probenschleifen. Die eine dient zur Analyse der Substanzen, die andere zum Sammeln von neuen Proben. Zwischen diesen beiden Probenschleifen wird alle 10 Minuten gewechselt. Somit sind Analyse und Probenahme gleichzeitig möglich. Als Eluent und Sammelösung wird eine phosphorsaure Lösung bei pH 3,5 verwendet. Vor der Säule sitzt ein Handinjektionsventil, in welches auch Schnee- und Regenproben injiziert werden können. Als Säule dient die C18 Synergi 4u Hydro-RP 80A, welche für eine bessere Auflösung gekühlt wird. Da alle Analyten eher polar sind, ist eine

ausreichende Trennung in der Umkehrphasenchromatographie nur durch Kühlen der Säule möglich. Im Anschluss an die Säule wird zunächst ein Derivatisierungsreagenz in einem Nachsäulenofen bei 38°C zugegeben. Dieses besteht aus Para-Hydroxy-Phenyllessigsäure und dem Enzym Meerrettichperoxidase. Zur Verbesserung der Fluoreszenzquantenausbeute wird durch ein weiteres Reagenz der pH Wert mit Kaliumhydrogenphosphat erhöht. Die Detektion des gebildeten fluoreszenzfähigen Dimers findet bei 405 nm statt.

Instrumentenparameter

Die Zeitauflösung der HPLC liegt im Bereich von 8 bis 12 Minuten und variiert je nach vorkommenden organischen Hydroperoxiden. Die Nachweisgrenze für H₂O₂ beträgt 10 pptv. Für die organischen Hydroperoxide ergeben sich auf Grund der unterschiedlichen Lösungseffizienzen unterschiedliche Nachweisgrenzen. Diese liegen im Bereich von 10 bis 25 pptv.

Ergebnisse und Diskussion

Nach dem Aufbau und der Methodenentwicklung der mobilen und voll automatisierten HPLC wurde diese bei Feldmes-

sungen während der CYPHEX (Cyprus Photochemistry Experiment) Kampagne im Sommer 2014 erstmals getestet. Mit den Daten dieser Messkampagne konnte für Wasserstoffperoxid ein Vergleich mit dem ebenfalls betriebenen Aerolaser Instrument (AL2021 H₂O₂-Monitor, Firma Aerolaser, Garmisch-Partenkirchen) vorgenommen werden. Der Vergleich der H₂O₂ Daten ist in Abbildung 2 für den Zeitraum vom 18.07.2014 bis zum 03.08.2014 dargestellt. Wie in Abbildung 2 zu erkennen ist, weisen die beiden Datensätze eine gute Übereinstimmung auf. Die Minima und Maxima der beiden Messreihen stimmen in den meisten Fällen überein. Zu Beginn und am Ende der Messperiode liefert die HPLC höhere Mischungsverhältnisse.

Im mittleren Abschnitt sind beim Instrument der Firma Aerolaser höhere Mischungsverhältnisse zu erkennen. Grundsätzlich kann an Hand dieser beiden Datenreihen gezeigt werden, dass die HPLC auch bei Feldmessungen funktionsfähig ist.

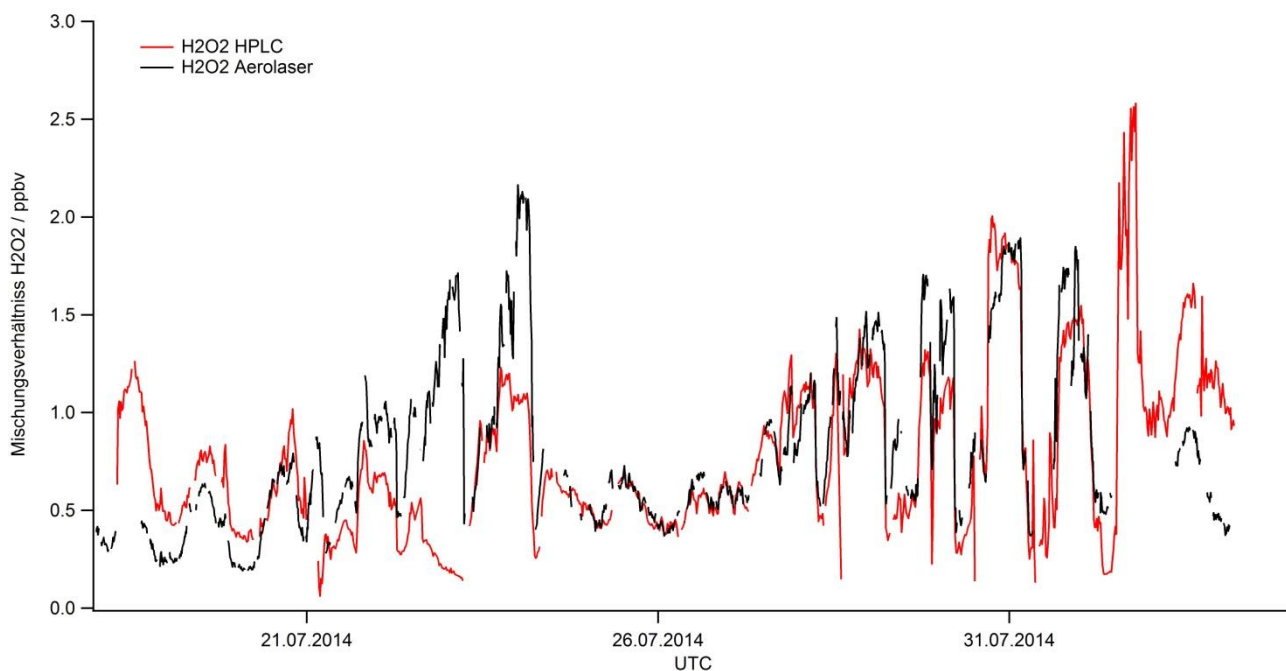


Abb. 2: Vergleich der Wasserstoffperoxid-Messdaten der neu aufgebauten HPLC (rot) mit dem kommerziell erhältlichen Aerolaser-Instrument (schwarz).

Da das Aerolaser-Instrument jedoch die einzelnen organischen Hydroperoxide nicht getrennt voneinander detektieren kann, ist der Einsatz der HPLC von Bedeutung. Allerdings kann das Aerolaser Instrument die Summe aller orga-

nischen Hydroperoxide detektieren, die mit der Summe der einzelnen Komponenten der HPLC-Messung verglichen werden kann. Der Vergleich dieser Mischungsverhältnisse ist in Abbildung 3 dargestellt.

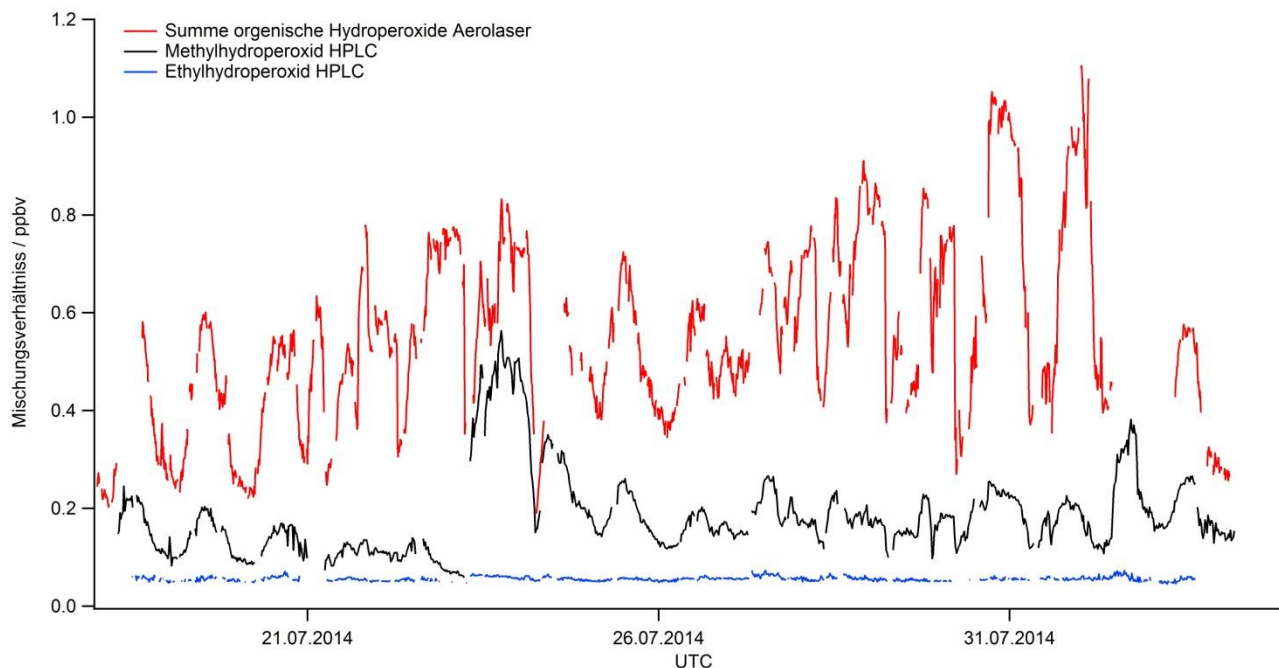


Abb. 3: Vergleich der Summe der organischen Hydroperoxide, bestimmt mit dem Aerolaser-Instrument (rot), mit den HPLC-Daten von Methylhydroperoxid (schwarz) und Ethylhydroperoxid (blau).

Wie in Abbildung 3 zu erkennen ist, ist die Differenz der Mischungsverhältnisse zwischen dem Aerolaser Instrument und der HPLC deutlich. Die Summe der organischen Hydroperoxide, gemessen mit der HPLC, ist geringer, als die des Aerolaser Instrumentes. Allerdings ist zu erkennen, dass in den meisten Fällen die Minima und Maxima des Methylhydroperoxids den Minima und Maxima der Summe der organischen Hydroperoxide folgen. Es ist somit zu erkennen, dass die Konzentrationsvariationen der organischen Hydroperoxide stark vom Methylhydroperoxid abhängen. Ethylhydroperoxid hingegen zeigt kaum Variationen in den Mischungsverhältnissen. Die Differenzen in den Mischungsverhältnissen konnten jedoch auf Verluste an Peressigsäure und Methylhydroperoxid im Einlass zurückgeführt werden. Zudem könnten weitere organische Hydroperoxide unterhalb des Detektionslimits vorhanden sein, die eine Differenz der beiden Messinstrumente erklären.

Schlussfolgerung und Ausblick

Es konnte gezeigt werden, dass die HPLC-Analyse von Wasserstoffperoxid gute Übereinstimmungen mit den Messergebnissen des Aerolaser-Instruments liefert, wobei allerdings für die interessierenden organischen Hydroperoxide noch eine erhebliche Differenz vorhanden ist. Zur Behebung dieser Unterschiede sollte der Einlass weiter modifiziert und auch gezielter charakterisiert werden. Neben den Einlass-effizienzen könnten auch Verluste vor beziehungsweise nach der Sammelwendel auftreten. Zudem sollte die HPLC-Methode selbst weiterentwickelt werden, um die Nachweisgrenze zu senken.

Literatur

- Hellpointner E. and Gäb S. (1989): Detection of methyl, hydroxymethyl and hydroxyethyl hydroperoxides in air and precipitation. *Nature*, Vol. 337, 631 – 634
- Lazrus A.L. et al. (1986): Automated fluorometric method for hydrogen peroxide in air. *Anal. Chem.*, 58, 594-597
- Lee M., et al. (1995): Method for the collection and HPLC analysis of hydrogen peroxide and C1 and C2 hydroperoxides in the atmosphere. *Journal of Atmospheric and Oceanic Technology*, Vol.12, 1060 – 1070
- Sauer F. et al. (2001): Hydrogen peroxide, organic peroxides and organic acids in a forested area during FIELDVOC'94. *Chemosphere - Global Change Science* 3, 309 – 326
- Wiesufer S. (2002): An automated instrument for determining atmospheric H₂O₂ and organic hydroperoxides by stripping and HPLC. *ESPR*, Special Issue 4, 41 - 47

Korrespondenzadresse

Dipl. Chem. Sascha Hafermann
Max - Planck Institut für Chemie
Abt. Atmosphärenchemie
Hahn - Meitner Weg 1
55128 Mainz
E-Mail: Sascha.Hafermann@mpic.de