

Lehrstuhl für Chemisch-Technische Analyse  
und Chemische Lebensmitteltechnologie

Technische Universität München

Eliminierung von Pflanzenschutzmittelrückständen bei der  
Hochdruckextraktion durch Einsatz von Adsorbentien

Pablo Andrés Avendaño Hoffmann

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für  
Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur  
Erlangung des akademischen Grades eines

**Doktor-Ingenieurs**  
**(Dr.-Ing.)**

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. Karl Sommer  
Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. Harun Parlar  
2. Univ.-Prof. Dr. Johann Stichlmair  
3. Univ.-Prof. Dr. Antonio Delgado

Die Dissertation wurde am 11.12.2003 bei der Technischen Universität München  
eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für  
Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 17.03.2004 angenommen.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom November 1999 bis Oktober 2002 am Lehrstuhl für Chemisch-Technische Analyse und Chemische Lebensmitteltechnologie im Wissenschaftszentrum für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan durchgeführt.

Herrn Univ.-Prof. Dr. H. Parlar danke ich für die Möglichkeit zur Durchführung dieser Doktorarbeit. Darüber hinaus bin ich ihm für die Anregungen und Ideen, die den Fortgang dieser Arbeit förderten, und die große Unterstützung am Ende meiner Promotionszeit sehr dankbar.

Auch dem zweiten Prüfer Herrn Univ.-Prof. Dr.-Ing. J. Stichlmair, dem dritten Prüfer Herrn Univ.-Prof. Dr.-Ing. A. Delgado und dem Prüfungsvorsitzenden Herrn Univ.-Prof. Dr.-Ing. K. Sommer danke ich für die Übernahme des jeweiligen Amtes.

Mein besonderer Dank gilt meinem Gruppenleiter Dr.-Ing. G. Leupold, der sich immer um eine schnelle Lösung beim Auftreten technischer Probleme bemüht hat und dessen Korrekturen mir die Fertigstellung dieser Arbeit erleichterten. Während der Zeit, in der ich fern von meiner Heimat war, war er mir stets eine väterliche Unterstützung.

Herrn Dr. B. Weinreich danke ich für viele fachliche Diskussionen, Ratschläge und für die Ermutigung zu dieser Arbeit. Ohne sein Vertrauen wäre ich nie nach Deutschland gekommen.

Desgleichen gilt mein Dank Frau Dr. S. Schoch und Herrn Dr. A. Gronauer, die mir bei der „Umwandlung meiner Gedanken“ in die deutsche Sprache entscheidend geholfen haben.

Auch allen anderen Mitarbeitern des Lehrstuhls gilt mein Dank. Das hervorragende Arbeitsklima sowie die vorhandene Hilfsbereitschaft und Fachkompetenz ermöglichten mir ein angenehmes und effektives Arbeiten am Institut. Besonders danken möchte ich ferner meinen Zimmerkollegen Dr.-Ing. A. Förg und Dr.-Ing. O. Gschwendtner für den herzlichen Empfang, die fabelhafte Stimmung und ihre Freundschaft.

Auch die studentischen Mitarbeiter haben entschieden zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Hier möchte ich mich bei Frau Dipl.-Ing. C. Fuchs, Frau Dipl.-Ing. S. Merkmann,

Herrn Dipl.-Ing. A. Schmidt, Herrn M. Weber, Herrn P. Nuffert und Herrn B. Herbrich für die hervorragende geleistete Arbeit bedanken.

Meinen Freunden des Adalbert-Raps-Zentrums bin ich für ihre Bereitschaft und ihren freundlichen Beistand ebenfalls sehr dankbar. Hervorheben möchte ich Herrn Dr. F. Otto, Frau Dipl.-Ing. Y. Hommann, Herrn Dipl.-Ing. M. Päs, Frau B. Hack, Frau H. Wohlschläger und Frau T. Breitner.

Nicht zuletzt danke ich allen, die darüber hinaus in vielfältiger Weise zum Gelingen dieser Arbeit beitrugen.

... und natürlich meiner Frau Anita Behn, dem allerliebsten Menschen auf diesem Erdball.

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>V</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>VIII</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>XIII</b>
<b>1 Einleitung und Problemstellung</b>	<b>1</b>
<b>2 Theoretischer Teil</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Pflanzenschutzmittel</b>	<b>4</b>
2.1.1 Zulassung	5
2.1.2 Verbleib nach der Anwendung in der Landwirtschaft	6
2.1.3 Rückstände in Lebensmitteln	7
2.1.4 Chemisch-physikalische Eigenschaften und Klassifikation der Rückstände	9
<b>2.2 Hochdruckextraktion</b>	<b>14</b>
2.2.1 Überblick und Einführung	14
2.2.2 Relevante Parameter beim Einsatz der Hochdruckextraktion für Umweltproben	16
2.2.3 Partikelgröße und Packungsdichte der Extraktionsmatrix	17
2.2.4 Anwendung überkritischer Gase in der Umwelttechnologie	25
<b>2.3 Adsorption</b>	<b>27</b>
2.3.1 Definition und physikalische Vorgänge	27
2.3.2 Thermodynamik der Adsorption	28
2.3.3 Adsorptionsisothermen	29
2.3.4 Adsorptionskinetik	30
2.3.5 Technische Adsorbentien	32
2.3.6 Kombination der HD-Extraktion mit Adsorptionsmaterialien	33
<b>2.4 Hopfen (<i>Humulus lupulus</i> L.)</b>	<b>34</b>
<b>2.5 Chili (<i>Capsicum frutescens</i>)</b>	<b>37</b>
<b>3 Material und Methoden</b>	<b>40</b>
<b>3.1 Geräte und Verfahren</b>	<b>40</b>
3.1.1 Hochdruckextraktionsanlage (HD-Laboranlage)	40

---

3.1.2	Gelpermeationschromatographie (GPC)	41
3.1.3	Minisäulenchromatographie (MSChr)	42
3.1.4	Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)	43
3.1.5	Gaschromatographie (GC)	44
<b>3.2</b>	<b>Verbrauchschemikalien</b>	<b>44</b>
3.2.1	Standards - Pflanzenschutzmittel und PCB-180	44
3.2.2	Chemikalien	45
3.2.3	Lösungsmittel	45
3.2.4	Weitere Verbrauchsmaterialien	46
<b>3.3</b>	<b>Extraktionsmatrices</b>	<b>46</b>
3.3.1	Cellulose	46
3.3.2	Chilipulver ( <i>Capsicum frutescens</i> )	46
3.3.3	Hopfenpulver ( <i>Humulus lupulus</i> L.)	48
<b>3.4</b>	<b>Vorbehandlung der Matrices (Trägermaterial und Adsorptionsmittel)</b>	<b>50</b>
<b>3.5</b>	<b>Hochdruckextraktion</b>	<b>50</b>
3.5.1	Modellmatrix	50
3.5.2	<i>Capsicum frutescens</i>	53
3.5.3	<i>Humulus lupulus</i> L.	54
<b>3.6</b>	<b>Analytik</b>	<b>55</b>
3.6.1	Bestimmung der Pflanzenschutzmittel in HD-Extrakten aus Modellmatrices	55
3.6.2	Bestimmung der Pflanzenschutzmittel in HD-Extrakten aus belasteten Chili- und Hopfenproben	56
3.6.3	Bestimmung einzelner Pflanzenschutzmittel im Chiliextrakt	56
3.6.4	Bestimmung einzelner Pflanzenschutzmittel im Hopfenextrakt	58
3.6.5	Bestimmung der Inhaltsstoffe im Chiliextrakt	59
3.6.6	Bestimmung der Inhaltsstoffe im Hopfenextrakt	60
<b>3.7</b>	<b>Versuchsbeschreibung</b>	<b>62</b>
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>70</b>
<b>4.1</b>	<b>Teil 1: Analytische Verfahren</b>	<b>70</b>
4.1.1	Bestimmung und Optimierung der Elutionsbereiche von Inhaltsstoffen und Rückständen im HD-Extrakt bei Anwendung der Gelpermeationschromatographie (GPC).	73

---

4.1.1.1	Elutionsbereiche in rückstandsfreien Chili-, Macis- und Hopfenextrakten	73
4.1.1.2	Elutionsbereiche der zur Dotierung eingesetzten Pflanzenschutzmittel	77
4.1.1.3	Ergebnisse mit dotierten Chili- und Macisextrakten	80
4.1.2	Optimierung der Minisäulenchromatographie (MSChr)	82
4.1.2.1	Untersuchung der einzelnen Fraktionen der Mini-Säulenchromatographie	83
4.1.2.2	Test verschiedener Einsatzmengen an Kieselgel bei der MSChr	84
4.1.2.3	Test anderer Adsorptionsmittel bei der MSChr	85
4.1.2.4	Bestimmung der Ausgangsverunreinigung des als Adsorbens eingesetzten Kieselgels	86
4.1.3	Schwefelsäure-Cleanup	87
4.1.4	Bestätigung der bisher erzielten Ergebnisse aus den Vorversuchen	87
<b>4.2</b>	<b>Teil 2: Variation der physikalisch-chemischen Parameter in der HD-Extraktion</b>	<b>90</b>
4.2.1	Ermittlung einer Dotiermodellmatrix	92
4.2.2	Verlauf der Extraktion anhand der Extraktionszeit	96
4.2.3	Adsorptionsraten von Pflanzenschutzmitteln und PCB-180 an den 17 bei der HD-Extraktion von dotierter Cellulose eingesetzten Adsorptionsmitteln	97
4.2.4	Ausgewählte Adsorptionsmittel mit Zusatz von Modifiern (Ethanol oder Wasser)	100
4.2.5	Dynamische Isothermen mit und ohne Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> basisch als Adsorptionsmittel	106
4.2.6	Variation der Betthöhe des Adsorbens im Extraktor	113
4.2.6.1	Amberlite XAD-16	115
4.2.6.2	Bleicherde	116
4.2.6.3	Aluminiumoxid basisch	118
4.2.6.4	Florisil	119
<b>4.3</b>	<b>Teil 3: Diskriminierung von Pflanzenschutzmitteln in zwei ausgewählten pflanzlichen Matrices durch kombinierte Anwendung von HD-Extraktion und Chromatographie</b>	<b>121</b>
4.3.1	HD-Extraktionen von <i>Capsicum frutescens</i> - Chili	124
4.3.2	Abhängigkeit der Extraktionsausbeute von Extraktionszeit und CO <sub>2</sub> -Durchsatz	124
4.3.3	Bestimmung der Capsaicinmengen in den Extraktfraktionen	126
4.3.3.1	Zusatz der vier ausgewählten Adsorbentien – Inhaltsstoffe und Ausbeuten	127

---

4.3.3.2	Einfluss des Wassergehaltes bei Zusatz von Kieselgel und Florisil	130
4.3.3.3	Adsorptionsraten von Pflanzenschutzmitteln an den 14 bei der HD-Extraktion von belastetem Chilipulver eingesetzten Adsorptionsmitteln	131
4.3.4	HD-Extraktionen von <i>Humulus lupulus</i> L.– Hopfen	135
4.3.4.1	Abhängigkeit der Extraktionsausbeute von Extraktionszeit und CO <sub>2</sub> -Durchsatz	135
4.3.4.2	Bestimmung der Pflanzenschutzmittelmengen im HD-Extrakt von Hopfen bei Modifierzusatz	135
4.3.4.3	Adsorptionsraten von Pflanzenschutzmitteln an den 12 bei der HD-Extraktion von belastetem Hopfenpulver eingesetzten Adsorptionsmitteln	136
4.3.4.4	Variierung der Parameter Adsorbensbetthöhe und Modifier - Einfluss auf Ausbeute, Inhaltsstoffmenge und Pflanzenschutzmittelgehalt im HD-Extrakt	138
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>145</b>
5.1	<b>Analytik</b>	<b>147</b>
5.2	<b>Einfluss einzelner Prozessparameter auf die Hochdruckextraktion</b>	<b>150</b>
5.2.1	Auswirkung des CO <sub>2</sub> -Flusses auf die Prozessoptimierung: Zeit vs. Durchsatz. Versuche mit den Modellmatrices Chili und Hopfen	150
5.3	<b>Hauptversuche – Hochdruckextraktion</b>	<b>155</b>
5.3.1	Screening unterschiedlicher Adsorbentien - Modellmatrix	155
5.3.2	Betthöhe ausgewählter Adsorbentien - Modellmatrix	162
5.3.3	Hauptversuche mit <i>Capsicum frutescens</i> – HD-Extrakte von Chili	164
5.3.4	Hauptversuche mit <i>Humulus lupulus</i> L. – HD-Extrakte von Hopfen	166
5.4	<b>Praktische Anwendung und Ausblick</b>	<b>168</b>
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>170</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>173</b>
<b>8</b>	<b>Anhang (Tabellen A1 - A24)</b>	<b>A-1</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AChE	Acetylcholinmonoesterase
ADI	akzeptierbare tägliche Dosis (engl. acceptable daily intake)
C	Kohlenstoff
CAS	Chemical Abstract Service
CAS-Nr.	Registriernummer des Chemical Abstract Service
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
DDD	1,1-Bis(4-chlorphenyl)-2,2-dichlorethan
DDE	1,1-Bis(4-chlorphenyl)-2,2-dichlorethen
DDT	1,1-Bis(4-chlorphenyl)-2,2,2-trichlorethan
ECD	Elektroneneinfangdetektor (engl. electron capture detector)
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
DT <sub>50</sub>	Disappearance Time 50 % (Zeit, in der 50 % einer Substanz abgebaut sind)
EPA	Environmental Protection Agency (US-Umweltbehörde)
EU	Europäische Union
EWG	Europäische Wirtschaftsgemeinschaft
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FDA	Food and Drug Administration (US-Behörde)
GC	Gaschromatographie
GC-ECD	Gaschromatographie mit Elektronen-Einfang-Detektion (electron capture detection)
GPC	Gelpermeationschromatographie
HCB	Hexachlorbenzol
HCH	Hexachlorcyclohexan
HD	Hochdruck (engl. high density)
HPLC	Hochleistungs-Flüssigchromatographie (engl. high pressure liquid chromatography)
IS	Innerer Standard
KC	Kieselgelchromatographie



---

KI	Konfidenzintervall
K <sub>ow</sub>	Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient
LD <sub>50</sub>	letale Dosis für 50 % der Versuchsorganismen
MgSiO <sub>2</sub>	Magnesiumsilikat
MgSO <sub>4</sub>	Magnesiumsulfat
MS	Massenspektrometrie
MSChr	Minisäulenchromatographie
MW	Mittelwert
N <sub>2</sub>	Stickstoff
NAFTA	North American Free Trade Agreement
NOEL	no observed effect level
OCs	Organochlorverbindungen
OPs	Organophosphorverbindungen
p. a.	pro analysi
PAHs	polychlorierte Kohlenwasserstoffe (engl. polycyclic aromatic hydrocarbons)
PCBs	Polychlorierte Biphenyle
PSM	Pflanzenschutzmittel
PCDD	Polychlorierte Dibenzodioxine
PCDF	Polychlorierte Dibenzofurane
PTFE	Polytetrafluorethylen
SFC	Chromatographie mit überkritischen Gasen (engl. supercritical fluid chromatography)
SFE	Extraktion mit überkritischen Gasen (engl. supercritical fluid extraction)
SFE-GC/MS	SFE mit kombinierter Gaschromatographie/Massenspektrometrie
SiO <sub>2</sub>	Siliziumdioxid
SiO <sub>2</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>	Hydrophober Trägerstoff Aerosil R972
WFR	Wiederfindungsraten
WHO	World Health Organization

---

**Maße und Einheiten**

atm	Atmosphäre (Druckeinheit)
bar	Druckeinheit (1 bar $\approx$ 1 atm)
l	Liter
h	Stunde
ha	Hektar
mbar	Millibar
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
$\mu$ l	Mikroliter
ng	Nanogramm
Pa	Pascal (Druckeinheit)
P	Druck
ppm	Teile pro Million (engl. parts per million)
t	Tonne
T	Temperatur

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Weltmarkt der Landwirtschaftskemikalien, 1995 (Copping u. Hewitt, 1998 [134])	4
Abb. 2:	Strukturformeln der in dieser Arbeit eingesetzten Pyrethroide.	11
Abb. 3:	Strukturformeln der in dieser Arbeit eingesetzten Organochlorverbindungen (vgl. Tab. 3).	12
Abb. 4:	Strukturformeln der in dieser Arbeit eingesetzten Organophosphorverbindungen (vgl. Tab. 4).	13
Abb. 5:	Schematische Darstellung der Löslichkeit gegen den Druck (nach Janda et al. 1993 [76]).	24
Abb. 6:	Teilschritte der Adsorption an einem Feststoff.	27
Abb. 7:	Thermodynamisches Gleichgewicht bei der Adsorption.	29
Abb. 8:	Axiales Konzentrationsprofil in einem Adsorber (Durchbruchskurve).	32
Abb. 9:	Chemische Strukturen der $\alpha$ - und $\beta$ -Säuren im Hopfen [161].	35
Abb. 10:	Löslichkeiten von Hopfen und Hopfenkomponenten in verdichtetem CO <sub>2</sub> (Krüger, 1980, Mc Rae, 1980 [173], [174]).	36
Abb. 11:	Hauptinhaltsstoffe von Chilivarietäten.	39
Abb. 12:	Fließschema und technische Daten der benutzten Hochdruckextraktionsanlage im Labormaßstab.	40
Abb. 13:	Schematischer Aufbau und technische Daten der GPC-Anlage.	41
Abb. 14:	Zusammensetzung einer Florisilsäule für die Minisäulenchromatographie.	42
Abb. 15:	Partikelgrößenverteilung des verwendeten Chilipulvers.	47
Abb. 16:	Partikelgrößenverteilung beim angewandten Hopfenmaterial.	49
Abb. 17:	Beladung des Extraktionskolbens mit dotierter Matrix und Adsorptionsmittel.	51
Abb. 18:	Abscheiden im Separator der HD-Anlage.	53
Abb. 19:	HPLC-Analyse der Capsaicinoide (Chili-Inhaltsstoffe).	60
Abb. 20:	HPLC-Analyse von HD-Hopfeninhaltsstoffen.	61
Abb. 21:	Fließschema zur Optimierung der analytischen Verfahren (GPC, MSChr und GC/ECD-Analyse von Kontaminanten)	71

---

Abb. 22:	Chromatogramm zur Bestimmung von Pflanzenschutzmitteln in einem HD-Extrakt nach Aufreinigung mit der klassischen DFG S19-Methode (GPC + MSChr).	72
Abb. 23:	Elutionsmuster von Chiliextrakt bei verschiedenen Konzentrationen.	74
Abb. 24:	Elutionsmuster von Macisextrakt bei verschiedenen Konzentrationen.	75
Abb. 25:	Elutionsmuster von Hopfenextrakt.	76
Abb. 26:	Prozentuale Verteilung eines Hopfenextraktes beim Cleanup in einer GPC-Säule.	77
Abb. 27:	Elutionsverhalten verschiedener dotierter Pflanzenschutzmittel bei der GPC.	77
Abb. 28:	Schematische Darstellung der Elutionsbereiche von Extrakt- bzw. Lipidbegleitstoffen und Pflanzenschutzmitteln (MSChr* = Cleanup über Minikieselgelsäule).	78
Abb. 29:	Chromatogramm eines kontaminantenfreien Chiliextraktes nach GPC-Cleanup, ohne Minikieselgelsäulenbehandlung,	79
Abb. 30:	Chromatogramm eines kontaminierten Chiliextraktes nach der GPC, mit Minikieselgelsäulenbehandlung.	80
Abb. 31:	Nachgewiesene Kontaminanten (Pflanzenschutzmittel + PCB-180) in den einzelnen Fraktionen der Minisäulenchromatographie (MSChr).	83
Abb. 32:	Summenverteilung der Elution aller Pflanzenschutzmittel in Abhängigkeit vom Beginn des Auffangens der einzelnen Fraktionsabschnitte (Elutionsmittel).	84
Abb. 33:	GC/ECD-Chromatogramm zur Verdeutlichung des Einflusses der bei der MSChr eingesetzten Kieselgelmenge (hier 2 g) auf den Verlauf der Basislinie.	85
Abb. 34:	Chromatogramm zur Darstellung der Vorreinigungsschritte des verwendeten Packungsmaterials Kieselgel (mit 6 ml n-Hexan und 12 ml Aceton vorgereinigt).	86
Abb. 35:	Gaschromatogramm der mittels Schwefelsäure-Cleanup aufgereinigten Probe.	87
Abb. 36:	Analyse einer dotierten Probe (HD-Chiliextrakt) nach der DFG S19-Methode (Standardmethode, GCP optimiert + MSChr nicht optimiert).	88

---

Abb. 37:	Analyse einer dotierten Probe (HD-Chiliextrakt) nach der DFG S19-Methode (modifizierte Methode, GCP-optimiert + MSChr-optimiert).	88
Abb. 38:	Fließschema zur HD-Extraktion einer dotierten Modellmatrix. Verfahren zur Optimierung der Eliminierungsraten von Kontaminanten (PSM und PCB-180).	91
Abb. 39:	GC/ECD-Analyse eines HD-Extraktes von Seesand nach Dotierung und ohne Vorextraktion (Versuchsreihe 1).	93
Abb. 40:	GC/ECD-Analyse eines HD-Extraktes von Cellulose nach Dotierung und ohne Vorextraktion (Versuchsreihe 1).	94
Abb. 41:	GC/ECD-Analyse von HD-extrahierter Kieselgur, undotiert und ohne Vorextraktion (Versuchsreihe 2).	94
Abb. 42:	GC/ECD-Analyse von HD-extrahierter Cellulose, dotiert und vorextrahiert (Versuchsreihe 3).	95
Abb. 43:	Extraktionskinetik der Kontaminanten.	97
Abb. 44:	Veranschaulichung der Kategorisierung der Adsorptionsmittel nach ihrer Adsorptionskapazität.	99
Abb. 45:	Vergleich der Pflanzenschutzmittelwiederfindungsraten beim Einsatz unterschiedlicher Adsorptionsmittel während der HD-Extraktion einer dotierten Modellmatrix.	100
Abb. 46:	Wiederfindungsraten verschiedener Kontaminanten beim Einsatz von Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> sauer mit und ohne Modifier.	101
Abb. 47:	Wiederfindungsraten verschiedener Kontaminanten beim Einsatz von Bleicherde mit und ohne Modifier.	104
Abb. 48:	Wiederfindungsraten verschiedener Kontaminanten beim Einsatz von Florisil mit und ohne Modifier.	105
Abb. 49:	Isothermen für Chlorpyrifos; mit und ohne Einsatz von Adsorptionsmittel Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> basisch.	108
Abb. 50:	Isothermen für Ethion; mit und ohne Einsatz von Adsorptionsmittel Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> basisch.	111
Abb. 51:	Isothermen für Malathion; mit und ohne Einsatz von Adsorptionsmittel Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> basisch.	112
Abb. 52:	Adsorption von Phosalon, unterschiedliche Bett Höhen von Amberlite XAD-16 mit und ohne Zugabe von Modifier.	115

- 
- Abb. 53: Adsorption von Malathion, unterschiedliche Betthöhen von Bleicherde sowie mit oder ohne Zugabe von Modifier. 116
- Abb. 54: Adsorption von Endosulfan, unterschiedliche Betthöhen von  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch, mit oder ohne Zugabe von Modifier. 118
- Abb. 55: Fließschema zur HD-Extraktion eines belasteten Chilipulvers - Verfahren zur Optimierung der Eliminierungsraten von Pflanzenschutzmitteln (PSM) bei möglichst hohen Extraktausbeuten. 122
- Abb. 56: Fließschema zur HD-Extraktion eines belasteten Hopfenpulvers - Verfahren zur Optimierung der Eliminierungsraten von Pflanzenschutzmitteln (PSM) bei möglichst hohen Extraktausbeuten. 123
- Abb. 57: Extraktausbeute bei der HD-Extraktion von Chilipulver und  $\text{CO}_2$ -Durchflüssen von 100, 150, und 200 l/h (Gesamtausbeute: alle 30 min). 124
- Abb. 58: Extraktausbeute bei der HD-Extraktion von Chilipulver und  $\text{CO}_2$ -Durchflüssen von 100, 150 und 200 l/h (Gesamtausbeute: alle 30 min in Abhängigkeit vom Durchfluss). 125
- Abb. 59: Gefundene Mengen an HD-Extrakt und Wirkstoff (Capsaicin) in 30 min-Fraktionen. 126
- Abb. 60: Kumulative Extrakt- und Capsaicinausbeuten bei  $\text{CO}_2$ -Flüssen von 150 und 200 l/h in Abhängigkeit von der Extraktionszeit. 127
- Abb. 61: Vergleich der Extrakt- und Capsaicinausbeute in HD-Extrakten von Chilipulver bei Zusatz verschiedener Adsorptionsmittel. 128
- Abb. 62: Relative Pflanzenschutzmittelkonzentrationen im HD-Extrakt von Chili nach 75 min Extraktionsdauer bei Anwendung von Amberlite XAD-16 als Adsorptionsmittel. 129
- Abb. 63: Effekt des Wassergehaltes von Kieselgel auf Extraktausbeute und die Eliminierungsrate von Pflanzenschutzmitteln am Beispiel von Endosulfan (links) sowie auf Capsaicin Gehalt, Extraktausbeute und Gesamtcapsaicin (rechts). 130
- Abb. 64: Effekt des Wassergehaltes von Florisil auf die Extraktausbeute und Eliminierungsrate von Pflanzenschutzmitteln am Beispiel von Endosulfan (links) sowie auf Capsaicin Gehalt, Extraktausbeute und Gesamtcapsaicin (rechts). 131

- 
- Abb. 65: Kombinierte Anwendung von Chromatographie und HD-Extraktion bei Chilipulver mit dem Adsorbens Bleicherde unter Variation der Zusatzmenge bzw. Betthöhe. 132
- Abb. 66: Kombinierte Anwendung von Chromatographie und HD-Extraktion bei Chilipulver mit dem Adsorbens Mullite M72 unter Variation von Zusatzmenge bzw. Betthöhe. 133
- Abb. 67: Kombinierte Anwendung von Chromatographie und HD-Extraktion bei Chilipulver mit dem Adsorbens Aerosil R 972 unter Variation von Zusatzmenge bzw. Betthöhe. 133
- Abb. 68: Vergleich der Pflanzenschutzmittelwiederfindungsraten mit den Extraktausbeuten bei Chili anhand des Quotienten  $C/Co$ , angeordnet nach steigendem Indexwert. 134
- Abb. 69: Extraktionsverlauf bei der HD-Extraktion von Hopfenpulver . 135
- Abb. 70: Vergleich der Eliminierungsraten von Myclobutanil und Methidathion bei Anwendung von Ethanol und Wasser als Modifier während der HD-Extraktion von Hopfen. 136
- Abb. 71: Extraktionsausbeuten bei Hopfen mit Florisil in Abhängigkeit von der Menge an zugesetztem Adsorbens. 139
- Abb. 72: Gehalt an  $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren im HD-Extrakt (mg/50 g Rohhopfen) in Abhängigkeit von der Menge an zugesetztem Adsorptionsmittel (Kieselgur). 140
- Abb. 73: Änderung der Myclobutanilwerte in Abhängigkeit von der Menge an zugesetztem Kieselgel (Angabe in % des Mittelwertes ohne Adsorptionsmittel – Blindversuch). 141
- Abb. 74: Änderung der Methidathionwerte in Abhängigkeit von der Menge an zugesetzter Bleicherde (Angabe in % des Mittelwertes ohne Adsorptionsmittel – Blindversuch). 142
- Abb. 75: Schematischer Aufbau der Diskussion. 146
- Abb. 76: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von Aktivkohle, Bleicherde und Florisil (Vergrößerung 1 : 1000; spez. Oberfl. = spezifische Oberfläche) 157

## Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Toxizitätsdaten für die in dieser Arbeit eingesetzten Kontaminanten (PSM + PCB) [114], [147].	8
Tab. 2:	Wichtige Eigenschaften der in dieser Arbeit eingesetzten Pyrethroide (nach Verschueren, 2001 [105]).	10
Tab. 3:	Wichtige Eigenschaften der in dieser Arbeit eingesetzten Organochlorverbindungen (nach Verschueren, 2001 [105]).	11
Tab. 4:	Wichtige Eigenschaften der in dieser Arbeit eingesetzten Organophosphorverbindungen (nach Verschueren, 2001 [105]).	13
Tab. 5:	Kenngößen von 19 in der vorliegenden Arbeit eingesetzten Adsorptionsmitteln.	34
Tab. 6:	Verbleib von PSM des Rohhopfens in verschiedenen Hopfenprodukten [171].	37
Tab. 7:	Technische Daten zur Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie.	43
Tab. 8:	Technische Daten zur Gaschromatographie.	44
Tab. 9:	Auflistung der verwendeten Chemikalien.	45
Tab. 10:	Auflistung der verwendeten Lösungsmittel.	45
Tab. 11:	Auflistung weiterer Verbrauchsmaterialien.	46
Tab. 12:	Belastung von Chili-Pulver und Chili-HD-Extrakt (Firma Specht & Partner, Raps & Co).	47
Tab. 13:	Angaben zum Versuchshopfen.	49
Tab. 14:	Untersuchte Trägerstoffe zur Auswahl einer Modellmatrix und benötigte Mengen zur Extraktion.	50
Tab. 15:	Extraktionsbedingungen mit Modellmatrices.	52
Tab. 16:	Extraktionsbedingungen für Chili.	54
Tab. 17:	Extraktionsbedingungen für Hopfen.	54
Tab. 18:	GPC-Parameter zur Aufreinigung von HD-Chiliextrakten.	57
Tab. 19:	Elutionsreihe bei der Untersuchung der HD-Chiliextrakte.	57
Tab. 20:	GPC-Parameter zur Aufreinigung von HD-Hopfenextrakten.	58
Tab. 21:	Elutionsreihe für Methidathion und Myclobutanil bei Extraktion der Hopfenextrakte.	59



---

Tab. 22:	Übersicht über alle Versuche.	65
Tab. 23:	Schema eines gesamten experimentellen Ablaufs von der Pflanze über die Extraktion, Probenvorbereitung bis zur GC/ECD- oder HPLC-Analyse.	70
Tab. 24:	Ergebnisse und Wiederfindungsraten (WFR) eines mit jeweils 1000 ng Pflanzenschutzmittel ml <sup>-1</sup> dotierten HD-Chiliextraktes (GPC + MSChr, Kieselgel).	81
Tab. 25:	Ergebnisse und Wiederfindungsraten (WFR) eines mit jeweils 1000 ng Pflanzenschutzmittel ml <sup>-1</sup> dotierten HD-Macisextraktes (GPC + MSChr, Kieselgel).	81
Tab. 26:	Ergebnisse und Wiederfindungsraten (WFR) eines mit jeweils 500 ng Pflanzenschutzmittel ml <sup>-1</sup> dotierten HD-Chiliextraktes (GPC + MSChr, Kieselgel).	81
Tab. 27:	Elutionsparameter zur GPC von Chili, Macis und Hopfen.	82
Tab. 28:	Konfidenzintervalle (mittels GC-ECD-Analyse) bei einem leeren Analyten-Mix und einer realen Probe (Chili- und Hopfen-HD-Extrakte) bei Anwendung einer Konfidenzzahl von $\gamma = 95 \%$ .	89
Tab. 29:	Parameter der Versuchsreihen zur Ermittlung einer geeigneten Dotiermatrix.	93
Tab. 30:	Parameter zu den Versuchen für die Bestimmung der erforderlichen Extraktionszeit.	96
Tab. 31:	Gruppeneinteilung der Adsorptionsmittel nach ihrer Kapazität.	98
Tab. 32:	Relative Wiederfindung beim Einsatz von Adsorptionsmitteln („schlecht“ und „sehr schlecht“) mit und ohne Modifier (MW $\pm$ K.I., $\gamma = 95 \%$ ).	102
Tab. 33:	Relative Wiederfindung beim Einsatz von Adsorptionsmitteln („mittelmäßig“ geeignet) mit und ohne Modifier (MW $\pm$ K.I., $\gamma = 95 \%$ ).	103
Tab. 34:	Relative Wiederfindung beim Einsatz von Adsorptionsmitteln („gut“ geeignet) mit und ohne Modifier (MW $\pm$ K.I., $\gamma = 95 \%$ ).	103
Tab. 35:	Relative Wiederfindungsraten beim Einsatz von Adsorptionsmitteln (als „sehr gut“ eingestuft) mit und ohne Modifier (MW $\pm$ K.I., $\gamma = 95 \%$ ).	106
Tab. 36:	Parameter zur Ermittlung der dynamischen Isothermen mit und ohne Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> basisch als Adsorptionsmittel.	107
Tab. 37:	Ermittlung von Isothermen ohne Zusatz von Adsorbentien, geordnet nach Kontaminanten (Mittelwerte $\pm$ Konfidenzintervalle, $\gamma = 95 \%$ ).	109

---

Tab. 38:	Ermittlung von Isothermen mit Zusatz von $\text{Al}_2\text{O}_3$ basisch als Adsorbens, geordnet nach Kontaminanten (Mittelwerte $\pm$ Konfidenzintervalle, $\gamma = 95\%$ ).	110
Tab. 39:	Parameter für die Bestimmung der Verlaufes der Extraktion bei Variation der Betthöhe des Adsorptionsmittels.	114
Tab. 40:	Relative Konzentrationen ( $C/C_0$ ) für Malathion, Phosalon und Cypermethrin bei Variation der Betthöhe des Adsorbens Amberlite XAD-16.	116
Tab. 41:	Relative Konzentrationen ( $C/C_0$ ) für Chlorpyriphos, Ethion und PCB-180 bei Variation der Betthöhe des Adsorbens Bleicherde.	117
Tab. 42:	Relative Konzentrationen ( $C/C_0$ ) für Malathion, Chlorpyriphos, Aldrin und Ethion bei Variation der Betthöhe des Adsorbens $\text{Al}_2\text{O}_3$ basisch.	119
Tab. 43:	Relative Konzentrationen ( $C/C_0$ ) für Aldrin und Phosalon bei Variation der Betthöhe des Adsorbens Florisil	120
Tab. 44:	Kontaminantenausbeute (%) bei Adsorbentienzusatz nach einer Extraktionszeit von 75 min (Referenz: 75 min Extraktionszeit, 200 l/h, ohne Adsorbens).	129
Tab. 45:	Wiederfindungsraten von drei Pflanzenschutzmitteln bei der Extraktion von Hopfenpulver unter Zusatz verschiedener Adsorptionsmittel.	137
Tab. 46:	Extraktionsausbeuten (g) und Gehalt an $\alpha$ - und $\beta$ -Säuren (mg) im HD-Extrakt bei unterschiedlichen Adsorbensbetthöhen (Aktivkohle, Bleicherde, Kieselgur, Kieselgel, Florisil). Die Ergebnisse sind auf 50 g Hopfenrohstoff bezogen.	138
Tab. 47:	Relative Konzentrationen von Myclobutanil und Methidathion Im HD-Extrakt von Hopfen in Abhängigkeit vom Adsorbens, dessen eingesetzter Menge und der Zugabe an Modifier (bezogen auf den Blindversuch ohne Adsorbens).	141
Tab. 48:	Änderung des Quotienten aus Gehalt an Pflanzenschutzmitteln und Hopfeninhaltsstoffen in Abhängigkeit von der eingesetzten Adsorbensmenge (Gleichung 16).	143
Tab. 49:	GPC-Elutionsbereiche wichtiger Inhaltsstoffgruppen von Chili, Macis und Hopfen sowie deren Molekulargewichte [201], [37].	148

# 1 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Pflanzliche Rohstoffe stellen eine essentielle Komponente der menschlichen Ernährung dar. Um eine hohe Produktivität unter möglichst geringem Kostenaufwand zu erreichen, wird laufend versucht, die Anbaubedingungen zu verbessern [1]. Eine der wichtigsten erforderlichen Maßnahmen zur Gewährleistung einer guten Ernte ist der Schutz der häufig in Monokulturen angebauten Pflanzen vor Schädlingen durch den Einsatz von Pflanzenschutzmitteln (PSM) [2].

Bei der Herstellung von Gewürzmischungen, -zubereitungen, -aromen und pharmakologisch wirksamen Präparaten aus Heilkräutern und Zusatzstoffen für Lebensmittel muss häufig auf stark mit PSM belastete Rohstofflieferungen aus den Anbauländern zurückgegriffen werden. Betrachtet man die aktuelle Weltlage in Bezug auf die Umweltkontamination mit PSM, so ist diese immer noch als sehr ernst einzustufen, da der Verbreitungsgrad dieser Stoffe in allen Lebensräumen nach wie vor sehr hoch ist. Dies zeigt z. B. eine in den Jahren 1996-1997 in Indien durchgeführte Untersuchung, die ergab, dass alle getesteten Proben mit PSM belastet waren und immerhin 23 % davon mit Werten über den gesetzlich erlaubten Rückstandshöchstmengen lagen [1].

In der Landwirtschaft eingesetzte PSM belasten nicht nur den Boden, die angrenzenden Gewässer und die in der Umgebung existierenden Lebewesen, sondern sie verbreiten sich auch stetig in der gesamten Umwelt. Gerade die Kontaminierung der Gewässer ist von besonderer Tragweite, da durch dieses aquatische Kompartiment und zusätzlich über die Atmosphäre Pflanzenschutzmittel sehr effektiv in der Umwelt verteilt werden. Direkte Folge davon ist die Belastung der gesamten Nahrungskette. Ein Beispiel hierfür aus Indien als wichtigem Lieferanten für Gewürzrohstoffe zeigt die Arbeit von Screenivasa (2002) [3], der die PSM-Belastungen des Wassers und der Sedimente in verschiedenen Fischzuchtanlagen des Kollerusees in Indien untersuchte und dabei sehr hohe Werte feststellte. Obwohl die höchsten Rückstände in der Fischleber nachweisbar waren, so dass vor allem von einer Gefährdung der Fischpopulation ausgegangen werden konnte, ließ sich ein Risiko für die Bevölkerung nicht ausschließen. In dieser Studie wurde vor allem p,p'-DDT gefunden. Da p,p'-DDT ausschließlich in der Landwirtschaft Verwendung findet, ist dies ein Beweis für die Ausbreitung dieses PSM vom Ort der Applikation in entferntere Bereiche. Bei einer weiteren

Untersuchung in Jaipur/Indien, in der herkömmliches Gemüse auf die Belastung mit PSM geprüft wurde, stellte sich heraus, dass mehr als 20 % der untersuchten Chiliprüben mit dem Insektizid Endosulfan oberhalb der von der FAO in deren Codex Alimentarius angegebenen zulässigen Rückstands-Höchstmengenkonzentration kontaminiert waren [4].

Da die Lohnkosten in den Entwicklungsländern deutlich geringer ausfallen als in Industrieländern (durchschnittl. Jahreseinkommen pro Kopf: Indien US-\$ 2200, Indonesien US-\$ 2900, China US-\$ 3600 [7]), ist es für die Industrie trotz des Kontaminationsrisikos sehr attraktiv, dort Rohstoffe einzukaufen. Darüber hinaus gedeihen bestimmte Gewürz- und Heilpflanzen nur in ihren Ursprungsländern optimal und müssen deshalb von dort als zu verarbeitende Rohstoffe eingekauft werden. Dabei kommt es nicht selten vor, dass trotz laufender Qualitätskontrollen im Nachhinein eine hohe Belastung der Rohstoffe festgestellt wird. Nach der Rückstands-Höchstmengenverordnung (RHmV) sind derartig kontaminierte Produkte bisweilen nicht verkehrsfähig, somit nicht mehr verwendbar und müssen vernichtet werden. Selbst weniger belastete Chargen müssen eventuell kostenaufwendig dekontaminiert werden, sofern überhaupt eine Methode dafür existiert bzw. diese für Lebensmittel geeignet ist [2].

Die Industrieländer verarbeiten diese pflanzlichen Rohstoffe zu hochwertigen Produkten. Die Extraktion ist dabei das wichtigste Verarbeitungsverfahren zur Gewinnung von Naturstoffen und wird seit langer Zeit weltweit angewandt [5]. Seit den 70er Jahren wird neben den klassischen Verfahren die Hochdruckextraktion als schonendes Standardverfahren im Industriemaßstab immer häufiger eingesetzt. Die dabei produzierten Extrakte spielen sowohl in der pharmazeutischen als auch in der Kosmetik- und Lebensmittelindustrie eine zunehmende Rolle, insbesondere bei der Isolierung unpolarer Inhalts- und Wirkstoffe [6].

Die unpolaren Eigenschaften überkritischer Gase führen jedoch dazu, dass neben der Gewinnung von hochwertigen Extrakten bzw. Inhaltsstoffen auch Rückstände von PSM (hauptsächlich Organochlor- und Organophosphorverbindungen sowie Triazine), PAHs (polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe) und PCBs (polychlorierte Biphenyle) angereichert werden [8] – [12]. Im Hinblick auf die industrielle Durchführung der Hochdruckextraktionsverfahren bedeutet dies, dass die Wirkstoffextrakte eben häufig mit unerwünschten Rückständen kontaminiert sind. Deshalb ist eine Modifizierung des Hochdruckextraktions-

---

verfahrens erwünscht, die es erlaubt, die erwünschten Wirkstoffe quantitativ anzureichern und gleichzeitig diese unerwünschten Rückstände weitgehend zu eliminieren.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand demgemäß darin, eine Extraktionsmethode für pflanzliche Rohstoffe mit überkritischem Kohlendioxid zu entwickeln, mit deren Hilfe sich Rückstände, insbesondere PSM, selektiv vom Extrakt und dessen wertgebenden Inhaltsstoffen abtrennen lassen. Als Ansatz zur Lösung dieser Aufgabe waren zunächst die Effektivität von unterschiedlichen Adsorptions- und Schleppmitteln (Modifier) sowie der Einfluss der Änderung relevanter Extraktionsparameter wie Druck, Temperatur und CO<sub>2</sub>-Durchfluss auf die Extrahierbarkeit bzw. Eliminierung von PSM zu untersuchen. Die dabei entwickelte Modellmethode sollte dann zur HD-Extraktion praxisrelevanter und rückstandsbelasteter Matrices wie Chili, Macis und Hopfen angewendet werden.

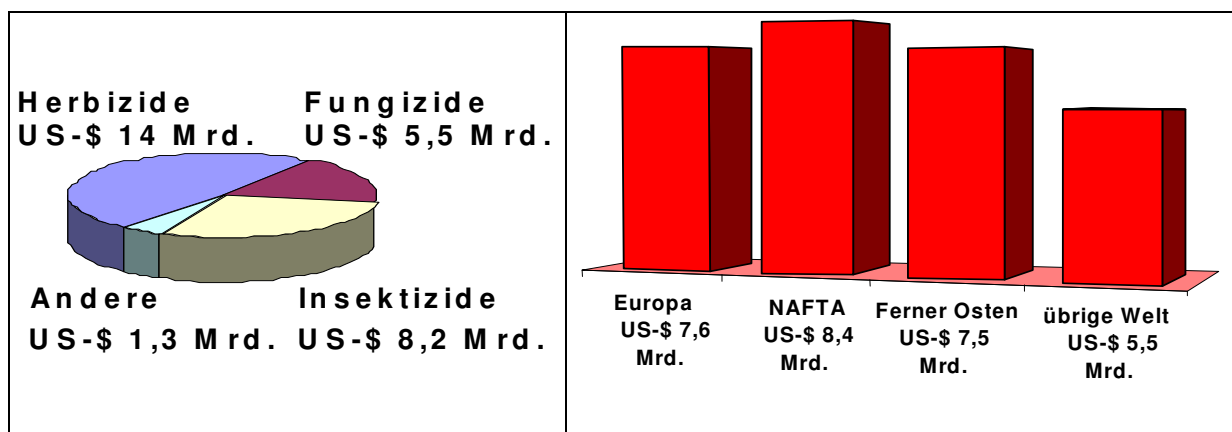
## 2 THEORETISCHER TEIL

### 2.1 Pflanzenschutzmittel

Zur Zeit leben mehr als sechs Milliarden Menschen auf der Erde, eine Milliarde mehr als vor zwölf Jahren. Dieses explosive Bevölkerungswachstum fordert eine hohe landwirtschaftliche Rendite, um all diese Menschen versorgen zu können [121]. Die Anwendung von Pflanzenschutzmitteln (PSM), eingeleitet durch die Entdeckung der insektiziden Wirkung von DDT in der zweiten Hälfte der 40er Jahre, brachte der Landwirtschaft enorme wirtschaftliche Vorteile. Der damit eingehandelte Nachteil ist jedoch offensichtlich: Die PSM werden z. T. sehr schlecht abgebaut, so dass sie aufgrund ihrer Langzeitstabilität als Rückstände in Lebensmittel gelangen. Heutzutage ist es fast eine Ausnahme, ein Lebensmittel zu finden, das völlig frei von PSM-Rückständen ist.

Diese toxischen Substanzen können auf verschiedenen Wegen in die Lebensmittel gelangen [113]. Verbindungen wie PCBs und DDE (Metabolit von DDT), die sich noch im Boden, in Gewässern und der Atmosphäre befinden, gelangen in die Nahrungskette und werden z. T. im menschlichen Körper angereichert [37].

Der Anstieg des Chemikalienverbrauchs und der Produktpalette ist bemerkenswert, z. B. registrierte die CAS im Jahr 1993 die 12-millionste chemische Verbindung, und die Weltproduktion wichtiger Chemikalien lag 1986 bei 300 Millionen Jahrestonnen [120]. Im Jahr 1982 betrug der Umsatz an PSM weltweit etwa 16 Milliarden US-\$ [132] und im Jahr 1995 bereits 28 Milliarden US-\$ (Abb. 1) [134].



**Abb. 1:** Weltmarkt der Landwirtschaftschemikalien, 1995 (Copping u. Hewitt, 1998 [134])  
**Links:** Aufteilung der Pflanzenschutzmittel anhand ihrer Wirkmechanismen;  
**Rechts:** Aufteilung nach Regionen der Welt  
 (NAFTA = North American Free Trade Agreement).

Im Jahr 1983 repräsentierten Organophosphorverbindungen 35–40 %, Organochlorverbindungen 15 % und Pyrethroide 20–25 % des Marktanteils an PSM [141].

Während in der Literatur bis zum Jahr 1970 die Vorteile der Anwendung von PSM im Mittelpunkt standen, wurde die Problematik der Anreicherung dieser Chemikalien in Lebensmitteln (Bio- oder Geoakkumulation) erst danach verstärkt beachtet [121]. Gegenwärtig sind in fast jedem entwickelten Land Monitoringprogramme zur Sicherung der Gesundheit der Bevölkerung zu finden. Auch Staatengemeinschaften wie die Europäische Union (EU) sind hier einzubeziehen [124]. In diesen Ländern und Staatengemeinschaften wird die Anwendung von PSM streng kontrolliert, trotzdem werden mitunter stark persistente polychlorierte Kohlenwasserstoffe (Abbauzeit 2–5 Jahre) z. T. noch verwendet [121].

### 2.1.1 Zulassung

In der am 28. Februar 1986 von den zwölf Mitgliedstaaten der EU unterzeichneten Einheitlichen Europäischen Akte (EEA) wurde der frühere EWG-Vertrag durch einen eigenen Titel „Umwelt“ erweitert, wobei drei Prinzipien des Umweltrechts hervorgehoben wurden: Versorgerprinzip, Verursacherprinzip und Kooperationsprinzip [121]. Die Aufgabe der EU beschränkt sich gegenwärtig auf die Bestimmung von Richtlinien für die Rückstände. Daraus entstand die EG-Höchstmengenliste [122], [123].

Im internationalen Kontext wird von der FAO und der WHO der *Codex Alimentarius* und, davon abgeleitet, der *Codex of the Committee on Pesticide Residues* (CCPR) sowie der *Guide to Codex Recommendations Concerning Pesticide Residues* herausgegeben [125], in denen Richtlinien zu den maximalen Höchstmengen angegeben werden. International wird vornehmlich das Wort „Toleranzen“ anstelle von „Höchstmengen“ verwendet.

In den USA werden die Ergebnisse der Rückstandanalysen von der EPA (Environmental Protection Agency) und der FDA (Food and Drug Administration) kontrolliert, wodurch eine Qualitätsverbesserung der Lebensmittel erreicht werden soll.

In der Bundesrepublik Deutschland sind die rechtlichen Grundlagen zum Schutz des Verbrauchers an erster Stelle durch das Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz (LMBG)

von 1974 [127], die Pflanzenschutzmittel-Höchstmengenverordnung – PHmV von 1982 und die Rückstands-Höchstmengenverordnung (RHmV) [129] von 1999 geregelt. Dazu kommen in der BRD noch das DDT-Gesetz von 1972 als erste umfassende Verbotsregelung [130] und zur Regelung der Entsorgung von PCBs die PCB-Abfallverordnung (PCBAbfallV) von 1986 (neueste Fassung 30. 06. 2000) [131]. Das Pflanzenschutzgesetz (PflSchG) schützt die Kulturpflanzen, soll aber auch Gefahren, insbesondere für die Gesundheit von Mensch und Tier, abwenden, die durch die Anwendung von PSM entstehen können [128].

### 2.1.2 Verbleib nach der Anwendung in der Landwirtschaft

Ein hoher Prozentsatz der PSM verfehlt die eigentlichen Zielorganismen und verteilt sich ubiquitär [136]. Die Geschwindigkeit, mit der PSM (bzw. „Kontaminanten“, wenn in der vorliegenden Arbeit PCBs einbezogen werden) in der Umwelt abgebaut werden, ist unterschiedlich. Stoffe, die langsam abgebaut werden, gelten als „persistent“ [116]. Ein Maß für die Abbaugeschwindigkeit ist die Halbwertszeit. Damit die Halbwertszeiten vergleichbar sein können, müssen Experimente unter ähnlichen Umweltbedingungen und in gleichen Matrices durchgeführt werden. Dies führt zu zahlreichen verschiedenen Angaben in der einschlägigen Literatur.

Die Begriffe „Transport“ und „Dispersion“ dieser Stoffe bezeichnen ihre Fähigkeit andere Orte zu erreichen [121]. Kurtz (1990 [138]) untersuchte die verschiedenen Verbreitungswege von Kontaminanten weltweit und nannte dies *long range transport*. Er diskutierte als Faktoren des *long range transport* die Verdunstung der Stoffe mit anschließender Dispersion durch den Wind. Von der Applikationsoberfläche verdunsteten innerhalb von sechs Stunden, abhängig vom jeweiligen Dampfdruck, mehr als 90 % der ausgebrachten PSM [115]. Wenn die Stoffe trockene Bedingungen (z. B. in den arktischen Hemisphäre im Winter oder über dem subtropischen Ozean) vorfinden, harren sie länger in der Umwelt aus und können dann noch weiter getragen werden [139], beispielsweise durch Regen ins Grundwasser sickern oder in Flüsse und Seen geschwemmt werden, um so letztlich ins Trinkwasser zu gelangen [140].

Ein weiterer, überaus wichtiger Parameter zum Verbleib der PSM ist der Biokonzentrationsfaktor (BCF). Damit wird die Verteilung einer Substanz zwischen



Organismen und dem sie umgebenden Medium definiert. In aquatischen Systemen spricht man von Biokonzentration, da die direkte Aufnahme von Stoffen aus diesem Medium eine größere Bedeutung hat als diejenige über die Nahrung. Bei terrestrischen Organismen überwiegt die Aufnahme über die Nahrung (Biomagnifikation), und bei der Stoffanreicherung durch Aufnahme über beide Wege handelt es sich um Bioakkumulation [120].

### 2.1.3 Rückstände in Lebensmitteln

PSM sind chemisch definierte Substanzen oder Substanzgemische, die gegen Pflanzenkrankheiten, verursacht durch tierische Schädlinge, Viren, Bakterien, Pilze und Unkräuter, eingesetzt werden. Die generelle oder selektive Wirkung tritt als Kontakt-, Fraß- oder Inhalationsgift ein. Unter akuter Wirkung versteht man die Schädwirkung, die nach kurzer Zeit und einmaliger Aufnahme auftritt [106]. Unter der mittleren letalen Dosis ( $LD_{50}$ ) ist diejenige Dosis zu verstehen, die zum Tode der Hälfte der Versuchsorganismen führt. Die subchronische Toxizität (engl. „no observed effect level (NOEL)“) ist die Dosierung, bei der nach einer definierten Zeitspanne keine negative Wirkung auf den Organismus zu beobachten ist. Nach vier Wochen spricht man von „subakut“, nach 90 Tagen von „subchronisch“ und nach sechs Monaten von „chronischer Toxizität“. Die letztgenannte soll dazu dienen, gesundheitliche Schäden wie Krebs, Mutationen, Organschäden (Leber, Nieren usw.) oder auch die Teratogenität zu bestimmen [121], [104], [37], [105], [120].

Die Bestimmung der „annehmbaren täglichen Dosis“ (*acceptable daily intake*, ADI-Werte) beim Menschen als Endglied der Nahrungskette wird unter Berücksichtigung der Verzehrsgewohnheiten besonders empfindlicher Personen aus den NOEL-Werten berechnet. Diese entsprechen der oberen Grenze des Dosisbereiches einer Substanz, in dem auch bei lebenslanger Zufuhr und bei Beobachtung mehrerer Generationen keine Wirkungen nachgewiesen werden können; sie werden aber ausschließlich aus Tierversuchen hergeleitet. [37].

**Tab. 1: Toxizitätsdaten für die in dieser Arbeit eingesetzten Kontaminanten (PSM + PCB) [114], [147].**

Untere Hälfte der Tabelle: Erklärung der Symbole.

	Akute Toxizität (siehe untere Tabellenhälfte)	Carcinogenität	Teratogenität	Mutagenität
<b>Pyrethroide</b>				
Cypermethrin	1	kD	kD	kD
Cyhalothrin	2	–	–	–
<b>Organochlorverbindungen</b>				
DDE	1	+	kD	kD
Dicofol	1	–	+S	Ch
PCB-180	0–1	+	+S, t	–
α- + β-Endosulfan	3	+/-	+S	+
Aldrin	2	+	+S	Ch
Myclobutanil	0–1	kD	kD	t [107]
<b>Organophosphoverbindungen</b>				
Phosalon	2	+	–	–
Malathion	1	–	+V,t?	–
Methidathion	3	–	–,t?	kD
Chlorpyriphos	2	kD	–,t	+/-
Ethion	2	–	+S	–

	Akute Toxizität		Carcinogenität
0	Nicht eingestuft LD <sub>50</sub> > 2000 mg/kg KG	+	Mindestens in einer Säugerart positiv
1	Minder giftig, LD <sub>50</sub> 200–2000 mg/kg KG	–	Negativ
2	Minder giftig, LD <sub>50</sub> 25–200 mg/kg KG	+/-	Nicht bewertbar oder widersprüchlich
3	Stark giftig, LD <sub>50</sub> < 25 mg/kg KG	kD	Keine Daten
	<b>Teratogenität</b>		<b>Mutagenität</b>
+S	Mindestens in einer Säugerart positiv	+	Positiv im Ames-Test
–	Negativ in den durchgeführten Versuchen	–	Negativ in den durchgeführten Versuchen
+V	Mindestens in einer Vogelart positiv	Ch	Chromosomenschäden
t	Toxisch für Embryos und Föten	+/-	Nicht eindeutig, widersprüchlich
t?	Hinweis auf Embryo- oder Fötotoxizität	kD	Keine Daten
kD	Keine Daten	t	Toxisch für Embryos und Föten

Die üblichen Bestimmungsmethoden von PSM-Rückständen haben als größtes Problem die Abtrennung der PSM von den ähnlich polaren Matrixinhaltsstoffen. Hopper (1999, 1997 [90], [91]) berichtet von einer automatischen *Cleanup*-Methode, die die GPC und, in vielen Fällen, auch die Säulenchromatographie der üblichen Nachweismethoden, z. B. die DFG S19-Methode, ersetzen könnte.

## 2.1.4 Chemisch-physikalische Eigenschaften und Klassifikation der Rückstände

### Verteilungskoeffizient und Henry-Konstante

Der Verteilungskoeffizient:  $K = \frac{C_{A \text{ Phase 2}}}{C_{A \text{ Phase 1}}}$  aus dem „Nernst`schen Verteilungsgesetz“ besagt,

dass das Verhältnis der Konzentrationen eines sich zwischen zwei nicht mischbaren Phasen verteilenden Stoffes im Gleichgewichtszustand bei gegebener Temperatur konstant ist [54]. Der  $\log K_{O/W}$ , oft in der Literatur auch als  $\log P_{O/W}$  [71] oder  $\log P_{OCT}$  [105] bezeichnet, definiert in logarithmischer Form den Verteilungskoeffizienten zwischen n-Octanol und Wasser. In der Umwelttechnologie wird er oft als ein Maß der Hydrophobität bzw. Hydrophilität von Kontaminanten verwendet. In der Fleischanalytik wird dabei die Belastung auf den Fettanteil bezogen. Noble (1993 [71]) schlug eine Klassifizierung anhand der Fettlöslichkeit von PSM (bzw. Umweltkontaminanten) vor:

- $\log K_{O/W} < 3$  nicht fettlöslich,
- $\log K_{O/W} > 4$  fettlöslich oder hydrophob,
- $\log K_{O/W}$  3–4 mittlere Löslichkeit.

Nach Koch (1995 [120]) liegt ab einem Wert von  $\log K_{O/W} > 3$  eine Geo- und Bioakkumulationstendenz von Chemikalien vor, wobei der Autor den  $\log K_{O/W}$ -Wert mit der Umweltschädigung aufgrund der Belastung verknüpft.

Die Konzentration  $c(x)$  eines Gases X in Wasser ist proportional (Henry-Konstante,  $K_H$ ) dem Dampfdruck  $p(x)$  des Gases über der wässrigen Lösung (Mersmann, 1980 [133]). Je kleiner der  $K_H$ -Wert, desto flüchtiger sind die Gase. Gase mit  $K_H$ -Werten  $< 2 \times 10^{-3} \text{ atm m}^3/\text{mol}$  sind im allgemeinen stark flüchtig und halten sich deshalb nur in geringen Konzentrationen in Oberflächenwassern auf, wenn sie nicht mit dem Wasser reagieren; darüber hinaus zeigen sie im allgemeinen eine Tendenz zur Dispersion in der Atmosphäre [121].

### Chemische Einteilung

#### (1) Pyrethroide (Thier, 1986 [104] und Verschueren, 2001 [105])

Pyrethrine sind Inhaltsstoffe mehrerer *Chrysanthemum*-Arten (vor allem *Chrysanthemum cinerariaefolium*), deren Extrakte als Pyrethrum bezeichnet werden. *Pyrethrum* ist ein photo- und luftlabiles Stoffgemisch, bestehend aus sechs optisch aktiven Estern von zwei

Cyclopropancarbonsäuren mit drei substituierten Cyclopentenolenen. Der Hauptbestandteil ist Pyrethrin I. Synthetische pyrethrinähnliche Substanzen, die sogenannten Pyrethroide, werden heutzutage hergestellt, um die schädlingsbekämpfende Wirkung noch zu steigern. Es handelt sich dabei um synthetische Ester, zu denen Cypermethrin und Cyhalothrin gehören.

Pyrethroide stören den Regelmechanismus der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -Kanäle in den lipophilen Membranen, werden dort eingelagert und verlängern die Strömungszeit der  $\text{Na}^+$ -Ionen. Dadurch kommt es zur Überlappung von Signalen und einer Überanregung (der gestartete Reiz kommt nicht zur Ruhe). Wird die Konzentration der Pyrethroide erhöht, löst dies ein kontinuierliches Signal aus, die Endrezeptoren (Muskeln) werden überspannt, was zu Lähmung und zum Tod der Organismen führt [141].

Pyrethroide sind Kontaktgifte und verursachen eine sofortige Wirkung auf Insekten. Die etwa 25 % des PSM-Weltmarktes einnehmenden Pyrethroide werden hauptsächlich im Gemüse- und Obstanbau, aber auch bei Baumwolle eingesetzt [106].

In der Tabelle 2 sind wichtige Eigenschaften der in der vorliegenden Arbeit eingesetzten zwei Pyrethroide zusammengestellt; die Abb. 2 zeigt die Strukturformeln dieser Substanzen.

**Tab. 2: Wichtige Eigenschaften der in dieser Arbeit eingesetzten Pyrethroide (nach Verschueren, 2001 [105]).**

	CAS-Nr.	Siedepunkt <sup>(1)</sup> (°C)	Dampfdruck <sup>(2)</sup> (mm Hg)	Löslichkeit <sup>(3)</sup> (mg/L)	Log $K_{OW}$	LD <sub>50</sub> Ratte oral (mg/kg bw) <sup>(4)</sup>	ADI [111] (mg/kg bw) <sup>(4)</sup>	DT <sub>50</sub> (Tage) [118]	Henry's Gesetz- konstante atm·m <sup>3</sup> /Mol bei 25 °C
Cypermethrin	52315-07-8	220	$5.1 \times 10^{-8}$	0.041 (20°C)	4.47 [65]	200 [107]	0.05	50 [117]	4,20E-07
Cyhalothrin	91465-08-6	187–190	$7.5 \times 10^{-9}$	0.003 (20°C)	6.9 [117]	56–144 [147]	0.05	23–82 [117]	1,35E-05

(1) in °C @ 760 mm Hg

(2) in mmHg @ 20 °C

(3) Löslichkeit in Wasser

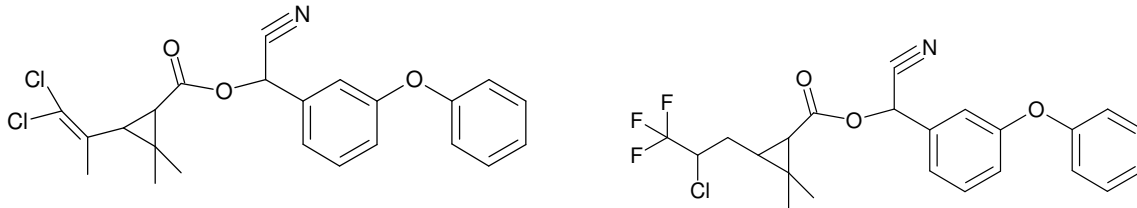
(4) Körpergewicht (body weight)

ADI annehmbare tägliche Dosis (acceptable daily intake)

DT Halbwertszeit (disappearance time)

E Zehnerpotenz

LD letale Dosis

**Cypermethrin****Cyhalothrin****Abb. 2: Strukturformeln der in dieser Arbeit eingesetzten Pyrethroide.****(2) Organochlorverbindungen (Tab. 3, Abb. 3)**

Organochlorverbindungen wirken akut hauptsächlich auf das Zentralnervensystem von Säugetieren. Sie werden durch ihre gute Fettlöslichkeit lange im Fett gespeichert [142], so dass beim Abbau von Fettgewebe akute Vergiftungen auftreten können.

**Tab. 3: Wichtige Eigenschaften der in dieser Arbeit eingesetzten Organochlorverbindungen (nach Verschueren, 2001 [105]).**

	CAS-Nr.	Siedepunkt <sup>(1)</sup> (°C)	Dampfdruck <sup>(2)</sup> (mm Hg)	Löslichkeit <sup>(3)</sup> (mg/L)	Log K <sub>OW</sub>	LD <sub>50</sub> Ratte oral (mg/kg bw) <sup>(6)</sup>	ADI [111] (mg/kg bw) <sup>(6)</sup>	DT <sub>50</sub> (Tage) [118]	Henry's Gesetz- konstante atm·m <sup>3</sup> /Mol bei 25 °C
DDE	72-55-9	336 °C	6.5x10 <sup>-6</sup> [118]	0.04	4.28–5.69	880 [146]	0.02 <sup>(4)</sup>	1000	4,16E-05
Dicofol	115-32-2	180	3.98x10 <sup>-7</sup>	0.8 (20 °C)	4.3 [117]	570–595	0.002	45	2,42E-07
PCB [145]	35065-29-3	320–420	9.77x10 <sup>-7</sup> (25 °C)	0.00385	8.27	1000–4000 <sup>(5)</sup>	0.001 [144]		1,00E-05
α-Endosulfan	115-29-7	106	9x10 <sup>-3</sup> (80 °C) [109]	0.32 [117]	4.74–4.79	40–50 [109]	0.6	50	6,50E-05
β-Endosulfan	115-29-7	106	1.1x10 <sup>-5</sup>	0.33	3.6 4.74–4.79 [71]	240	0.57	50	4,40E-05
Aldrin	309-00-2	132–150 [120] (1 mm Hg)	2.3x10 <sup>-5</sup>	0.01	5.66–7.4 [71]	38–67 [110]	0.0001	365	4,28E-09
Myclobutanil	88671-89-0	202–208 [117] (1 mm Hg)	1.6x10 <sup>-6</sup> (25 °C) [117]	0.13 (20 °C) [135]	2.94 (25 °C) [117]	1600 [107]	0.003	66	4,16E-05

(1) in °C @ 760 mm Hg

(2) in mmHg @ 20 °C

(3) Löslichkeit in Wasser

(4) DDE ist ein Abbauprodukt von DDT, es wird ein Gesamtwert für p,p'-DDT, o,p'-DDT, p,p'-DDE und p,p'-DDD gemessen

(5) Daten aus verschiedenen technischen PCB-Mischungen (PCB 135, 153 und 180) in unterschiedlichen Konzentrationen [148]

(6) Körpergewicht (body weight)

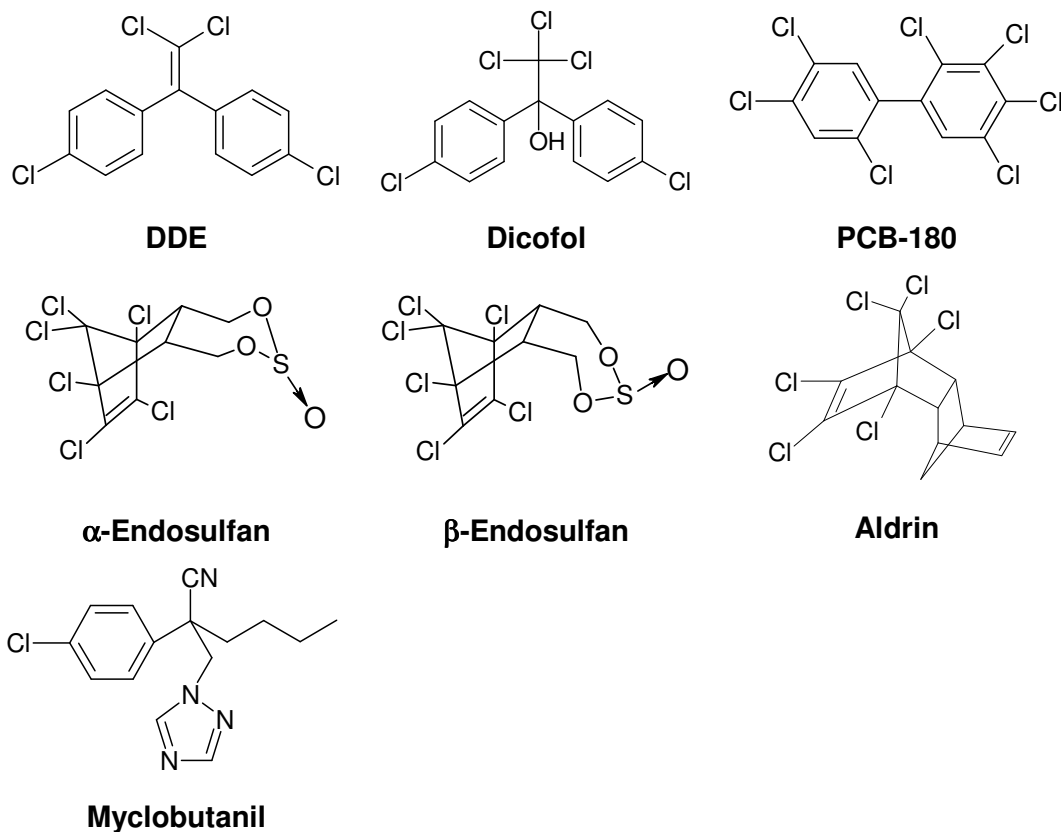
ADI annehmbare tägliche Dosis (acceptable daily intake)

DT Halbwertszeit (disappearance time)

E Zehnerpotenz

LD letale Dosis

Organochlorverbindungen bewirken chronische Schädigungen, Herzrhythmusstörungen, sind krebserregend, mutagen und teratogen. Die Toxizität steigt mit dem Chloranteil [114]. Sie sind persistent und aufgrund ihrer Fettlöslichkeit werden sie in der Nahrungskette angereichert. Chlorhaltige Verbindungen, die diese beiden Eigenschaften nicht zeigen, werden nicht zu den Organochlor-Pflanzenschutzmitteln (OCs) gezählt [104].



**Abb. 3:** Strukturformeln der in dieser Arbeit eingesetzten Organochlorverbindungen (vgl. Tab. 3).

### (3) Organophosphorverbindungen (Tab. 4, Abb. 4)

Die Gruppe der Organophosphorverbindungen (OP-Verbindungen) beinhaltet zahlreiche PSM, die nach Ende des Zweiten Weltkrieges, aber auch heute noch in der Landwirtschaft eingesetzt werden. Es handelt sich um akut toxische Substanzen, die chemisch instabil bzw. hydrolytisch spalt- und abbaubar sind und daher nicht persistent sein können. Sie sind durch ihre hohe akute, aber geringe chronische Toxizität charakterisiert [104].

Die OP-Verbindungen sind neutrale Ester- oder Amid-Derivate der Phosphorsäure, die eine P-O- oder eine P-S-Gruppierung tragen [141]. Sie reagieren mit Acetylcholinesterase (AChE). Das Enzym wird phosphoryliert und somit gehemmt. Die OP-Verbindungen greifen in die

Nervenreizleitung ein, der Abbau von Acetylcholin wird verhindert, es entsteht eine Dauererregung der Muskeln, die rasch zu völliger Erschöpfung, Krämpfen und zum Tod führt [114].

**Tab. 4: Wichtige Eigenschaften der in dieser Arbeit eingesetzten Organophosphorverbindungen (nach Verschueren, 2001 [105]).**

	CAS-Nr.	Siedepunkt <sup>(1)</sup> (°C)	Dampfdruck <sup>(2)</sup> (mm Hg)	Löslichkeit <sup>(3)</sup> (mg/L)	Log K <sub>OW</sub>	LD <sub>50</sub> Ratte oral (mg/kg bw) <sup>(6)</sup>	ADI [111] (mg/kg bw) <sup>(6)</sup>	DT <sub>50</sub> (Tage) [118]	Henry's Gesetz- konstante atm·m <sup>3</sup> /Mol bei 25 °C
Phosalon	2310-17-0	45-47 [107]	< 5.18x10 <sup>-7</sup>	100	4.3 [71]	85 135 [106]	0.001	21	3,94E-07
Malathion	121-75-5	156-157	5x10 <sup>-5</sup>	145	2.89	290	0.02	1	4,89E-09
Methidathion	950-37-8	k.A.	1.3x10 <sup>-6</sup>	240	2.2	20-80	0.001	7	7,17E-09
Chlorpyriphos	2921-88-2	200 [143]	1.87x10 <sup>-5</sup>	0.4	5.11-4.7	245 [107]	0.01	30	9,17E-11
Ethion	563-12-2	164-165 [117] (0.3 mm Hg)	1.5x10 <sup>-6</sup>	2(25 °C) [117]	5.07 [71]	55 [108]	0.002	150	5,76E-10

(1) in °C @ 760 mm Hg

(2) in mmHg @ 20 °C

(3) Löslichkeit in Wasser

(4) DDE ist ein Abbauprodukt von DDT, es wird ein Gesamtwert für p,p'-DDT, o,p-DDT, p,p'-DDE und p,p'-DDD gemessen

(5) Daten aus verschiedenen technischen PCB-Mischungen (PCB 135, 153 und 180) in unterschiedlichen Konzentrationen [148]

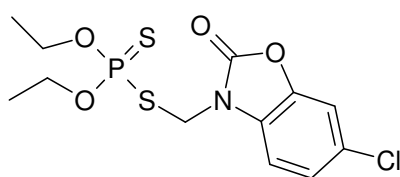
(6) Körpergewicht (body weight)

ADI annehmbare tägliche Dosis (acceptable daily intake)

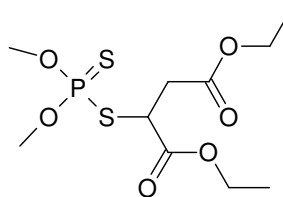
DT Halbwertszeit (disappearance time)

E Zehnerpotenz

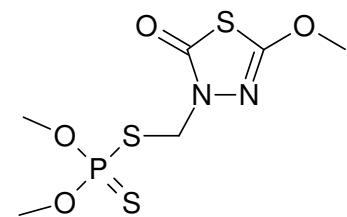
LD letale Dosis



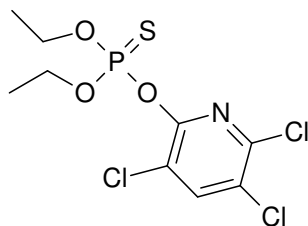
**Phosalon**



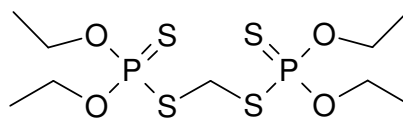
**Malathion**



**Methidathion**



**Chlorpyriphos**



**Ethion**

**Abb. 4: Strukturformeln der in dieser Arbeit eingesetzten Organophosphorverbindungen (vgl. Tab. 4).**

## 2.2 Hochdruckextraktion

### 2.2.1 Überblick und Einführung

Laut älterer Literatur, z. B. Wark (1991 [39]), befindet sich ein Stoff dann im überkritischen Zustand, wenn Druck und Temperatur gleichzeitig den kritischen Punkt überschritten haben. In der neueren Literatur, etwa bei Tucker (1999 [40]), ist eine überkritische Flüssigkeit dadurch definiert, dass sie nur ihre kritische Temperatur ( $T_c$ ) erreicht und überschritten hat. Die Existenz eines kritischen Punktes, oberhalb dessen eine Substanz nicht als Gas oder Flüssigkeit, sondern nur als „Fluid“ existieren kann, wurde schon im Jahr 1822 von Baron Charles Cagniard de la Tour entdeckt (Clifford, 1999 [41]). In diesem Zustand werden die Dichten beider Phasen identisch, und das daraus entstandene Fluid besitzt Eigenschaften von Gasen und Flüssigkeiten: geringe dynamische Viskosität ( $\eta$ ) und hohe Diffusion wie bei einem Gas; aber auch Lösungseigenschaften und Dichte ( $\rho$ ) ähneln Flüssigkeiten (Berglöf, 1997, S. 8 [42]). Vor über 130 Jahren beobachtete Thomas Andrews [41], dass die Isothermen bei Temperaturen über  $T_c$  einen Brechungspunkt (*inflection point*) zeigten. Je näher man zur  $T_c$ -Isotherme kommt, desto mehr tendiert die Steigung an diesem Brechungspunkt gegen Null, so dass der kritische Punkt zusätzlich definiert wird:

$$\left(\partial^2 p / \partial V^2\right)_T = \left(\partial p / \partial V\right)_T = 0 \quad \text{Gleichung 1}$$

Diese Eigenschaften haben drei mögliche Folgen, die von Luque de Castro (1994, S. 39[46]), sehr klar dargestellt werden:

a) Die isotherme Kompressibilität wird unendlich positiv am kritischen Punkt.

$$\lim_{\substack{T \rightarrow T_c \\ V \rightarrow V_c}} \left[ -\frac{1}{V} \left( \frac{\partial V}{\partial p} \right)_T \right] = \infty \quad \text{Gleichung 2}$$

b) Der thermische Expansionskoeffizient am kritischen Punkt ist positiv und unendlich.

c) Die Verdampfungsenthalpie an diesem Punkt ist gleich Null, d.h. laut Clapeyron-Gleichung

$$\Delta H_{vap} = T(v_G - v_L) \left( \frac{dP}{dT} \right)_\sigma \quad \text{Gleichung 3}$$

$\sigma$  repräsentiert alle Konditionen der Dampfdruckkurve. Im kritischem Punkt ist  $T = T_c$  und  $v_G = v_L$ ,  $(dP/dT)_\sigma$  ist endlich, d. h.

$$\lim_{T \rightarrow T_c} \Delta H_{vap} = 0 \quad \text{Gleichung 4}$$

$\Delta H$  ist die Verdampfungsenthalpie und  $v_G$  sowie  $v_L$  sind die spezifischen Volumina von Gas bzw. Flüssigkeit.



Gleichung 2 - Gleichung 4 zeigen, dass ein Fluid am kritischen Punkt sehr spezielle Eigenschaften besitzt. Unter diesen Bedingungen beträgt der Diffusionskoeffizient eines Fluids mehr als das Zehnfache einer Flüssigkeit. Dadurch entstehen infolge der geringen Viskosität sehr gute Transporteigenschaften. Hieraus resultiert auch, dass verdichtete Gase das ideale Extraktionsmittel für sehr feinkörnige oder poröse Materialien sind. Des Weiteren besitzen überkritische Fluide keine Oberflächenspannung und können daher alle Oberflächen gleichermaßen gut benetzen (Buchwald, 2001, S. 17 [43]).

Seit den 80er Jahren wird nach Einsatzmöglichkeiten für überkritische Fluide gesucht. Als Folge davon entstand eine breite Palette von Anwendungen, die von der Wiederherstellung kontaminierter Böden und Gewässer durch Imprägnierung über Kernbildung und Regulierung der Partikelgröße bis zur Reinigung elektronischer Teile reicht (Taylor, 1996, S. 2f. [44]). Hauthal (2001 [45]) zitiert beispielsweise Forschungsbereiche in Chemie und Ingenieurwissenschaften wie Gleichgewichtsbestimmungen, Löslichkeiten, Zustandsgleichungen, Diffusionskoeffizienten, Eigenschaften und Industrieanwendungen wie Korrosion, Synthese, chemische Reaktionen, Materialienbehandlung, Entwicklung nachhaltiger Prozesse, Umweltbehandlung und Analytik.

Zu den nachhaltigen Prozessen ist die Anwendung der verdichteten Gase im Rahmen von Trennverfahren zu zählen, wobei hier zwischen Hochdruckextraktion (HD-Extraktion) und Hochdruckchromatographie (HD-Chromatographie) unterschieden wird. Die HD-Extraktion wird oft zur Gewinnung von Extrakten aus einer Matrix (normalerweise aus einem pflanzlichen Stoff) oder zur Purifikation von Extrakten gebraucht. Zur Illustrierung davon wird die Arbeit von Anderson et al. (1997 [47]) angeführt, in der Digalactosyldiacylglycerol im Haferöl bis auf 97 % aufkonzentriert werden konnte.

In der Literatur sind drei wichtige Anwendungsbereiche für verdichtete Gase zu finden:

- Analytik (Chromatographie; Chester et al., 1996 [48]),
- Regenerierung von Gewässern oder Böden (Buchwald, 2001 [43]; Shahamat & Khan [50]),
- Extraktion von Rückständen aus Lebensmitteln (bis jetzt nahezu ausschließlich als *Cleanup*-Methode verwendet; Lehotay, 1997 [49]).

## 2.2.2 Relevante Parameter beim Einsatz der Hochdruckextraktion für Umweltproben

### Durchführung der Extraktion

Bei der Extraktion mit überkritischen Gasen werden im Prinzip drei Prozessvarianten angewendet: statisch, dynamisch oder die Kombination beider (Berdeaux et al., 1994 [53]).

Hawthorne et al. (1993 [55]) definieren die Extraktion von Umweltkontaminanten aus einem Feststoff in drei Prozessschritten:

- (1) Verteilung des Analyten aus der Probenmatrix und Wanderung ins überkritische Gas,
- (2) Transport des Analyten aus dem Extraktionsbehälter,
- (3) Qualitatives/quantitatives Auffangen des Analyten nach der Entspannung.

Der erste Schritt wird von den physikalisch-chemischen Eigenschaften des Systems kontrolliert. Nach Bøwadt et al. (1995 [33]) limitiert dieser Schritt die Extraktionsrate und ist bisher noch wenig verstanden, weil in diesem Schritt die Desorption aus der Matrix stattfindet. Schritt (2) ist stark mit dem Durchfluss verbunden und wird auch von der Fähigkeit der Matrix, Analyten wieder zu adsorbieren, beeinflusst. Der dritte Schritt wird von mechanischen und durch die Extraktionsanlage bedingten Faktoren kontrolliert (z. B. Extraktorform, Rohrdimensionen, Ventile, Durchfluss, Auffangsystem) (Hawthorne et al., 1993 [55]).

### Extraktionsprobenmatrix

Relevant ist die Matrix, in der die zu extrahierenden Kontaminanten vorliegen. In der Literatur wird unter „Matrix“ oft das Medium verstanden, in dem sich die Kontaminanten vor der Extraktion befinden, z. B. bei Barnabas et al. (1994 [62]) in kontaminiertem Boden, dotiertem Sand oder Celite, in Wasser und in Proben pflanzlicher oder tierischer Herkunft. In der vorliegenden Arbeit hingegen wird unter Matrix generell ein Feststoffmaterial als Träger von dotierten oder bereits originär vorhandenen PSM gemeint. Die Literatur (Hawthorne et al., 1993 [55]) gibt drei Aspekte bei der Validierung einer quantitativen Methode an:

- (1) Bestimmung der Wiederfindungsraten von bekannten zugegebenen Mengen an PSM: Die dotierten Matrices verhalten sich wie eine Umweltprobe.
- (2) Vergleich der Wiederfindungsraten mit denen von konventionellen Methoden: Die konventionelle Methode sollte quantitativ und effektiv sein.

(3) Mehrere nacheinander ablaufende Extraktionen: In der letzten Extraktionsstufe dieser Reihe soll der noch vorhandene Gehalt an Kontaminanten extrahiert werden können.

In der Literatur häufig zu findende Matrices sind Natriumsulfat wasserfrei [53], Seesand [58], [67], Celite [62], ein Bett aus Glasperlen [67] und Böden [67].

Schließlich ist auch der Abbau der PSM während der Zeit zu berücksichtigen, in der sie unter Raumbedingungen bis zur späteren Verwendung lagern. Lehotay et al. (1995 [101]) konnten für Malathion und Ethion in einem PSM-Gemisch nachweisen, dass nach 5 h Wartezeit 40 % aus einer dotierten Kartoffelmatrix in den Kopfraum (*head-space*) des Extraktors verdunsteten. Wenn die Luft im Leerraum des Extraktors durch CO<sub>2</sub> ersetzt wurde, wurden nach 13 h unter Raumbedingungen keine Verluste beobachtet. Daher wurde in der vorliegenden Arbeit sorgsam darauf geachtet, dass dotierte Proben so lange wie möglich bei niedrigen Temperaturen gehalten wurden.

### 2.2.3 Partikelgröße und Packungsdichte der Extraktionsmatrix

Lehotay et al. (1997 [78]) empfehlen eine kleine Partikelgröße, wodurch die Matrixoberfläche größer wird und mehr aktive Zentren vorhanden sind, die die Readsorption begünstigen könnten. Die Entscheidung über die Wahl der Partikelgröße ist in jedem Fall matrixabhängig. Zu starke Zerkleinerung kann zur Verstaubung der Probe und somit zur mechanischen Verstopfung von Filtern, Rohren usw. führen. Dieses Kriterium ist in jedem Fall anlageabhängig. Smith (1999, [79]) gibt dazu einige Beispiele von Matrices, die für die HD-Extraktion entweder gut (fein gepuderte Feststoffe wie Seesand, Böden, zermahlendes pflanzliches Material) oder schlecht (feuchte Gewebe wie bei Fisch oder nichtporöse Feststoffe wie Holz oder Steine) geeignet sind.

#### Dotierung

In mehreren Vorversuchen wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht belastete Matrices, z. B. Sand oder Boden, mit bekannten Mengen an Kontaminanten vermischt, in der Literatur allgemein als „Spiking“ bezeichnet, und danach HD-extrahiert. Die Ergebnisse aus solchen Versuchen konnten nicht sehr gut reproduzierbar auf reale Proben übertragen werden. Trotzdem wird in der Literatur empfohlen, mit „gespikten“ Proben zu arbeiten, um dadurch die

Bestimmung von Wiederfindungsraten und Ausgangsextraktionsparametern der angewandten Methoden auf Umweltproben übertragen zu können (Bøwadt and Hawthorne, 1995 [33]). So berichten etwa Langenfeld et al. (1992 [84]) bei der Suche nach optimalen Auffangparametern im Separator, dass aus Versuchen mit „gespikten“ Proben die unterschiedlichen Parameter der Extraktion getestet und ermittelt werden konnten. Seidel und Lindner (1994 [85]) lösten PSM in einem Lösungsmittel (Cyclohexan) und führten es tropfenweise unter Rühren der zu extrahierenden Probe zu. Diese dotierte Probe wurde anschließend 2 h bei 35 °C geschüttelt, um eine homogene Verteilung der Kontaminanten zu erreichen und um gleichzeitig das Lösungsmittel zu verdampfen. Die im Labor durch Dotierung belasteten Proben wiesen stets höhere Wiederfindungsraten im Vergleich zu naturgewachsenen auf.

### **Einfluss des Wassergehaltes der Matrix**

Wie Bøwadt et al. (1995 [33]) berichten, sind die Effekte von Wasser in der Matrix noch immer nicht vollständig aufgeklärt. Die Zugabe von Wasser soll natürlich in erster Linie die Polarität des Lösungsmittels erhöhen. Erfahrungsgemäß können geringe Mengen an Wasser (1–2 %) vorteilhaft sein, doch höhere Mengen verursachen eine oft unerwartete Wirkung. Berdeaux et al. (1994 [53]) stellten fest, dass schon bei einer Erhöhung des Wassergehalts um 0,005 % in der Probe eine deutliche Erhöhung der Wiederfindungsrate bei polaren PSM zu beobachten war. Im Gegensatz dazu verschlechterte sich nach Hopper et al. (1991 [69]) und Howard et al. (1993 [68]) die Extraktionsausbeute bei Gegenwart von Wasser in den Proben. Die letztgenannten Autoren lösten dieses Problem durch Vermischen der Probe mit Celite. Diesen Erfolg erklärten sie mit der besseren Verteilung der Probe im Behälter und der verbesserten Durchlässigkeit für das Fluid im Zusammenhang mit der auftretenden Adsorption von Wasser an der Celiteoberfläche, wodurch die unpolaren Eigenschaften des Lösungsmittels erhalten blieben. Bøwadt et al. (1995 [33]) vermuteten jedoch, dass dieses Verfahren wegen der Adsorption an den Entwässerungsstoff zu Verlusten an flüchtigen Verbindungen führen könnte. Lehotay et al. (1997 [78]) rieten von der Entfernung der residualen Feuchtigkeit in einer Umweltprobe durch thermische Verfahren wie Ofentrocknung oder Gefriertrocknung ab, da diese zur Verflüchtigung oder Veränderung der Kontaminanten und somit zur Verfälschung der Ergebnisse führen könnte. Diese Autoren empfahlen ebenfalls die Benutzung von Trocknungsagentien zur Retention des Wassers, d. h. ihre Vermischung mit der Matrix, um Wassermoleküle bei der Freisetzung aus der Matrix zu adsorbieren. Sie listeten Celite,

Hydromatrix, Cellulose, Alumina, Florisil, Molekularsiebe, Magnesiumsulfat und Natriumsulfat als „Wasserempfänger“ auf.

Die Anwendung von Salzen verändert die relative Löslichkeit eines Stoffes im Lösungsmittel durch einen sogenannten *salting out*-Effekt: der gewünschte Stoff wird schlechter in Wasser löslich und steht deswegen in einer größeren Menge für das CO<sub>2</sub>-Fluid zur Verfügung. Eller und Lehotay (1995 [99]) warnten jedoch bei Extraktionen aus pflanzlichen Proben ausdrücklich vor dieser Vorgehensweise, da das residuale Wasser in diesen Fällen als Modifizier wirkt. Deswegen schlugen sie vor, ein Trocknungsgagens einzusetzen, das auf der einen Seite die Feuchte auffängt und auf der anderen Seite die Matrix besser verteilt. Wie Valverde-García et al. (1996 [100]) beobachteten, wirkt sich dieses Verfahren auf die Adsorption von Stoffen an der Oberfläche der Trocknungsmittel aus, so dass eine Verbesserung der Extraktion von unpolaren bis mittelpolaren PSM bei Anwendung von Magnesiumsulfat als Entwässerungsmittel erreicht werden konnte. Im Gegensatz dazu waren die Ergebnisse mit Florisil unter identischen Bedingungen nicht zufriedenstellend.

### **Matrixeffekte**

Bei der Extraktion mit überkritischen Gasen ist die Gewinnung der gewünschten Inhaltsstoffe von der Löslichkeit (s. S. 24), aber auch von den Eigenschaften der Matrix, in der die Stoffe vorhanden sind bzw. von der sie getragen werden, ausschlaggebend. Clifford et al. (1995 [77]) demonstrierten das Auftreten von Matrixeffekten an mehreren Beispielen. In einigen Experimenten war die Ausbeute an gewünschtem Inhaltsstoff trotz korrekt durchgeführter Extraktion deutlich niedriger als der reale Gehalt in der Probe. Dieses Phänomen könnte durch mehrere Faktoren, etwa die Interaktion Matrix-Stoff, den Transport innerhalb (im Kern) der Matrix, die unregelmäßige Verteilung in den Partikeln und weitere Faktoren beeinflusst werden. Deshalb sollten diese Faktoren immer berücksichtigt werden.

### **Druck, Temperatur, Dichte**

Druck und Temperatur sind die wichtigsten Parameter bei der HD-Extraktion. Beide Faktoren werden gemeinsam als Zustand definiert. Die Löslichkeit einer Substanz in einem verdichteten Gas wird ebenfalls von zwei Faktoren bewirkt, der Flüchtigkeit der Substanz unter diesem Zustand und dem Lösungsvermögen des überkritischen Gases unter denselben Bedingungen. Da die Dichte sowohl vom Druck als auch von der Temperatur abhängig ist,

werden viele Ergebnisse auf die Dichte bezogen, wodurch gleichzeitig Druck und Temperatur vorgegeben sind (Bøwadt and Hawthorne, 1995 [33]).

McNally (1988 [65]) fand bei der Extraktion von zwei unpolaren Stoffen, Diuron ( $\text{Log } K_{o/w} = 2.68$ ) und Linuron ( $\text{Log } K_{o/w} = 2.76$ ), dass eine Erhöhung des Druckes eine Verringerung der Ausbeute verursachte, das Fluid also polarer wurde. Eine Erhöhung der Extraktionstemperatur dagegen bewirkte eine Erhöhung der Ausbeute, das Fluid wurde also unpolarer. Auch bei der Extraktion von PAHs aus Bodenproben konnten dadurch die Wiederfindungsraten gesteigert werden (Lee et al., 1993 [74]).

### **Extraktionszeit**

Bei der statischen Extraktion spielt die Extraktionszeit eine wichtige Rolle, da es die einzige vorhandene Messgröße des Extraktionsverlaufs ist, bis die Probe analysiert werden kann. Im Gegensatz hierzu erweist sich bei der dynamischen Extraktionszeit nach Lehotay (1997 [78]) eine Messung des eluierten Volumens und dessen Durchflussrate am geeignetsten. Die Autoren empfehlen sogar, dieses Maß auf das Extraktorvolumen der Anlage zu beziehen (z. B.  $\text{Durchfluss} = 3 \times \text{Extraktorvolumen/h}$ ).

### **Durchfluss und Flussrichtung**

Zur Orientierung des Extraktors und somit auch der Flussrichtung bieten sich drei Positionen an: (1) von oben nach unten, (2) von unten nach oben und (3) waagrecht. Bei konstantem Durchfluss und nicht voll gefülltem Behälter wird im ersten Fall eine hohe Wiederfindung schneller als im zweiten Fall erreicht, doch letztendlich werden ähnliche Wiederfindungsraten erzielt. Im dritten Fall sind die geringsten Wiederfindungsraten zu erwarten. Eine Erklärung hierfür könnte darin liegen, dass sich die Probe im Totvolumen teilweise wieder löst und somit die Extraktionszeit verzögert (Hawthorne et al., 1993 [55]).

Beim Einfluss der Flussrate konnten bis heute zwei unterschiedliche Fälle beobachtet werden. Im ersten Fall war die Wiederfindung stark von der Menge an extrahierter Substanz abhängig. Dies wurde vor allem bei hochkonzentrierten Proben beobachtet. Zwangsläufig bedeutet dies, dass im zweiten Fall nicht durchflussabhängige Wiederfindungen vor allem in schwach bzw. nicht konzentrierten Proben beobachtet wurden. Im ersten Fall wurde die dynamische Extraktionsmethode bevorzugt, im zweiten Fall die statische [55]. Bei den Untersuchungen

von Nemoto et al. (1997 [59]) erwies sich eine höhere Kontaktzeit zwischen Fluid und Matrix – mit der Folge geringer Durchflussraten bei der HD-Extraktion – als wichtig, um eine hohe Wiederfindung zu gewährleisten.

### **Extraktorgeometrie**

Obwohl Langenfeld et al. (1992 [84]) keinen großen Einfluss der Extraktor-Geometrie beobachten konnten, weisen andere Autoren auf diesen Effekt ausdrücklich hin. Ein Grund für diese Diskrepanz könnte darin liegen, dass Langenfeld et al. nur eine kleine Laborextraktionsanlage verwendeten, in der auch andere Effekte, etwa Kapillarkräfte, eine größere Rolle spielen. Rein et al. (1991 [86]) berichten von schlechteren Ausbeuten beim Einsatz von langen und schmalen Extraktorkolben. Auch die Ergebnisse von Furton und Lin (1993 [87]) bestätigten, dass bei der Erhöhung des Schlankheitsgrades eines zylindrischen Extraktors von 1 : 1 auf 1 : 20 (d. h. von 1 cm Durchmesser x 1 cm Höhe auf 0,37 cm Durchmesser x 7,3 cm Höhe) die Wiederfindungsraten von PAHs geringer wurden.

### **Fluide**

Die in der Literatur zitierten Fluide, die zur HD-Extraktion herangezogen wurden, sind sehr unterschiedlich. Barnabas et al. (1994 [62]) erwähnten Trifluormethane, Chlorodifluorethane, Methanol, Distickstoffoxid, Benzol und das am meisten verwendete Fluid, Kohlendioxid. Berger (1997 [70]) berichtet von anderen Lösungsmitteln, die in der HD-Extraktion zur Gewinnung polarer Stoffe getestet wurden: Schwefeldioxid (sehr korrosiv), Fluorkohlenwasserstoffe (F-23 und F-134a) und Ammoniak. Die Ergebnisse waren in allen Fällen entweder mangelhaft, oder das angewandte Extraktionsverfahren selbst war zu gefährlich, um es weiter zu empfehlen. Distickstoffoxid im überkritischen Zustand kann bei Kontaktaufnahme mit einigen organischen Verbindungen hochexplosiv werden. McNally (1996 [66]) empfiehlt auf Ammoniak zu verzichten, da die reduktiven Eigenschaften dieses Stoffes die Anlagen zerstören könnten. In den 70er Jahren wurde auch Pentan benutzt, das aber wegen seiner Brennbarkeit heute nicht mehr angewendet wird [66]. Bei Dichten zwischen 0,2 und 0,9 g/ml ist die Polarität von überkritischem Kohlendioxid ähnlich der von Alkanen (Berdeaux, 1994 [53]). Berger (1997 [70]) und Bøwadt (1995 [33]) gaben die Polarität von überkritischem Kohlendioxid ähnlich der von Pentan an.

Auch überkritisches Wasser wurde häufig verwendet. Einige Autoren (Kronholm, 2002 [207]) vertreten sogar die Auffassung, dass dieses Fluid zukünftig eine bedeutende Rolle bei der Extraktion von Umweltkontaminanten spielen wird.

### **Kohlendioxid als Lösungsmittel**

Janda et al. (1989) [52]) beurteilten besonders bei der Extraktion von Organochlorverbindungen die Löslichkeitseigenschaften von überkritischem Kohlendioxid ähnlich wie diejenigen von Benzol. Auch Fiddler et al. 1999 [51]) konnten durch SFE (Extraktion mit überkritischen Gasen, *supercritical fluid extraction*) Verbindungen aus Eiern mit höherer Wiederfindungsrate als bei Anwendung der Standard-FDA/AOAC-Methode extrahieren. McNally (1996 [66]) wiederum beschrieb die Löslichkeitseigenschaften bei einer Dichte von 0,2–0,5 g/ml als ähnlich zu denen von Hexan und bei einer Erhöhung der Dichte auf ca. 0,6 g/ml als etwas polarer, vergleichbar mit Methylenchlorid. Besonders die letzte Beobachtung zeigt, dass die SFE-Technologie eine neue Möglichkeit der Extraktion eröffnen kann, die mit anderen Methoden nicht zu erreichen ist: die einfache Änderung der Polarität durch Variieren der Dichte während des ablaufenden Prozesses. Dies bedeutet die überaus attraktive Möglichkeit der Gewinnung von unterschiedlich polaren Fraktionen.

### **Modifier**

Die niedrige Polarität von überkritischem Kohlendioxid begrenzt die Anzahl von Substanzen, die sich in diesem Fluid lösen. Deswegen werden oft polare Lösungsmittel als Lösungsvermittler zugegeben (Nemoto et al., 1997 [59]). Zwei unterschiedliche Methoden werden hierzu in der Literatur erwähnt:

- (a) Mischung von Modifiern mit dem überkritischen Gas vor dem Eintritt in den Extraktor. Bøwadt et al. [33] unterteilten dieses Verfahren in zwei weitere: entweder wird eine fertige Gasmischung aus der Versorgungsflasche eingesetzt oder ein Modifier mit einer zusätzlichen Pumpe vor dem Extraktor zudosiert und mit dem Kohlendioxid vermischt.
- (b) Mischung der Matrix im Extraktor mit einer bestimmten Menge an Modifier [53]. Ashraf-Khorassani et al. (1995 [60]) und Lee et al. (1993 [74]) wiesen in ihren Arbeiten darauf hin, dass diese Methode geeigneter sei als die unter (a) genannte.



Die Mechanismen der unterschiedlichen Modifier während des SFE-Prozesses sind äußerst komplex und noch nicht vollständig geklärt. Nemoto et al. (1997 [59]) erwähnten vier mögliche Aspekte dazu:

- (a) Die Erhöhung der Polarität des überkritischen Fluides bewirkt eine bessere Löslichkeit der polaren Analyten.
- (b) Aktive Zentren an den Oberflächen können durch den Modifier belegt werden und somit die Readsorption oder Verteilung von Analyten in der Matrix verhindern.
- (c) Die Matrix kann vom Modifier verändert werden und somit könnten neue Wege entstehen, die es dem Kohlendioxid ermöglichen, besser in die Matrix einzudringen.
- (d) Die Bindungsenergie des Komplexes PSM-Matrix könnte bei Zugabe eines Modifiers begünstigt werden und somit eine Desorption des Analyten aus der Matrix hervorrufen.

Die Aspekte unter (a) und (b) werden auch von Bøwadt et al. (1995 [33]) erwähnt und Aspekt (d) von Lee et al. (1993 [74]), der vor allem bei der Anwendung von Säuren auftritt.

Nemoto et al. (1997 [59]) fanden bei ihren Extraktionsversuchen in der Regel, dass Modifier mit OH-Gruppen sehr effektiv sind.

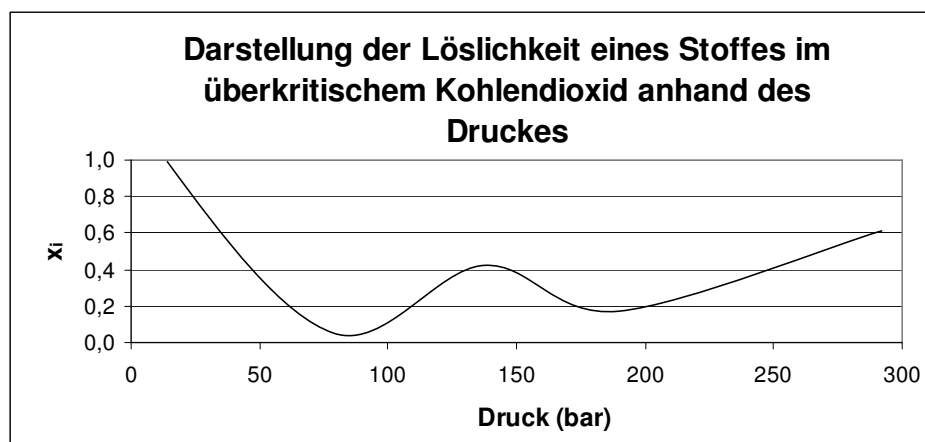
Die in der Literatur zur Prozessoptimierung eingesetzten Mengen an Modifiern sind sehr unterschiedlich: z. B. 30 % Methanol [61] für Atrazine ( $\text{Log } K_{o/w} = \text{ca } 2.5$  [71]), 5 % Methanol oder Ethanol für PCBs und PSM [62]. Bei der Extraktion von Diuron konnte ein Maximum an Extrahierbarkeit bei Einsatz von 10 % Methanol nachgewiesen werden [65]. Paschke et al. (1992 [75]) erzielten sehr gute Ergebnisse bei der Extraktion von PAHs aus Böden, als sie 10 % Methanol durch 10 % Toluol ersetzten. Bøwadt und Hawthorne [33]) berichten über die Zugabe von 1–10 % Methanol, wobei die Löslichkeiten umso höher waren, je weniger Modifier zugesetzt wurde. Diese Autoren postulieren auch, dass Art und Identität des Modifiers wesentlich wichtiger als die zugesetzte Menge sind.

### **pH-Wert**

Langenfeld et al. (1994 [95]) beobachteten beispielsweise, dass der Zusatz sowohl saurer als auch basischer Modifier die Extraktionsausbeuten von PCBs beeinflusst. Auch Alzaga et al. (1995 [98]) konnten eine Korrelation bei der Bindung von Pirimicarb an Bodenproben, abhängig von den eingestellten pH-Werten, feststellen.

## Löslichkeit

Die Löslichkeit von Substanzen in HD-CO<sub>2</sub>-Verfahren ist die Summe von zwei Faktoren, der Flüchtigkeit der Substanz und des Lösevermögens des Fluids (d. h. die Menge an Substanz, die vom Fluid aufgenommen werden kann). Janda et al. (1993 [76]) konnten beim Auftragen der Löslichkeit gegen den Druck eine „W“-Form beobachten (Abb. 5). Ab einer bestimmten Dichte sinkt die Löslichkeit des zu lösenden Stoffes bei Erhöhung des Druckes, bis sie wiederum steigt. Danach sinkt dieser Wert wieder geringfügig ab, bis er endgültig ansteigt. Dieses Verhalten erklärt sich daraus, dass in bestimmten Druckbereichen Kräfte auftreten, die das Auspressen der Inhaltsstoffe aus dem Lösungsmittel (Fluid) hervorrufen.



**Abb. 5:** Schematische Darstellung der Löslichkeit gegen den Druck (nach Janda et al.1993 [76]).

## Abscheiden und Auffangen der Probe

Das Problem beim Abscheiden und Auffangen der Probe wird bestimmt durch die große Erhöhung des Volumens, verbunden mit der plötzlichen Erniedrigung der Temperatur, die bei der Entspannung von überkritischen Gasen immer stattfindet. Diese Effekte könnten dazu führen, dass die zu extrahierenden Substanzen im Separator nicht in ausreichendem Maße oder nicht reproduzierbar aufgefangen werden [55].

Nach Koinecke et al. (1997 [58]) können zum Auffangen zwei Methoden angewendet werden: Lösungsmittelauffang und Feststoffauffang. Im ersten Fall ist es schwierig, das korrekte Lösungsmittel bzw. -gemisch zu finden, während der zweite Fall noch etwas aufwändiger ist, da die Analyten zusätzlich aus dem Feststoff wieder gewonnen werden müssen. Koinecke et al. beobachteten, dass Ethylacetat ein gutes Elutionsmittel für an Feststoffe adsorbierte PSM ist. Van der Velde et al. (1992 [67]) untersuchten die Wiederfindungsraten beim Auffangen in

Hexan und iso-Octan, wobei mit iso-Octan bessere Ergebnisse erzielt wurden. Bei der Untersuchung der Auffangkapazität von 60 Substanzen in fünf Lösungsmitteln wurden nach Langenfeld et al. (1992 [84]) die besten Wiederfindungsraten bei Anwendung von Methylenchlorid beobachtet. Je nach Extraktionserfolg ergab sich die Reihenfolge: Methylenchlorid > Chloroform > Aceton > Methanol > Hexan.

Burford et al. (1992 [93]) vermieden das beim Auffangen durch Expansion des Gases häufig auftretende Einfrieren in einem schonend beheizten Rohr, das in den Separator mündete.

## 2.2.4 Anwendung überkritischer Gase in der Umwelttechnologie

Zu den zahlreichen Applikationsbeispielen überkritischer Gase gehören zwei bedeutende Applikationsbereiche in der Umwelttechnologie: die Analytik und die Abfallreinigung (Dekontaminierung der Abfälle).

### *Analytik*

Die *HD-Chromatographie* wurde vor allem Ende der 1980er und bis Mitte der 1990er Jahre untersucht. Ausgangspunkt für den „Boom“ der Chromatographie mit überkritischen Gasen (SFC) war die Arbeit von Gouw und Jentoft (1972 [81]), die einen bedeutenden Anwendungsbereich für diese analytische Nachweismethode voraussagten. Jedoch stellte sich Anfang der 90er Jahre heraus, dass die Anwendungsbreite durch die physikalisch-chemischen Beschränkungen des überkritischen Fluids begrenzt ist (Smith, 1999 [79]).

Eine weitere Anwendungsform zur Aufreinigung von Proben in der Umweltanalytik ist die Extraktion mit überkritischen Gasen (SFE). Die meisten Arbeiten beziehen sich auf diesen Bereich (z. B. Clifford [41], Hawthorne, [55], [56] Hopper [90], [91], Langenfeld [73], Lehotay [27], [28], [78], [101], [102]). Ziel dieser Arbeiten war es, eine nachhaltige analytische Rückstandsbestimmungsmethode zu entwickeln, um den hohen Verbrauch an Lösungsmitteln der bisher vorhandenen Methoden zu reduzieren. Luque de Castro und Jiménez-Carmona (2000 [82]) berichten zum Beispiel von einer erfolgreichen Abtrennung der PSM von der Matrix, aber auch vom Vorhandensein fettlöslicher Stoffe im Extrakt, die eine erfolgreiche Analyse (vor allem mit gaschromatographischen Methoden) verhindern. Der Trend zur Lösung dieses Problems war und ist bis heute die Einführung eines *Cleanup*-Schrittes, mit dessen Hilfe die lipophilen Substanzen durch Einsatz eines Adsorptionsmittels

aus den Extrakten entfernt werden. Eine erfolgreiche Trennung gelang jedoch bis heute nur in Einzelfällen.

Nach Lehotay (1997 [78]) werden weltweit 100.000 – 200.000 Analysen pro Jahr zur Rückstandskontrolle durchgeführt. Dies führt zur Belastung der Umwelt mit etwa  $10^8$  l/Jahr an Chemikalienlösungen. Deshalb hat die Entwicklung einer nachhaltigen Multirückstandsbestimmungsmethode nach wie vor eine große Bedeutung. So berichten Barnabas et al. (1994 [62]) von der Anwendung der HD-Extraktion zur selektiven Extraktion von OCs, PCBs, PCDDs, PCDFs und PAHs. Berdeaux et al. (1994 [53]) wiesen z. B. Sulphonylurea-PSM bei einem Extraktionsdruck unter 220 bar mit Wiederfindungsraten von unter 50 % nach.

### *Abfallreinigung*

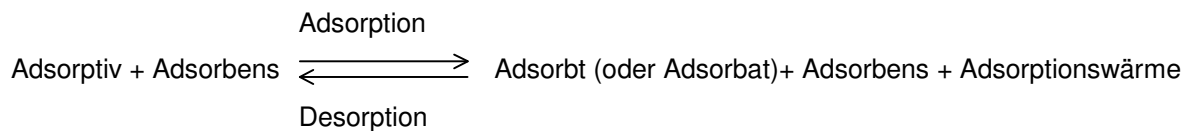
Zwar sind Dekontaminierungsverfahren im Umweltbereich technologisch sehr weit entwickelt, doch scheiterte ihr praktischer Einsatz bis heute oft an den zu hohen Kosten. In den 90er Jahren wurden große Anstrengungen unternommen, um belastete Böden mit Hilfe der HD-Extraktion aufzureinigen. Lee et al. (1993 [74]) demonstrierten eine erfolgreiche Extraktion von PAHs aus Boden- und Sedimentproben, die in der Hälfte der für eine konventionelle Soxhlet-Extraktion aufzuwendenden Zeit und ohne Lösungsmittelverbrauch gelang. Hansen et al. (1995) [83]) entwickelte eine Falle aus Adsorptionsmitteln, um Aerosole aus der Luft aufzufangen, die darauf mit SFE-GC/MS aus der Falle desorbiert und analysiert werden konnten. Auch aus Dieselerückständen wurden von Paschke et al. (1992 [75]) die mutagenen PAHs mittels SFE erschöpfend extrahiert. Diese Stoffe treten beispielsweise in dieselbetriebenen Verbrennungsanlagen wie Heizkesseln und in Motorrückständen auf und stellen ein großes Problem für die menschliche Gesundheit dar.

Wie schon erwähnt, ist die Extraktion mit überkritischen Gasen vor allem bei mittel- bis stark unpolaren Stoffen erfolgreich. Da die überkritischen Fluide nach der Extraktion wieder in den Gaszustand gebracht werden können, sind in den Extrakten praktisch keine Lösungsmittelreste mehr enthalten. Das Gas wird oft in einem Tank aufgefangen und kann wieder verwendet werden. Diese Prozesseigenschaften machen aus der SFE eine kontinuierlich zu betreibende und umweltfreundliche Technologie, mit deren Hilfe künftig Industrieprozesse nachhaltig durchzuführen sind.

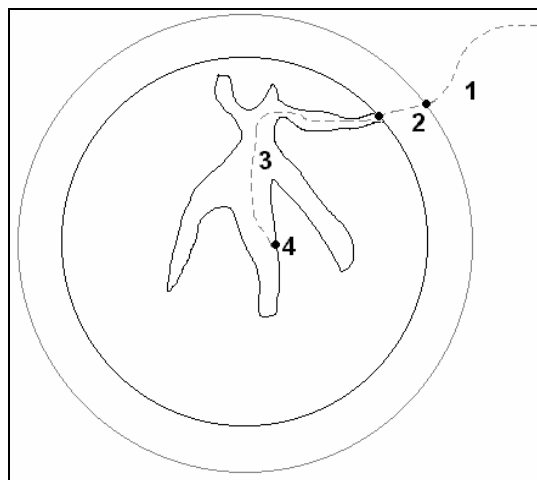
## 2.3 Adsorption

### 2.3.1 Definition und physikalische Vorgänge

Unter Adsorption ist die Anlagerung und Bindung von Stoffen aus fluiden Phasen an feste Oberflächen poröser grenzflächenaktiver Feststoffe zu verstehen. Es handelt sich dabei um einen zweidimensionalen Oberflächeneffekt an festen Phasen. Wenn dabei auch ein dreidimensionaler Volumeneffekt auftritt, spricht man auch von Okklusion oder Absorption (Mersman, 1988 [133]). Die zu adsorbierende Komponente wird im freibeweglichen Zustand „Adsorptiv“, im gebundenen Zustand „Adsorbt“ genannt. Den als Hilfsstoff fungierenden Feststoff bezeichnet man als „Adsorbens“. Unter „Adsorbat“ versteht man den Komplex aus Adsorbt und Adsorbens (Bathen, 2001 [149]). Der umgekehrte Vorgang heißt Desorption. Sattler [38] definiert die Adsorption als ein thermisches Trennverfahren, das hauptsächlich zur selektiven Abtrennung von in Gasmischen enthaltenen Gaskomponenten (in nur geringem Ausmaß) benutzt wird und z. B. nach Maurer (2000 [150]) durch folgende Gleichung beschrieben werden kann:



Der Adsorptionsprozess an einem Feststoffpartikel kann nach Baup et al. (2000 [151]) und Sattler (1995 [38]) in vier Teilschritten vollzogen werden (Abb. 6):



**Abb. 6:** Teilschritte der Adsorption an einem Feststoff.

- (1) Äußerer Stofftransport: Beim Stofftransport an die äußere Grenzschicht geschehen gleichzeitig Diffusion und Konvektion. Die konvektive Progression scheint – im Vergleich zur diffusiven Progression des Prozesses – sehr schnell zu verlaufen.
- (2) Grenzfilmdiffusion: Der Stofftransport durch die Grenzschicht erfolgt durch das lineare treibende Kraftmodell, definiert durch den Stoffübergangskoeffizienten  $k_f$ .
- (3) Stofftransport in den Poren des Adsorbens: Verschiedene Diffusionsmechanismen laufen parallel und nacheinander ab. In diesem Teilschritt herrscht Diffusion.
- (4) Die eigentliche Adsorption: Sie ist eine exotherme Anlagerung des Adsorptivmoleküls an das Adsorbens. Trotzdem wird die Adsorptionskinetik nicht unbedingt von diesem Teilschritt limitiert [151], [38].

In der Literatur werden die Adsorptionsverfahren nach physikalischen Kriterien oder nach verfahrenstechnischen Gesichtspunkten klassifiziert [149].

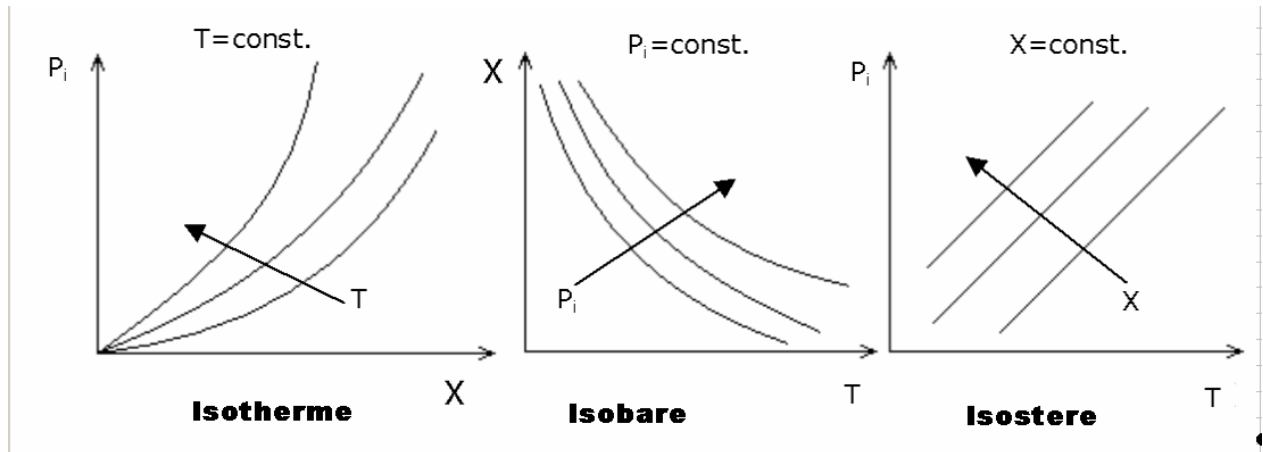
Der Klassifikation nach Bindungsenthalpien liegen physikalische Kriterien zugrunde. Mit Chemisorption, Physisorption und Kapillarkondensation sind dabei drei Fälle zu unterscheiden. Andere physikalische Kriterien sind die Klassifizierung nach Mechanismen bzw. Selektivitäten. Kast (1988 [152]) und Yang (1987 [153]) nennen vier Mechanismen der Adsorption: statischer Kapazitätseffekt, Gleichgewichtseffekt, sterischer Effekt und kinetischer Effekt.

Bei der Einteilung der Adsorptionsverfahren nach verfahrenstechnischen Gesichtspunkten lassen sich drei Fälle unterscheiden: Konzentration des Adsorptivs in der fluiden Phase, Art der Regeneration des Adsorbens und Adsorbensbauformen. Zu den letzteren gehören Festbett-Adsorber, Rotor-Adsorber, Wanderbett-Adsorber, Wirbelschicht-Adsorber und Flugstrom-Adsorber (Bathen und Breitbach, 2001 [149]).

### 2.3.2 Thermodynamik der Adsorption

Die thermodynamische Darstellung (Abb. 7) erfolgt über Adsorptionsisothermen (Beladung mit Adsorptiv,  $X$  über dem Partialdruck für Gase,  $P_i$  oder der Konzentration für Flüssigkeiten,  $C_A$  bei konstanter Temperatur,  $T$ ), Adsorptionsisobaren (Beladung mit Adsorptiv,  $X$  über der

Temperatur,  $T$  bei konstantem Druck,  $P_i$ ) und Adsorptionsisosteren (Partialdruck für Gase,  $P_i$  oder Konzentration für Flüssigkeiten,  $C_A$  über der Temperatur,  $T$  bei konstanter Beladung mit Adsorptiv,  $X$ ).



**Abb. 7:** Thermodynamisches Gleichgewicht bei der Adsorption.  
( $X$  = Beladung mit Adsorptiv;  $T$  = Temperatur;  $P_i$  = Partialdruck Gas)

### 2.3.3 Adsorptionsisothermen

Die Isothermen können allgemein bzw. nach Langmuir und Freundlich durch folgende Gleichungen beschrieben werden:

Allgemein [156]	$q_s = \frac{K * C}{A + B * C^D} Q_{mon}$	$q_s = \frac{K * C}{A + B * C^D}$	Gleichung 5
-----------------	---	-----------------------------------	-------------

Langmuir	$X = \frac{b * p}{1 + b * p} X_{mon}$	$q = \frac{b * C}{1 + b * C} Q_{mon}$	Gleichung 6
----------	---------------------------------------	---------------------------------------	-------------

Freundlich	$X = K * p^{1/n}$	$q = K * C^{1/n}$	Gleichung 7
------------	-------------------	-------------------	-------------

$q_s$  = Adsorbtmenge an Oberfläche;  $K$  = Verteilungskoeffizient;  $C$  = Konzentration an Adsorptiv;  $A$ ,  $B$  und  $b$  = prozessbedingte Konstanten nach Maurer;  $Q_{mon}$  = adsorbierte Menge bei monomolekularer Bedeckung;  $X$  = Beladung mit Adsorptiv;  $X_{mon}$  = Beladung mit Adsorptiv bei monomolekularer Bedeckung;  $p$  = Druck;  $n$  = Freundlich-Exponent

Wenn die Adsorption nur bis zur Ausbildung einer monomolekularen Bedeckung abläuft, wenn es sich also um eine lokalisierte Adsorption handelt, alle Adsorptionsplätze ( $X = \text{const.}$ ) energetisch gleichwertig sind und die Desorptionshäufigkeit von adsorbierten Teilchen

unabhängig von der Besetzung der Nachbarplätze ist, sind die Voraussetzungen zur Formulierung der Physisorption nach Langmuir gegeben (Gleichung 6; Maurer, 2000 [150]).

Die Isotherme von Freundlich (Gleichung 7) wurde ursprünglich zur Beschreibung „Adsorptionsgleichgewicht aus der Flüssigphase“ benutzt (durch logarithmische Linearisierung) und ist nur in einem limitierten Rang gültig (Yu et al. 2002, [157]). Andere in der Literatur behandelte Gleichgewichtsisothermen, hier nicht näher erläutert, sind die von Toth [157], BET [133], Redlich-Peterson [158], Hill-de Boer [150], Sips [150] und Dubinin-Askakhov [38].

### 2.3.4 Adsorptionskinetik

#### Mathematische Darstellung der Kinetik

Die mathematische Darstellung der Kinetik erfolgt auf zwei verschiedene Arten: entweder wird der Transportprozess als ein globaler Stoff-/Wärmedurchgang (Homogenes Modell) oder als Kombination von verschiedenen parallel bzw. sequentiell ablaufenden Mechanismen beschrieben (Heterogene Modelle I und II).

*Dual-Widerstands-Modell, Homogenes Modell: LDF-Ansatz*

Der LDF-Ansatz (*Linear-Driving-Force*) beschreibt den gesamten Stofftransport zwischen Adsorbens und der fluiden Phase, da es in der Praxis nicht immer möglich ist, alle Diffusions-Mechanismen zu bestimmen. Der gesamte Stofftransportwiderstand ( $\partial X/\partial t$ ) wird in den Grenzfilm verlagert. Alle Transportmechanismen werden mit einem Koeffizienten ( $k_{eff}$ ), einer spezifischen Oberfläche ( $A_p/\rho_p$ ) und einer treibenden Konzentrationsdifferenz ( $X - X_{Gl}$ ) formuliert [149]:

$$\frac{\partial X}{\partial t} = k_{eff} \cdot \frac{A_p}{\rho_p} \cdot (X - X_{Gl}) \quad \text{Gasphase} \qquad \frac{\partial q}{\partial t} = k_{eff} \cdot \frac{A_p}{\rho_p} \cdot (q - q_{Gl}) \quad \text{Flüssigphase} \qquad \text{Gleichung 8}$$



### *Heterogenes Modell I*

Der Stofftransport wird in diesem Modell vom Transport an den Grenzfilm (Grenzfilmdiffusion) und vom Stoff-/Wärmeübergang durch den Grenzfilm (Oberflächendiffusionsmodell) bestimmt [154].

### *Heterogenes Modell II*

Der Stofftransport wird hier vom Stofftransport in den Poren und seiner Kinetik durch fünf verschiedene Mechanismen (1) – (5) bestimmt, die parallel oder nacheinander ablaufen (Bathen u. Breitbach, 2001 [149]):

- (1) **Viskose Strömung  $D_{\text{lam}}$**  (ausschließlich in der Gasphase für  $d_{\text{Pore}} > 10\lambda_F$ ;  $d$  = Durchmesser,  $\lambda$  = freie Weglänge): Sie tritt auf, wenn auf das Porensystem in dem Adsorbens eine äußere Druckdifferenz ausgeübt wird. In den Poren entsteht dann eine laminare Strömung, die über das Hagen-Poiseuille'sche Gesetz beschrieben werden kann.
- (2) **Knudsen-Diffusion  $D_{\text{Kn}}$**  (ausschließlich in der Gasphase für  $d_{\text{Pore}} < 0,1\lambda_F$ , Knudsen-Zahl  $\text{Kn} > 10$ ): Sie findet ausschließlich in Poren, deren Durchmesser deutlich kleiner als die freie Weglänge sind, statt. Die Stöße zwischen Porenwand und Adsorptiv-Molekül dominieren den Stofftransport.
- (3) **Freie Porendiffusion  $D_{\text{Diff}}$**  ( $d_{\text{Pore}} > 10\lambda_F$ ,  $\text{Kn} < 0,1$ ): In diesem Fall dominieren die Stöße der Adsorptiv-Moleküle untereinander.
- (4) **Oberflächendiffusion  $D_S$** : Die Bindungskräfte sind maßgebend für diesen Transport. Man unterscheidet hier zwischen Kapillarkondensation und monomolekularer Bedeckung.
- (5) **Interkristalline Diffusion  $D_Z$**  (auch als aktivierte Spaltdiffusion bekannt): Sie findet in Mikroporen, deren Durchmesser den Durchmessern der Adsorptiv-Moleküle entsprechen, statt. In der Flüssigphase wird zwischen interkristalliner und Oberflächendiffusion nicht unterschieden.

### **Graphische Beschreibung der Dynamik**

Eine gekoppelte Konzentrations- und Beladungsfront wandert im einfachsten Fall isotherm durch den Adsorber. Diese Front wird in drei Zonen unterteilt (Abb. 8; Bathen, 2001 [149]).

- (1) Gleichgewichtszone 1: unbeladenes Adsorbens, unbeladene Gasphase
- (2) Massentransferzone: Hier findet der Adsorptionsprozess statt. Diese Zone wandert durch den Adsorber und verdrängt die Gleichgewichtszone 1.
- (3) Gleichgewichtszone 2: vollständig beladenes Adsorbens, vollständig beladene Gasphase.

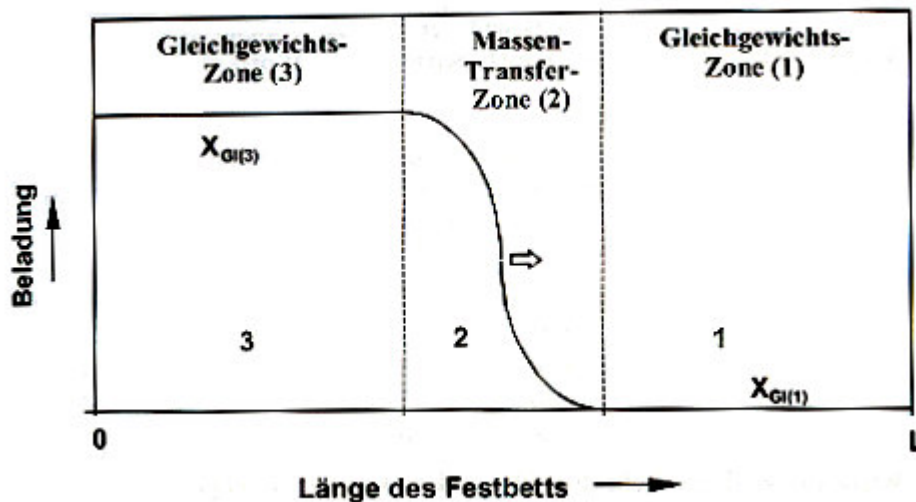


Abb. 8: Axiales Konzentrationsprofil in einem Adsorber (Durchbruchskurve).

Das Profil der Durchbruchskurve wird thermodynamisch dadurch beeinflusst, dass die Durchbruchskurve bei einer steigenden Isothermen abgeflacht wird, weil die Adsorptionsgeschwindigkeit sinkt. Man spricht in diesem Fall von einer günstigen Isotherme (Stichmair u. Tourneau, 2000 [155]). Aus kinetischer Perspektive betrachtet wird die Massentransferzone bei steigender Hemmung des Stofftransports breiter [149].

### 2.3.5 Technische Adsorbentien

Hopper (1999 [90]) setzte Florisil zur Adsorption von unerwünschten Lipiden in der Rückstandsanalytik ein. Die in seiner Untersuchungsprobe enthaltenen PSM konnte er dann problemlos eluieren und analysieren. King et al. [92] reinigten ihre Extrakte vor der Analyse mit Aluminiumoxid.

Giaya et al. (2000, [159]) untersuchten den Einfluss des Wassergehalts in  $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$ -Mischungen (Zeolite) mit der Hypothese, dass in einer wasserhaltigen mobilen Phase im Verlauf der Adsorption eine Anlagerung von Wasser an das Adsorbens stattfinden sollte und somit eine Erhöhung seiner hydrophilen Eigenschaften zu erwarten sei. Diese Hypothese bestätigte sich in den praktischen Versuchen jedoch nicht.

### 2.3.6 Kombination der HD-Extraktion mit Adsorptionsmaterialien

Die Literatur bezieht sich bisher überwiegend auf die Anwendung der HD-Extraktion als schnelles und umweltfreundliches *Cleanup*-Verfahren für die Analytik. Der zusätzliche *inline*-Einsatz von Adsorptionsmitteln stammt überwiegend aus der traditionellen Umweltanalytik, in der die Proben trotz HD-*Cleanup* noch immer unerwünschte Stoffe (Artefakte) aufwiesen. Ein großer Teil der Literatur zu diesem Thema behandelt jedoch nur spezifische Anwendungsfälle im Rahmen von Standard-Methoden (Beispiele: DFG S19 in Deutschland [13] und FDA/AOAC in den USA [63]).

Lino und Noronha (1999 [88]) fügten während einer Lösungsmittelextraktion einer „gespikten“ Probe eine Florisilpackung *inline* zu, um an dieser die dotierten PSM zu adsorbieren, diese anschliessend herauszueluieren und mittels GC/ECD quantitativ zu bestimmen. Dabei erzielten sie Wiederfindungsraten von  $56\pm 26\%$  bis  $118\pm 5\%$ . Die Gaschromatogramme ließen keine wesentlichen Verunreinigungen erkennen.

Zu ähnlichen Ergebnisse gelangten Ling et al. (1999 [89]) bei der HD-Extraktion von *Glycyrrhizae radix*, mit anschließender Adsorption an Florisil, C<sub>18</sub>, Kieselgel und Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch. Sie fanden, dass die saubersten Extrakte bei Anwendung von Florisil nachzuweisen waren, mit Wiederfindungsraten von  $78\pm 27\%$  –  $121\pm 31\%$ . Miao et al. (1995 [97]) erreichten ebenfalls sehr gute Ergebnisse bei der Adsorption von Kontaminanten an Florisil während der HD-Extraktion. Eller et al. (1997 [99]) konnten bei Anwendung eines Entwässerungsmittels (MgSO<sub>4</sub> mit Hydromatrix) die unpolaren Stoffe nur sehr schlecht aus realen Proben extrahieren, obwohl die Ergebnisse mit dotierten Proben erfolgversprechend waren. Die Autoren begründeten dieses Phänomen mit der Alterung der Probe, da die PSM mit der Zeit komplexe Bindungen mit der Matrix eingehen und dadurch schlechter extrahierbar werden.

Die für die vorliegende Arbeit eingesetzten, relevantesten 19 adsorptiven Dotiermatrices sind in Tabelle 5 aufgelistet. Die meisten dieser Stoffe werden immer dann in der Literatur erwähnt, wenn es um Bestimmung oder Abtrennung von PSM aus Extrakten geht. Einige Stoffe, wie z.B. Seesand oder Cellulose, werden jedoch häufig auch als Trägerstoffe zur Dotierung eingesetzt.

Tab. 5: Kenngrößen von 19 in der vorliegenden Arbeit eingesetzten Adsorptionsmitteln.

Adsorbens	Spezifische Oberfläche (m <sup>2</sup> /g)	Partikelgrösse (µm)	Wichtigste Bestandteile	Charakter	CAS-Nummer
<b>Aus Kohlenstoff</b>					
Aktivkohle	1000	2600	C	U	---
Molekularsieb	500	---	Kohlenstoffderivat	U	---
<b>Oxidische silikathaltige</b>					
Aerosil R972	110	0,016	SiO <sub>2</sub> -C <sub>2</sub> H <sub>6</sub>	U	68 611-44-9
Aerosil 380	380	0,007	SiO <sub>2</sub>	P	112 945-52-5
Aerosil 130	130	0,016	SiO <sub>2</sub>	P	112 945-52-5
Kieselgel 60	500	131,5	SiO <sub>2</sub>	P	7631-86-9
Glasperlen	2	4000	Silikathaltig	P	---
Seesand	---	60	SiO <sub>2</sub>	P	14464-46-1
<b>Oxidische aluminiumhaltige</b>					
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> neutral	150	3350	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	P	1344-28-1
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> sauer	---	---	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	P	---
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> basisch	---	---	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	P	1344-28-1
<b>Oxidische Mischungen</b>					
Kieselgur	1,5	63	SiO <sub>2</sub> +( Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	P	---
Bleicherde	400	---	AlSiO <sub>2</sub>	P	---
Mullite M72	12	0,6	AlSiO <sub>2</sub>	P	---
Celite 545	3,9	60	90% SiO <sub>2</sub> + 5% Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	P	68855-54-9 91053-39-3
Florisol	300	13-30	MgSiO <sub>2</sub>	U	1343-88-0
<b>Organische Polymere</b>					
Amberlite XAD16	750-800	635	(C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> ) <sub>n</sub>	U	104219-63-8
Stärke	0,47	188	Organisch	U	---
Cellulose	0,85	63	Organisch	U	---

U = unpolarer Charakter; P = polarer Charakter

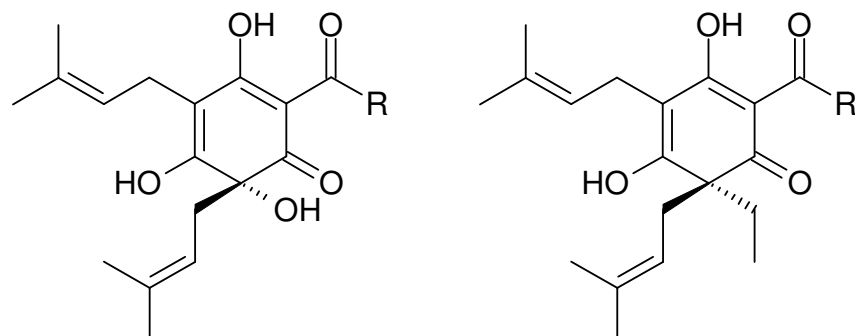
## 2.4 Hopfen (*Humulus lupulus* L.)

Hopfen gehört zur Familie der *Cannabinaceae*, die aus zwei Gattungen besteht: *Humulus* und *Cannabis*. *Humulus* weist zwei Spezies auf: *Humulus lupulus* L. und *Humulus japonicus* Sieb & Zucc. Es handelt sich um eine Pflanze mit männlichen und weiblichen Merkmalen [164].

Deutschland zählt zu den größten Anbauländern für Hopfen mit einem Weltanteil von 30 %, wobei die Hallertau mit 15.510 ha das größte zusammenhängende deutsche Hopfen-

anbaugbiet ist (Bezugsjahr: 2000). Weitere wichtige Hopfenanbauländer sind die USA mit 20 % Weltanteil sowie USSR, die Tschechische Republik und China [162], [164]. Die weltweite Anbaufläche für Hopfen 2002 betrug 56.000 ha (bei 1.85 t/ha = 103.600 t) [168]. Im Jahr 2001 wurden im Bundesgebiet 31.739 t Hopfen geerntet, davon 5.671 t der in der vorliegenden Arbeit benutzten Sorte Perle, welche die am zweithäufigsten angebaute Sorte ist; 8.815 t der Sorte H. Magnum und 1.193 t der Sorte Nugget [166]. Im Jahr 20002 lagen die  $\alpha$ -Säurewerte für H. Magnum bei 13,3 %, für Perle bei 7,9 % und für Nugget bei 11,1 %.

Durchschnittlich setzt sich Hopfen aus 10 % Wasser, 17 % Harzen, 0,5 % etherischen Ölen, 4 % Gerbstoffen, 2 % Kohlenhydraten, 2 % Pektin, 0,1 % Aminosäuren, 15 % Eiweißstoffen, 8 % Asche, und 43 % Cellulose zusammen [163], wobei die wichtigsten Stoffe im Hopfen, die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren, zu den Harzen gehören [161]. Die Gehalte der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren liegen jeweils bei 12–14 % und 4–6 % für Nugget sowie 7–9,5 % und 4–5 % für Perle [164]. Die chemischen Strukturen der wichtigsten  $\alpha$ -Säuren, Humulon und Cohumulon, sowie  $\beta$ -Säuren, Lupulon und Colupulon, sind in der Abbildung 9 dargestellt.



Gruppe **R**

$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$

$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$

$\alpha$ -Säuren

Humulone

Cohumulone

$\beta$ -Säuren

Lupulone

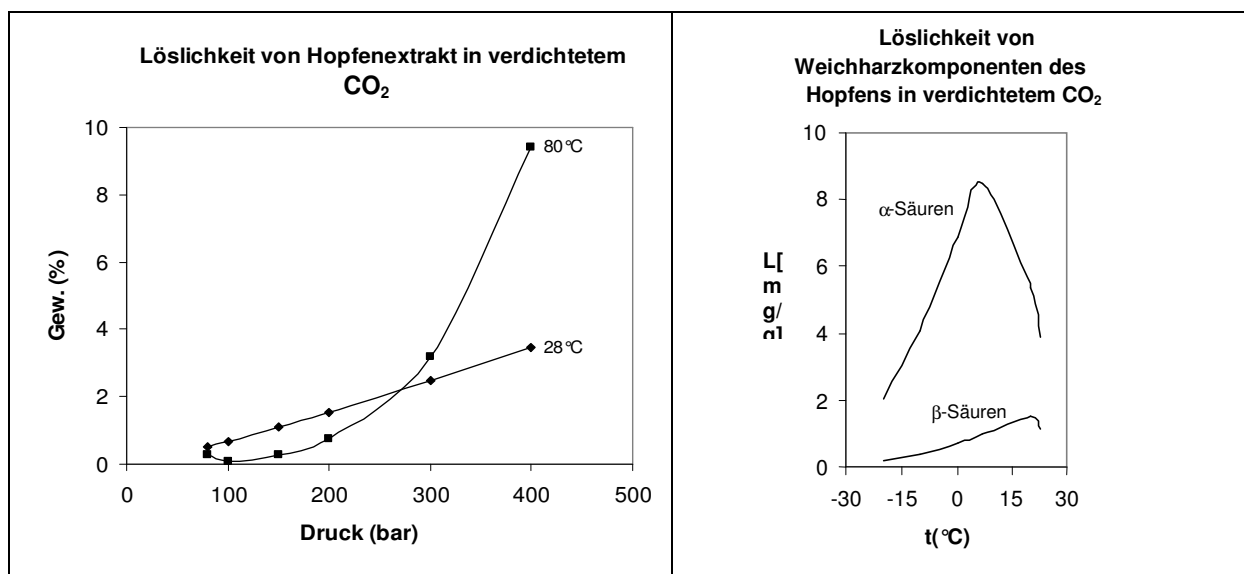
Colupulone

**Abb. 9:** Chemische Strukturen der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren im Hopfen [161].

Hopfen wird in Form von Pellets [171], Ethanolextrakten [169] und HD-Extrakten [36] vermarktet. Wegen seiner gesundheitsfördernden Eigenschaften gewann die Vermarktung von Rohhopfen in den letzten Jahren auch im Wellness-Bereich an Bedeutung. Hopfen gilt beispielsweise als antikanzerogen, antimikrobiell, antioxidativ, antithrombotisch, immunmodulierend, entzündungshemmend, blutdrucksteuernd und blutglucoseregulierend [170]. Schur (2000 [172]) beschreibt die Hopfenbitterstoffe als unpolare und die Hopfenpolyphenole als Inhaltsstoffe mit polaren Eigenschaften. Während der Hopfen-HD-

Extrakt mindestens 95 % an  $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren [175] enthält, zeigen Ethanol-Extrakte eine gute Stabilität für  $\beta$ -Säuren, jedoch einen geringen Verlust an  $\alpha$ -Säuren und einen kleinen Anstieg des Iso- $\alpha$ -Säuren-Anteils [169]. Das Vermarktungsformat hängt heutzutage in erster Linie von den vertraglich vereinbarten Kriterien der Kunden ab.

Krüger (1980 [173]) und Mc Rae et al. (1980 [174]) beschäftigten sich mit der HD-Extraktion von Hopfen und seinen Inhaltsstoffen. Krüger stellte fest, dass die Ausbeute bei einer Extraktionstemperatur von 28 °C linear mit dem Druck anstieg. Ab einem Extraktionsdruck von 270 bar stieg mit Erhöhung der Extraktionstemperatur die Extraktionsausbeute dagegen exponentiell an (Abb. 10). Deshalb wurden, basierend auf diesen Ergebnissen, Drücke ab 270 bar und Temperaturen ab 28 °C für die industrielle Gewinnung der Hopfenharze für angemessen befunden.



**Abb. 10:** Löslichkeiten von Hopfen und Hopfenkomponenten in verdichtetem CO<sub>2</sub> (Krüger, 1980, Mc Rae, 1980 [173], [174]).

Die Ergebnisse von Mc Rae zeigen dagegen, daß niedrigere Temperaturen für die Gewinnung von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren günstiger sind. Klüsters (1983 [175]) beschreibt die sortentypische Übertragung des gesamten Aromaspektrums aus dem Rohhopfen in den Extrakt als einen der entscheidenden Vorteile der HD-Methode.

Auf die Qualität des Hopfen wird heute streng geachtet. Probleme stammen hauptsächlich aus vier Bereichen: der Behandlung mit Zusatzstoffen, der Umweltkontamination, der

Nitratspeicherung aus der Düngung und PSM-Rückständen [171]. In Deutschland sind in ein Genehmigungsverfahren für PSM drei Behörden involviert: Biologisches Bundesamt, Bundesgesundheitsamt und Bundesumweltamt. Im Hinblick auf Rückstände aus dem Hopfen kommen zwei extreme Kontaminationsmodelle in Betracht: entweder gehen die Rückstände ins Bier über oder sie werden mit dem Hopfentrub in die Malztreber überführt. Aus den Daten der Tabelle 6 lässt sich ein entscheidender Vorteil der Hopfenextrakte ersehen: die polaren PSM sind fast vollständig eliminiert (Forster et al., 1990 [171]).

**Tab. 6:** Verbleib von PSM des Rohhophens in verschiedenen Hopfenprodukten [171].

	<b>Polare PSM (Mittelwert in %)</b>	<b>Unpolare PSM (Mittelwert in %)</b>
Pellets Typ 90	100	100
Pellets Typ 45	50	50
Ethanol-Harzextrakt	> 10	60-100
CO <sub>2</sub> -Extrakt	0	bis zu 100

Bei der kontinuierlichen Überwachung der Hopfenqualität auf PSM-Rückstände können derzeit vor allem Substanzen wie Methidathion, Endosulfan, Cypermethrin und lambda-Cyhalothrin im Hopfen nachgewiesen werden [171]. Daher wurde versucht, diese PSM bereits während der Extraktion aus dem Hopfen zu entfernen. Williams et al. [176] konzentrierten sich auf die Verringerung der Konzentration von in den HD-Extrakt übertragenen bzw. angereicherten PSM durch Veränderung einiger Extraktionsparameter. Sie konnten in ihren Experimenten u.a. hohe Aufkonzentrierungsraten an Dicofol, Endosulfan und Cyhalothrin nachweisen. Forster et al. [195] patentierten in diesem Zusammenhang ein Verfahren zur Reduzierung der Konzentration der lipophilen Substanz Folpet im Hopfenextrakt durch ein Adsorptions-Trennverfahren.

## 2.5 Chili (*Capsicum frutescens*)

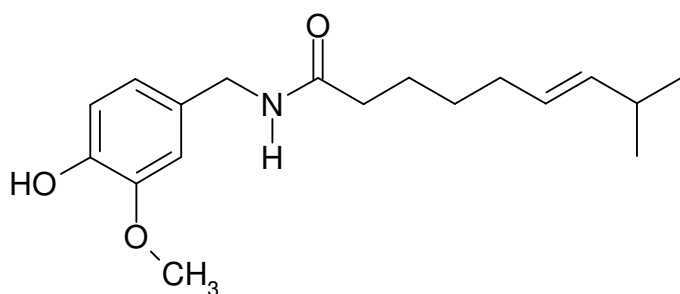
Chili gehört zur Familie der *Solanaceae*. Es gibt mehrere Varietäten, wie *red* und *green* Chili (*Capsicum annuum*) oder *bird* Chili (*Capsicum frutescens*) [177]. Chili wird in Ländern wie Ungarn, Spanien, Mexiko und Japan angebaut [37]. Im Jahr 1983 hatte Asien den größten Exportanteil an *Capsicum annuum* mit 70.014 t, aber auch der Import war in Asien mit 63.348

t anteilig am höchsten. Europa stand mit Export und Import an zweiter Stelle, mit einem Wert von jeweils ca. 30.000 t. Amerika importierte deutlich mehr *Capsicum annuum* (15.275 t) als exportiert wurde (3.898 t). In Afrika lag im Jahr 1983 der Import ebenfalls höher als der Export (Rehm, 1989 [160]).

Die Anwendung von Chili als Gewürz ist weit verbreitet, vor allem wegen des scharfen Geschmacks, der aus den Capsaicinoiden stammt. Eine Reihe physiologischer Wirkungen werden diesem Gewürz zugeschrieben, wie zum Beispiel gegen Koliken und Kreislaufprobleme (Borrelli, 2000 [178]), aber auch gegen neurogenische Schmerzen (Iorizzi et al. 2001 [179]).

Schon 1923 stellten Nelson et al. [180] die Existenz von Capsaicin als Hauptkomponente von *red* Chili fest. Kosuge et al. [181] berichten 1964 von einem zweiten Bestandteil, dem Dihydrocapsaicin, und von einer dritten Komponente, dem Nordihydrocapsaicin, im Jahr 1970. Kobata et al. [183] gelang schließlich 1999 die Isolierung einer neuen Substanz dieser Familie, des Nordihydrocapsaicins. Alle vier Substanzen besitzen hydrophoben Charakter (z. B. Capsaicin:  $\log P_{O/W}$ -Wert = 4.0 [145]). Die Abbildung 11 zeigt die drei wichtigsten Capsaicinoide von Chilivarietäten.

Eine zweite wichtige Inhaltsstoffgruppe von Chilisorten sind die Carotinoide, die wegen der Farbausprägung erwünscht sind [37], jedoch in der vorliegenden Arbeit keine Rolle spielen und nicht behandelt werden. Die Inhaltsstoffe von Chili können durch Lösungsmittelextraktion gewonnen werden. Santamaría et al. [184] führte Ethanolextraktionen von Chili durch. 80 % der Capsaicinoide und 73 % der Carotinoide wurden dabei extrahiert. Als sie das Chili-Rohmaterial mit Wasser bei 50 °C extrahierten, konnten nur 15 % der Capsaicinoide im Extrakt nachgewiesen werden.

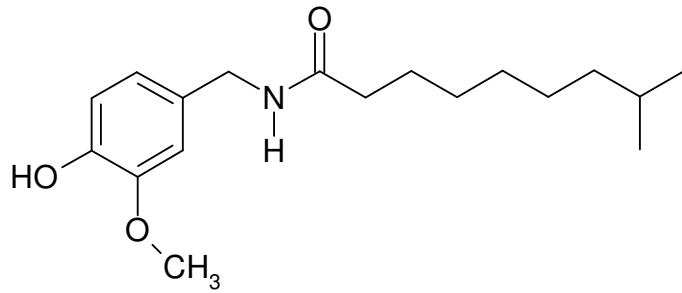


### Capsaicin

CAS 404-86-4

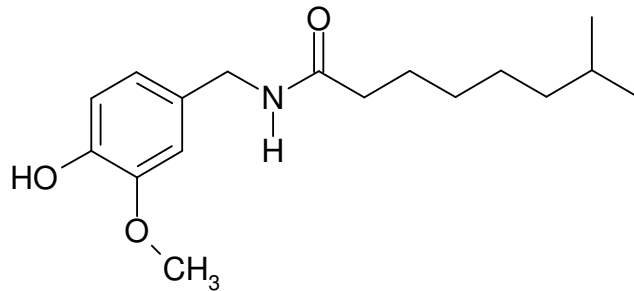
trans-8-Methyl-N-vanillyl-6-nonenamid



**Dihydrocapsaicin**

CAS 19408-84-5

8-Methyl-N-vanillyl-nonamid

**Nordihydrocapsaicin**

7-Methyl-N-vanillyl-octamid

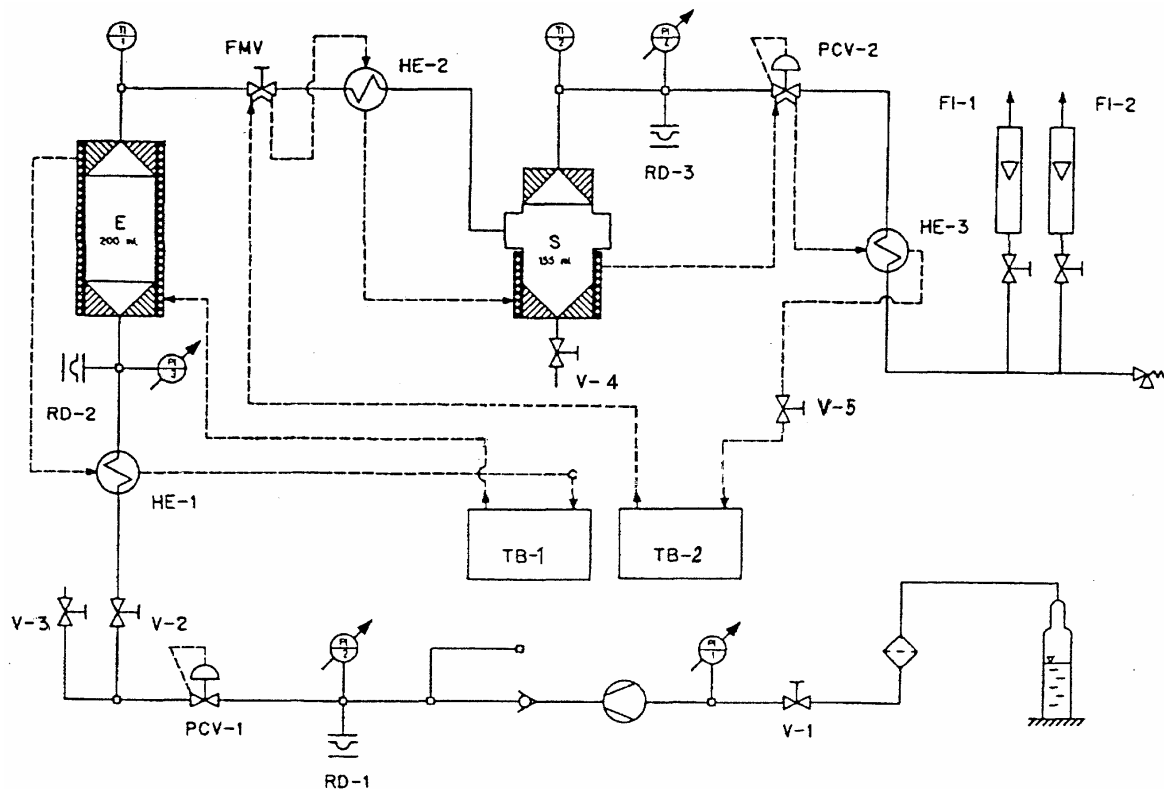
**Abb. 11: Hauptinhaltsstoffe von Chilivarietäten.**

Auch die HD-Extraktion wurde zur Extraktion der Scharf- und Farbstoffe eingesetzt. Hanse et al. (2001 [185]) bestimmten die Löslichkeit von Capsaicin und  $\beta$ -Carotin in überkritischem Kohlendioxid. Bei hohen Temperaturen (55 °C) und hohen Drücken (250 bar) erzielten sie die höchsten Ausbeuten. Im Fall von  $\beta$ -Carotin wurde ein Maximum bei einer CO<sub>2</sub>-Dichte von 1000 kg/m<sup>3</sup> erreicht; dies entspricht einem Bereich von 30–60 °C und jeweils 450–600 bar. Del Valle (2003 [186]) berichtet, dass gute Extraktionsbedingungen für Chili bei 45 °C und 360 bar liegen. Bei höheren Drücken (ab 320 bar) war die Extraktionskinetik deutlich höher als bei 120 bar. Eine Erhöhung des CO<sub>2</sub>-Durchflusses führte zu einer Verlangsamung der Kinetik. Nguyen et al. (1998 [187]) demonstrierten das Potential einer fraktionierten Trennung mit Abscheidung in hintereinander geschalteten Separatoren unter Erniedrigung von Abscheidedruck und -temperatur gegenüber einer Extraktion in mehreren Stufen unter Erhöhung von Extraktionsdruck und -temperatur und Abscheidung in nur einem Auffangbehälter. Mit der fraktionierten Trennung war es möglich, in der letzten Abscheidungsstufe (30 bar, 18 °C) eine Anreicherung von fast 35 %, bezogen auf die Rohstoffmenge, zu erzielen.

## 3 MATERIAL UND METHODEN

### 3.1 Geräte und Verfahren

#### 3.1.1 Hochdruckextraktionsanlage (HD-Laboranlage)



PI = Manometer (pressure indicator); RD = Berstmembran (rupture disc); PCV = Ventil zur Druckkontrolle (pressure control valve); HE = Wärmetauscher (heat exchanger); TI = Temperaturanzeige (temperature indicator); E = Extraktor; FMV = thermostatisiertes Feinreguliertventil (fine metering valve); S = Separator; FI = Durchflussmesser (flow indicator); TB = mit Öl betriebene Temperiereinheit (thermostating bath)

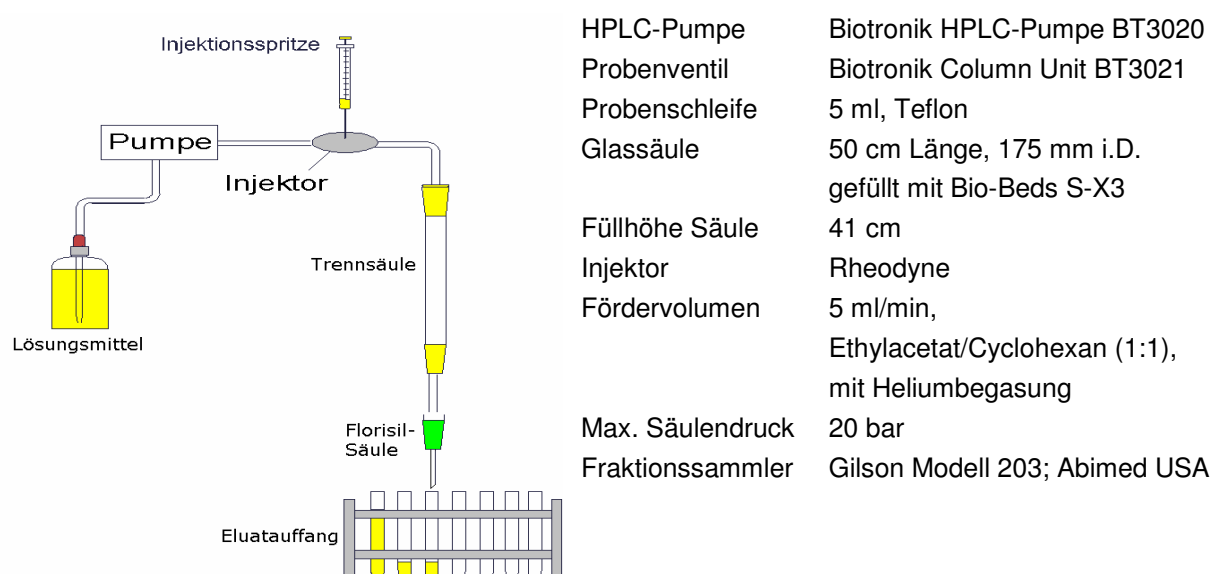
Hersteller	NOVA WERKE AG	
	Vogelsangstrasse 24 / CH-8307 Effretikon	
Artikel-Nr.	567.1001	
Auslegung Extraktor:	Betriebsdruck	max. 500 bar
	Betriebstemperatur	max. 120 °C
	Volumen	200 ml
Auslegung Separator:	Betriebsdruck	max. 100 bar
	Betriebstemperatur	max. 120 °C
	Volumen	135 ml
Kompressor:	Ausgangsdruck	max. 500 bar
	Eingangsdruck	min. 20 bar; max. 200 bar
	Kompressorvordruck	50 bar

**Abb. 12:** Fließschema und technische Daten der benutzten Hochdruckextraktionsanlage im Labormaßstab.

Der Aufbau der Anlage ist aus Abb. 12 ersichtlich. Die CO<sub>2</sub>-Strömungsrichtung im Extraktor verlief stets von unten nach oben (Extraktionsdiagramm s. S. 51; Details Separator, s. S. 53). Die technische Ausstattung der HD-Anlage ermöglichte es nicht, gleichzeitig den Druck im Extraktor und den Volumenstrom des verdichteten CO<sub>2</sub> zwischen Extraktor und Separator exakt zu kontrollieren, um vergleichbare Ergebnisse zu erzielen. Ursache dafür waren beim Betreiben der Anlage häufig auftretende Änderungen der Gasflussraten bei konstanten Extraktionszeiten und -drücken. Daraus resultierten Probleme mit der Reproduzierbarkeit von Massentransferkoeffizienten und Extraktausbeuten. Um die Reproduzierbarkeit zu erhöhen und identische Prozessbedingungen zu ermöglichen, wurde zusätzlich eine Gasuhr am Ausgang der HD-Anlage angebracht, mit der sowohl der Volumenstrom als auch die gesamte Durchflussmenge unter Normbedingungen während einer Extraktion kontinuierlich gemessen und mittels Anschluss an einen PC während einer gesamten Extraktionseinheit aufgezeichnet werden konnten. Mit Hilfe dieses zusätzlichen Durchflussmessgeräts wurde festgestellt, dass bei einer Extraktionsdauer von 45 min bei konstantem Druck (350 bar) unter den originär vorhandenen Regelungsbedingungen der Anlage tatsächlich Schwankungen des Gesamtdurchflusses an CO<sub>2</sub> von 80 bis 140 l zu beobachten waren. Unter den neugeschaffenen Bedingungen war es jetzt möglich, diesen deutlich stabiler zu halten und die Ergebnisse der Extraktionsversuche auf einen einheitlichen CO<sub>2</sub>-Gesamtdurchfluss zu beziehen.

### 3.1.2 Gelpermeationschromatographie (GPC)

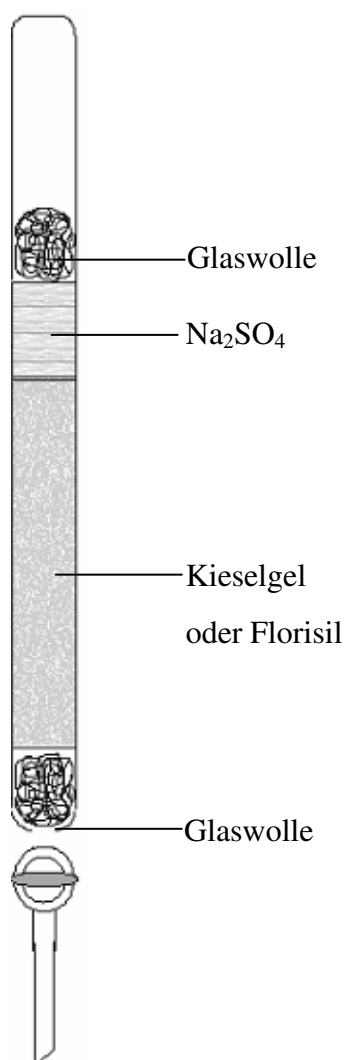
Die in Abb. 13 schematisch dargestellte GPC-Anlage wurde zum Aufreinigen der Proben aus den Dotier- und Praxisversuchen vor der GC/ECD-Analyse eingesetzt.



**Abb. 13:** Schematischer Aufbau und technische Daten der GPC-Anlage.

### 3.1.3 Minisäulenchromatographie (MSChr)

Die Säulenpackungen, bestehend aus 2 g Florisil bei der Bestimmung von Hopfeninhaltsstoffen bzw. 2 g Kieselgel bei den übrigen Rückstandsanalysen, wurden für jeden Versuch neu aufbereitet, mit Natriumsulfat wasserfrei überschichtet und unten als auch oben durch Glaswollepfropfen abgeschlossen (Abb. 14). Zum Inaktivieren von Florisil (bzw. Kieselgel) wurde jeweils 4 h auf 140 °C erhitzt und anschließend im Exsikkator abgekühlt. Danach erfolgte tropfenweises Hinzufügen von 1,5 % Wasser zum Einstellen der Aktivität, anschließend wurde 1 h mit einem Magnetrührer homogenisiert. Die Glaswolle wurde mit überkritischem CO<sub>2</sub> 2 h bei 350 bar und 60 °C vorgereinigt. Vor dem Gebrauch wurde die Säulenpackung mit 6 ml n-Hexan (p. a.-Qualität) konditioniert und das Eluat verworfen. Darauf wurde weiter vorgegangen, wie in der DFG S19-Methode [13] beschrieben.



	Säule	Glas, 20 cm x 1 cm
	Säulenpackung	Glaswolle, 2 g Florisil inaktiviert (*), 5-10 mm Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , Glaswollepfropfen.
	Elutionsmittel (**): (je Eluat 6 ml)	
a)	Hopfenanalyse	Eluat 1: n-Hexan/Toluol (40:60) Eluat 2: Toluol Eluat 3: Toluol/Aceton (95:5) Eluat 4: Toluol/Aceton (80:20) Eluat 5: Toluol/Aceton (80:20)
b)	Hopfen-Cyhalothrin	Eluat 1: Hexan Eluat 2: n-Hexan/Toluol (40:60) Eluat 3: Toluol
c)	Chilianalyse	Eluat 1: Hexan Eluat 2: n-Hexan/Toluol (40:60) Eluat 3: Toluol
<p>(*) Die Inaktivierung ist die Befreiung und danach die kontrollierte Belegung der aktiven Zentren durch Erhitzen und anschließende Zugabe einer bekannten Menge an Wasser. Für die Analyse von Hopfen wurde Florisil verwendet, für die Analyse von Chili Kieselgel.</p> <p>(**) Die Eluate sind in der Reihenfolge ihrer Anwendung aufgelistet.</p>		

Abb. 14: Zusammensetzung einer Florisilsäule für die Minisäulenchromatographie.

### 3.1.4 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)

Tab. 7: Technische Daten zur Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie.

	Hopfenanalyse	Chilianalyse
Pumpe	Liquid Chromatograph Shimadzu LC-9A	High Precision Pump Model 480 der Fa. Gynkotec
UV-Detektor	UV-Spectrophotometer Shimadzu SPD-6A	Gynkotec, Typ SP – 6, Art.-Nr. 5055.0000
Auswertungs-software (Integrator)	Hitachi D-2500, Chromato-Integrator	Gynkosoft Version 5.60.18, Software GmbH, 1991-1999
Autosampler	Marathon	---
Säule	RP-18 LiChrosphere, 250 x 4 mm, 5µm	RP-8 LiChrosphere, 200 x 4 mm, 5 µm
Vorsäule	RP 18-5 LiChrosphere 100, 5 x 4 mm, 5 µm	RP 18-5 LiChrosphere 100, 20 x 4 mm, 5µm
Injektionsvolumen	20 µl	40 µl
Elutionsmittel	Isokratisch 85% MeOH 17% H <sub>2</sub> O 0,5% H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (90%)	Isokratisch 66% MeOH 33% H <sub>2</sub> O
Fluss	0,8 ml	1,0 ml
Wellenlänge	314 nm	280 nm
Standard	Homogenisierter Hopfenextrakt:  <b>Gehalt an α-Säuren:</b> co-α = 14,45 % n- + ad-α = 34,94 %  <b>Gehalt an β-Säuren:</b> co-β = 12,02 % n- + ad-β = 12,92 %	Capsaicin natürlich:  <b>Capsaicingehalt</b> = ca. 65 % <b>Dihydrocapsaicingehalt</b> = ca. 35 %

co-α = Co-Humulon; n- + ad-α = Humulon; co-β = Co-Lupulon; n- + ad-β = Lupulon

### 3.1.5 Gaschromatographie (GC)

**Tab. 8: Technische Daten zur Gaschromatographie.**

Gerät	Chrompack CP-9002		
Detektor	Elektroneneinfangdetektor (ECD)		
Detektortemperatur	280 °C		
Kapillarsäule	J & W Scientific; Cat. No. 122-5032		
	Phase DB 5; 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm		
Injektortemperatur	240 °C		
Injektionsart	Grob-Technik (0-0,75 min splitlos)		
Split	1:10		
Trägergas	Wasserstoff		
Make-up-Gas	Stickstoff		
Temperaturprogramm	0,0 - 1,0 min ==>	150 °C	(isotherm)
	1,0 - 13,5 min ==>	10 °C/min	(linear steigend bis 275 °C)
	13,5 - 35,0 min ==>	275 °C	(isotherm)
Druckprogramm	0,0 - 1,0 min ==>	120 kPa	(isobar)
	13,5 - 35,0 min ==>	ca.1,4 kPa/min	(linear steigend bis 150 kPa)
Injektionsvolumen	1 µl		
Auswertungssoftware	Maestro II Version 2.3 - Chrompack		

## 3.2 Verbrauchskemikalien

### 3.2.1 Standards - Pflanzenschutzmittel und PCB-180

Die PSM-Standards mit Konzentrationen von jeweils 10 ng/µl (Malathion, Aldrin, Chlorpyrifos, Endosulfan, 4,4-DDE, Ethion, Dicofol, PCB-180, Phosalon, Cypermethrin, Methidathion, Myclobutanil, Bifendrin, und Cyhalothrin) wurden von der Firma Dr. Ehrenstorfer GmbH, D-86199 Augsburg bezogen.

### 3.2.2 Chemikalien

**Tab. 9: Auflistung der verwendeten Chemikalien.**

Aktivkohle	Degussa AS 16/430 spezial
Aluminiumoxid 90 aktiv basisch	Merck # 1.01076.1000
Aluminiumoxid 90 aktiv neutral	Merck # 1.01077.1000
Aluminiumoxid sauer	Merck # 9705887
Amberlite XAD-16	Sigma Lot 30 K 0239 (Hopfen)
Amberlite XAD-16	Serva # 40870 (Cellulose und Chili)
Ascorbinsäure	Merck # 127.0100
Bio-Beads S-X3, 38 - 75 µm	Bio-Rad Laboratories # 152-2750
Bleicherde	Merck # 1.01901.0500
Bleicherde	Tonsil
Celite 545	Merck # 1.02693.1000
Celite	Fluka # 223981 982
Cellulose	Vitacel P 290
Florisil	Fluka # 46381
Glasperlen	Sil-glass Slg/4-6
Kieselgel 60 (0,063 –0,2 mm) 0% H <sub>2</sub> O	Merck # 1.07734.1000
Kieselgur	Vermiculite korrel 2 en 3
Maisstärke C*	Pulp Tex # 12930
Natriumsulfat	Fa.Merck Art.Nr.106647
Natriumchlorid	Merck # 1.06404.1000
Molekularsieb 3Å	Merck # 4188179
Mullite M72, Korngröße 0,5-1,5 mm (K2)	Nabaltec M72
Polyamid SC 6	MN # 815620
Seesand p.a.	Fluka # 84880

### 3.2.3 Lösungsmittel

**Tab. 10: Auflistung der verwendeten Lösungsmittel.**

Cyclohexan	Die Lösungsmittel wurden über eine silberspiegelte Vakuumfüllkörperkolonne (gefüllt mit Raschigringen) destilliert. Sie unterlagen einer ständigen internen GC/ECD-Laborkontrolle, um Reinheit und Qualität bei den Analysen langfristig zu gewährleisten.
Ethylacetat	
Aceton	
<b>Modifier*:</b>	
Ethanol (96% unvergällt)	Filtriert mit Millipore-Anlage, Milli-L plus 185
Entionisiertes Wasser	

\* Ethanol und Wasser wurden als lebensmittelrechtlich zugelassene Modifier eingesetzt.

### 3.2.4 Weitere Verbrauchsmaterialien

**Tab. 11: Auflistung weiterer Verbrauchsmaterialien.**

Flaschen G10 WE 4240	CS Chromatographie Service Art.Nr. 300110
Schraubkappen G18 WE 4189	CS Chromatographie Service Art.Nr. 300315
Dichtscheiben G18 WE 4157	CS Chromatographie Service Art.Nr. 300360
Pipettenspitzen blau	Fa. Roth Art.Nr.2679.1
Dichtungsringe	Fa. Schötz
Filterpapier (Rundfilter; 70 mm)	S&S 589^3 Blauband
Filterpapier (Teebeutel)	Melitta (Cilia 0-1207-07)
1,5 ml Gewindeflasche	Fa. Achroma Art.Nr. GW 080024
8 mm PP-Schraubkappen schwarz, mit Loch	Fa. Achroma Art.Nr. SK 080016
8 mm Scheiben, Silicon creme/PTFE rot 1,5 mm	Fa. Achroma Art.Nr. DS 080173
Einmalfilter, Teflonmembrane	Fa. Antec Art.Nr. 900-030
Porengröße 0,45 µm, 25 mm Durchmesser	
Kohlendioxid, technisch	Messer-Griesheim

## 3.3 Extraktionsmatrices

### 3.3.1 Cellulose

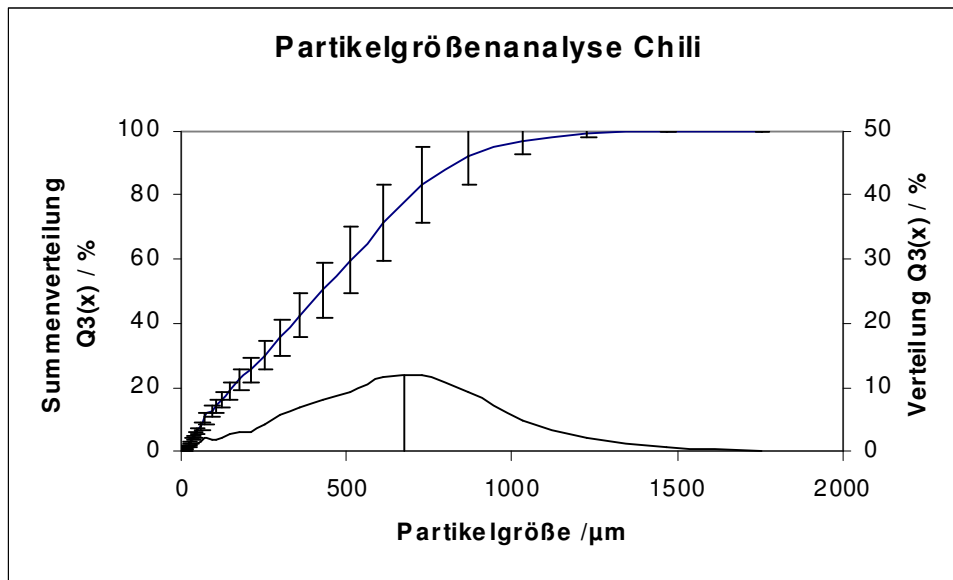
Cellulose wurde als neutrale Vergleichsmatrix eingesetzt und vor der Verwendung bei 350 bar und 60 °C in der HD-Extraktionsanlage vorextrahiert, um Verunreinigungen aus dem Rohmaterial zu entfernen.

### 3.3.2 Chilipulver (*Capsicum frutescens*)

Das für die Extraktionsversuche verwendete Chilipulver stammte aus Indien (Ernte 1998/99) und wurde von der Firma Raps & Co bezogen. Eine von der Firma Dr. Specht und Partner – Chemische Laboratorien GmbH (St. Anscharplatz 10, D-20354 Hamburg) durchgeführte Analyse ergab eine hohe Belastung mit mehreren PSM (Dicofol 7,0 mg/kg, Cypermethrin 63,6 mg/kg, Ethion 42,6 mg/kg, Phosalon 14,6 mg/kg, DDT 4,9 mg/kg, Endosulfan 0,18 mg/kg). Die Partikelgrößenverteilung des Probenmaterials (Abb. 15) wurde mit Hilfe



der Laserbeugung (Helos, Fa. Sympatec) bestimmt. Dabei ergab sich ein  $x_{50}$ -Wert von  $438,4 \pm 75,5 \mu\text{m}$ .



**Abb. 15:** Partikelgrößenverteilung des verwendeten Chilipulvers.

**Tab. 12:** Belastung von Chili-Pulver und Chili-HD-Extrakt (Firma Specht & Partner, Raps & Co).

Gruppe / Stoffart		Extrakt	Pulver	Einheiten
<i>Organochlorverbindungen</i>				
HCH-Isomere (außer Lindan)		0,02	---	mg/kg
davon:	$\alpha$ -HCH	0,02	---	mg/kg
	$\beta$ -HCH	< 0,02	---	mg/kg
Lindan		0,01	---	mg/kg
Gesamt-DDT		0,40	---	mg/kg
Gesamt-Endosulfan		0,18	---	mg/kg
davon:	$\alpha$ -Endosulfan	0,08	---	mg/kg
	$\beta$ -Endosulfan	0,06	---	mg/kg
	Endosulfansulfat	0,04	---	mg/kg
Dicofol		7,00	0,3	mg/kg

Fortsetzung Tab. 12

andere Organochlorverbindungen (Mini-Eluat 1 und 2)		---	---	
<i>Pyrethroide</i>				
	Cypermethrin	63,6	1,5	
	Fenvalerat	0,4	---	
andere Pyrethroide		---	---	
<i>Organophosphorverbindungen</i>				
	Acephat	0,6	---	
	Chlorpyriphos	---	0,79	
	Ethion	42,6	2,07	
	Methainidophos	1	---	
	Monocrotophos	0,6	---	
	Phosalon	14,6	0,75	
andere Organophosphor- verbindungen		---		

### 3.3.3 Hopfenpulver (*Humulus lupulus* L.)

Erntereifer Hopfen der Sorte Perle wurde vom Hopfeninstitut in Hüll geliefert. Die Pflanzen wurden 2–3 Tage vor der Ernte mit einem PSM-Mix (bestehend aus Cyhalothrin, Methidathion, Myclobutanil, Pymetrozin) gespritzt, um Konzentrationen deutlich über den zugelassenen Höchstmengen zu erhalten ( $\geq 15$ –50 ppm, vgl. Tab. 13). Der belastete Hopfen wurde im Labor der Fa. HHVG – Steinerhopfen getrocknet (Wassergehalt ca. 6,5%), anschliessend in flüssigem Stickstoff im Mörser zermahlen und bei 4 °C unter Stickstoffatmosphäre bis zur GC/ECD-Analyse gelagert. Durch die Zerkleinerung, Zermahlung und Trocknung wurden die Oberfläche des dotierten Hopfens vergrößert und mit der industriellen Praxis vergleichbare Ausgangsbedingungen für die HD-Extraktion eingestellt. Zusätzliche Angaben über den zur HD-Extraktion eingesetzten Versuchshopfen sind in Tabelle 13 zusammengefasst.

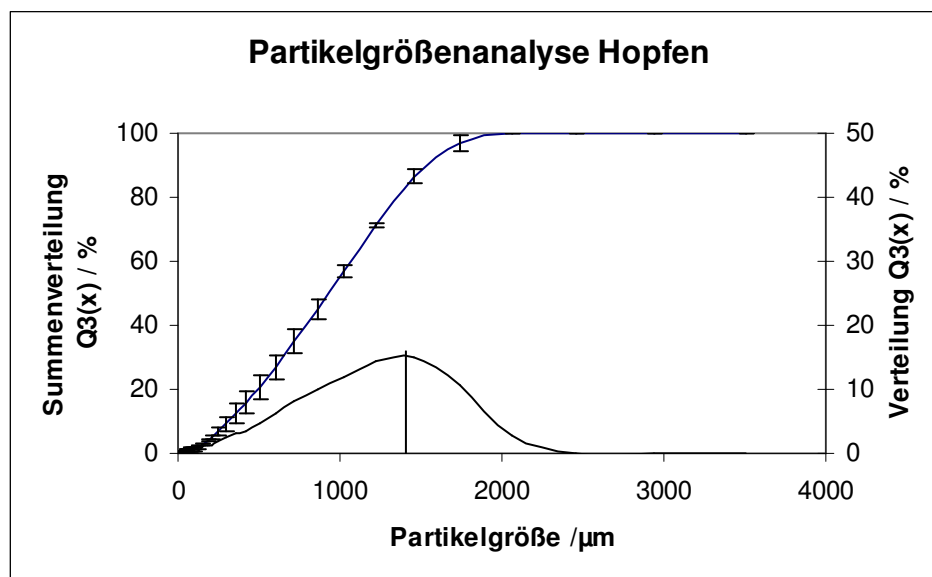
**Tab. 13: Angaben zum Versuchshopfen.**

Sorte	Perle
Anbauggebiet	Hallertau
Ernte	Oktober 2000
Firma	Hopsteiner in Mainburg
Feuchte	6,46 %

*Belastung Hopfen Pulver (HHVG – Firma Hopsteiner)*

Gruppe / Stoffart	Pulver	Einheiten
Cyhalothrin	50	mg/kg
Methidathion	15	mg/kg
Myclobutanil	15	mg/kg
Pymetrozin	25	mg/kg

Die Partikelgrößenverteilung (Abb. 16) wurde mit Hilfe der Laserbeugung (Helos, Fa. Syptec) bestimmt. Es ergab sich ein  $x_{50}$ -Wert von  $927,26 \pm 30,8 \mu\text{m}$ .

**Abb. 16: Partikelgrößenverteilung beim angewandten Hopfenmaterial.**

## 3.4 Vorbehandlung der Matrices (Trägermaterial und Adsorptionsmittel)

Die HD-Extraktion von Inhaltsstoffen aus festen Substraten wurde mit Hilfe einer dotierten Modellmatrix vorgenommen. Das Trägermaterial sowie alle Adsorptionsmittel wurden bei 350 bar und 60 °C mit fluidem CO<sub>2</sub> vorextrahiert, um etwaige Verunreinigungen des Rohmaterials zu entfernen, die sowohl bei der Extraktion als auch der anschließenden Analytik als Störsubstanzen auftreten. In einem 500 ml-Rundkolben wurden ca. 50 ml Cyclohexan vorgelegt, 1 ml PSM-Mix zugegeben und gut durchmischt. Anschließend wurde eine für die jeweilige Versuchsreihe benötigte Menge an HD-vorextrahiertem Trägermaterial in den Rundkolben eingefüllt und in der Lösung ca. 3–5 min durch kräftiges Schütteln homogen verteilt.

**Tab. 14: Untersuchte Trägerstoffe zur Auswahl einer Modellmatrix und benötigte Mengen zur Extraktion.**

Trägerstoff	Schüttdichte für HD-Extraktion	HD-Extraktorbefüllung
Stärke	50 g/Versuch	160 ml
Cellulose	60 g/Versuch	160 ml
Kieselgur	30 g/Versuch	160 ml
Seesand	235 g/Versuch	160 ml

Diese weitgehend homogenen Gemische wurden am Rotationsverdampfer mindestens 4 h bei 150 mbar und 40 °C abrotiert, um das Lösungsmittel vollständig abzdampfen und somit unkontrollierbare Modifier-Effekte während der Extraktion zu vermeiden.

## 3.5 Hochdruckextraktion

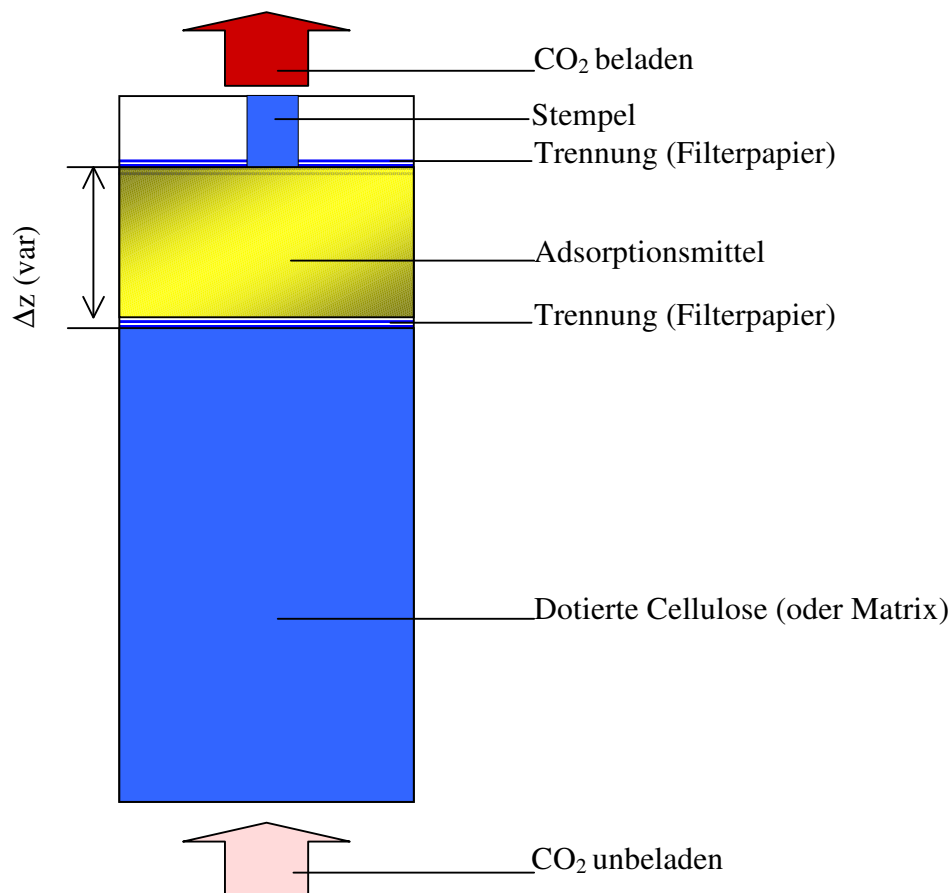
### 3.5.1 Modellmatrix

Für jede Extraktion wurde eine bestimmte Menge an Matrix in ein Becherglas eingewogen und in den HD-Extraktionskolben gefüllt (schematische Darstellung der Extraktorbefüllung s. Abb. 17; Extraktionsbedingungen s. Tab. 15). Das Material wurde mit Hilfe eines Stempels auf gleiche Schüttdichte gebracht. Durch diese Verdichtung war der HD-Extraktionsbehälter jeweils zu 80 % befüllt (160 ml). Um die Bildung von Steigkanälen während der Extraktion zu verhindern, wurde bei Extraktionen mit Adsorptionsmittelzusatz nach Abdecken der dotierten Modellmatrix mit einem eingelegten Filterpapier mit dem jeweiligen Adsorptionsmittel überschichtet, dieses erneut mit einem Filterpapier abgedeckt sowie das verbleibende

Restvolumen mit senkrecht stehenden, abgeschnittenen Pipettenspitzen (Stempel) ausgefüllt und anschließend wieder mit einem Filterpapier vom Behälterdeckel abgegrenzt. Zu beachten war, dass sowohl die Packung des Adsorptionsmittels als auch die der dotierten Matrix keine Hohlräume aufwies, um Verwirbelungen zu verhindern und eine konstante Packungsdichte während der Extraktion zu gewährleisten. Abhängig von der Schüttdichte wurde die Menge an Adsorptionsmittel von 0 % (g Adsorbens/g Matrix \*100) bis 100 % variiert.

Bei den Versuchen mit Zusatz von lebensmittelrechtlich unbedenklichen Modifiern (Ethanol, Wasser) wurden jeweils 10 ml unmittelbar vor der Extraktion zugegeben und im Trägermaterial homogen verteilt.

Vor jeder Extraktion wurde sichergestellt, dass das gesamte Extraktionssystem – Extraktor, Separator und Rohrleitungen – nach der Zwischenreinigung mit einem speziell entwickelten Spülprogramm mit Lösungsmitteln (p. a.-Qualität) frei war von alten Lösungsmittelresten, die als Modifier wirken könnten. Nach Einfüllen der Probe für den nächsten Versuch wurde eine Verweilzeit von 10 min bis zum Start der HD-Extraktion bei auf Extraktionstemperatur vorgeheiztem Extraktormantel eingehalten, um die Herstellung eines thermischen Gleichgewichtes zu gewährleisten.



**Abb. 17:** Beladung des Extraktionskolbens mit dotierter Matrix und Adsorptionsmittel.

**Tab. 15: Extraktionsbedingungen mit Modellmatrices.**

	<b>Extraktor</b>	<b>Separator</b>
Temperatur	60 °C	25 °C
Druck	350 bar	10 bar
CO <sub>2</sub> Durchflussmenge (*)	115 l	
CO <sub>2</sub> Durchflussgeschwindigkeit (*)	153 l/h	
Extraktionszeit	45 min	
Modifiziermenge (**)	10 ml Ethanol (bzw. destilliertes Wasser)	

(\*) Standardbedingungen, 20 °C und 1 atm.

(\*\*) falls Modifier zusätzlich benutzt wurde

Das mit extrahierten Substanzen beladene CO<sub>2</sub> wurde im Separator in 50 ml vorgelegtes Cyclohexan/Ethylacetat (1 : 1) mit Hilfe eines Eintauchrohres eingeleitet, um die PSM abzuscheiden (Abb. 18). Nach Extraktionsende wurde der Extrakt aus dem Separator in einen 250 ml-Rundkolben abgelassen. Der sich noch im Separator und den Rohrleitungen befindende Restextrakt wurde mit sinkendem Druck über ein Ablassventil am Separator ausgetragen und ebenfalls in den Rundkolben abgelassen. Die Anlage wurde sodann mit Hilfe von Cyclohexan/Ethylacetat (1 : 1) und Stickstoff als Druckgas gespült. Das zum Spülen und Reinigen der Anlage und der Separatorwände eingesetzte Lösungsmittel wurde dem Gesamtextrakt vor der GC-Analyse der extrahierten PSM zugefügt.

Die im Extraktor verbliebene Matrix und das Adsorptionsmittel wurden aus dem Extraktionskolben entfernt, getrennt in Plastiktüten gefüllt, erst nach 2 h gewogen, um zu gewährleisten, dass das in der Matrix verbliebene CO<sub>2</sub> restlos verdrängt war, dann verschweißt und bei 4 °C gelagert.

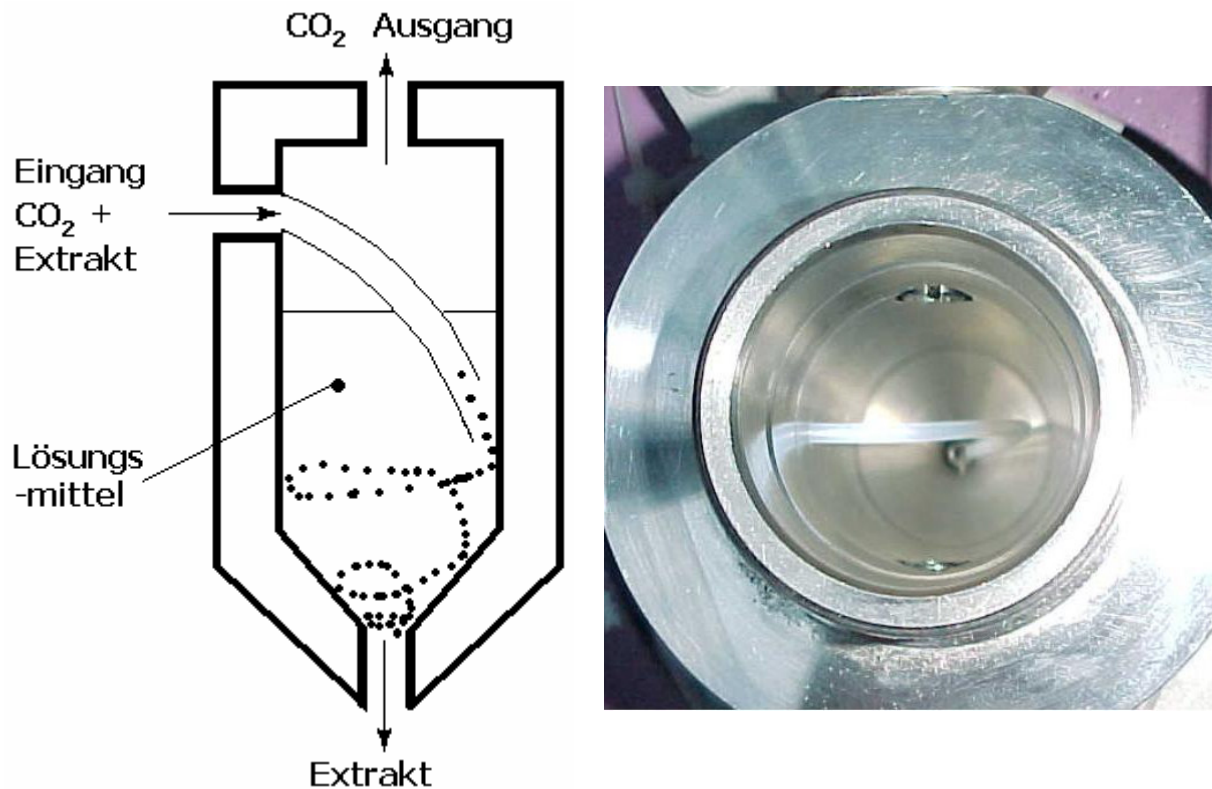


Abb. 18: Abscheiden im Separator der HD-Anlage.

**Reinigung der HD-Anlage vor der Extraktion:** Mit Hilfe von N<sub>2</sub>-gas wurde die Anlage zweimal mit Aceton technisch, einmal mit Aceton p. a. und dann mit Ethylacetat : Cyclohexan = 1 : 1 gespült und gereinigt. Die Separatorinnenwände wurden ebenfalls gründlich gespült und Lösungsmittelreste durch N<sub>2</sub>-Begasung vollständig vor Beginn der nächsten Extraktion entfernt.

### 3.5.2 *Capsicum frutescens*

Hier wurde dasselbe Extraktionsverfahren wie für Hopfen angewendet. Da Chiliextrakt aufgrund seiner festen Konsistenz anlagenbedingt bereits in den Rohrleitungen abgeschieden wurde, musste beim Ablassen des Extraktes in ein im Separator vorgelegtes Becherglas unbedingt vermieden werden, dass durch unkontrollierte schlagartige Entspannung Extraktanteile aus diesem Becherglas geschleudert wurden. In der Anlage verbliebener Chiliextrakt war sehr schwer zu entfernen. Deswegen wurde solange mit Aceton-technisch gespült, bis das Lösungsmittel keine rote Färbung mehr zeigte. In der Tabelle 16 sind die Extraktionsbedingungen für Chili zusammengestellt.

**Tab. 16: Extraktionsbedingungen für Chili.**

	Extraktor	Separator
Temperatur	60 °C	25 °C
Druck	350 bar	45 bar
CO <sub>2</sub> Durchflussmenge (*)	250 l	
CO <sub>2</sub> Durchflussgeschwindigkeit(*)	200 l/h	
Rohstoffmenge	50 g./ Versuch (Extraktionsvolumen: 160 ml)	
Extraktionszeit	75 min	
Modifiziermenge (**)	---	

(\*) Standardbedingungen, 20 °C und 1 atm

(\*\*) falls Modifier zusätzlich benutzt wurde

### 3.5.3 *Humulus lupulus L.*

Das Prinzip des Extraktionsverfahrens wurde bereits bei der Extraktion mit der Modellmatrix beschrieben. Um industrieähnliche Konditionen in der benutzten HD-Laboranlage zu schaffen, wurde die Matrix auf eine Schüttdichte von 0,3125 g/ml (50 g/160 ml im Separator) komprimiert. Im Unterschied zur Extraktion mit einer Modellmatrix wurde in diesem Fall das in den Separator fließende CO<sub>2</sub> nicht im Becherglas, gefüllt mit 50 ml Lösungsmittel, sondern mit Hilfe eines längeren Rohres direkt auf dem Boden des Separators abgeschieden (Extrakt ist im Lösungsmittel instabil). Auch das zum Spülen und Reinigen der Anlage eingesetzte Lösungsmittel wurde deshalb nicht mit dem Extrakt vereinigt. Da in diesem Fall der anfallende Extrakt von fester Konsistenz war, bildete sich ein Gleichgewicht (GGW) mit dem verdichteten Gas aus. Eine Übersicht über die Extraktionsbedingungen für Hopfen gibt Tabelle 17.

**Tab. 17: Extraktionsbedingungen für Hopfen.**

	Extraktor	Separator
Temperatur	35 °C	30 °C
Druck	280 bar	45 bar
CO <sub>2</sub> Durchflussmenge (*)	230 l	
CO <sub>2</sub> Durchflussgeschwindigkeit(*)	307 l/h	
Rohstoffmenge	50 g./ Versuch (Extraktionsvolumen: 160 ml)	
Extraktionszeit	45 min	
Modifiziermenge (**)	10 ml Ethanol (bzw. destilliertes Wasser)	

(\*) Standardbedingungen, 20 °C und 1 atm

(\*\*) falls Modifier zusätzlich benutzt wurde



Das unmittelbar nach der HD-Extraktion ermittelte Extraktgewicht war höher als nach 2 h Ausgleichsphase. Der gewonnene HD-Hopfenextrakt wurde bis zur Analyse in mit N<sub>2</sub> inertbegasteten Flaschen eingelagert. Bei Modifizierzusatz wurden 50 g Hopfen in einem Becherglas abgewogen, in einem zweiten Becherglas etwa 50 % der abgewogenen Menge mit 5 ml Modifizier befeuchtet und mit Hilfe eines Metallspatels gut vermischt (homogenisiert) vor der Zugabe des restlichen Hopfens und einer abschließenden Befeuchtung sowie Homogenisierung mit weiteren 5 ml Modifizier.

## 3.6 Analytik

### 3.6.1 Bestimmung der Pflanzenschutzmittel in HD-Extrakten aus Modellmatrices

Der im 250 ml-Rundkolben befindliche HD-Extrakt wurde 2–5 h stehengelassen, um etwaiges darin gelöstes CO<sub>2</sub> zu entfernen, und dann quantitativ am Vakuumrotationsverdampfer bei 40 °C und 90 mbar auf ca. 2 ml eingengt. Sodann wurde mit Cyclohexan/Ethylacetat (1 : 1) in 10 ml-Probenfläschchen überführt, mit N<sub>2</sub> begast (Inertgasatmosphäre), auf 10 ml aufgefüllt, verschlossen und bei 5 °C im Kühlschrank bis zur HPLC- oder GC-Analyse aufbewahrt. Die im Kühlschrank gelagerten Proben wurden zunächst 15 min im Wasserbad bei 20 °C auf Raumtemperatur gebracht, 1 ml Probe wurde in ein GC-Gefäß pipettiert und unter leichtem Stickstoffstrom vollständig eingedampft. Danach wurde 1 ml Hexan-IS-Lösung (Mirex) zugegeben, 2 min ultrabeschallt und im GC analysiert. Die Quantifizierung wurde mit Hilfe des inneren Standards (IS) [19] vorgenommen. Die Berechnung der gesuchten Probenmenge i erfolgte nach folgender Gleichung:

$$m(ko_i) = \frac{f * A(ko_i) * m(is)}{A(is)} \quad \text{Gleichung 9}$$

$m(ko_i)$	=	gesuchte Masse der Komponente i
$m(is)$	=	eingewogene Masse des inneren Standards
$A(ko_i)$	=	Peakfläche der Komponente i
$A(is)$	=	Peakfläche des Standards
$f = \frac{A^0(is) * m^0(ko_i)}{A^0(ko_i) * m^0(is)}$	=	Methodenfaktor

Bei der Berechnung des Methodenfaktors bedeuten:

$m^0(ko_i)$	=	eingewogene Masse der Komponente i bei der Messung 0
$m^0(is)$	=	eingewogene Masse des IS bei der Messung 0
$A^0(ko_i)$	=	Steigung Kalibrierkurve im linearen Bereich der Komponente i
$A^0(is)$	=	Steigung Kalibrierkurve im linearen Bereich des IS

### 3.6.2 Bestimmung der Pflanzenschutzmittel in HD-Extrakten aus belasteten Chili- und Hopfenproben

Die Anfang der 80er Jahre entwickelte DFG S 19-Methode ermöglicht die Bestimmung von mehr als 220 lipoid- und wasserlöslichen PSM. Bei der Bestimmung von Rückständen in den gewonnenen HD-Extrakten stellte sich schon zu Beginn dieser Arbeit heraus, dass die klassische Version dieser *Cleanup*-Methode modifiziert werden musste. Mit der DFG S19-Methode allein konnten die Proben nicht genügend aufgereinigt werden. Nach wenigen GC-Analysen war das System Injektor-Säule-ECD stark verunreinigt.

Zur Optimierung des *Cleanup* wurden mehr als 100 Versuche unter Variierung unterschiedlicher Parameter getestet. Die Ergebnisse dieser Versuche sind im Ergebnisteil dieser Arbeit dargestellt (s. Kap. 4.1.1 auf S. 73).

### 3.6.3 Bestimmung einzelner Pflanzenschutzmittel im Chiliextrakt

Zur Probenaufarbeitung wurden 2 g Chiliextrakt 30 min zur Verflüssigung des Extraktes auf 30 °C erwärmt und in knapp 20 ml Ethylacetat : Cyclohexan 1 : 1 aufgelöst. Die Mischung wurde 10 min lang im Ultraschallbad homogenisiert und anschließend 20 min bei 20 °C im Wasserbad temperiert. Sodann wurde die Probe bis zur 20 ml-Marke aufgefüllt.

Vor jedem Versuchsdurchgang wurde die GPC-Säulenpackung mit der mobilen Phase Ethylacetat : Cyclohexan 1 : 1 (p. a.-Qualität) 15 min lang mit einer Durchflussgeschwindigkeit von 5 ml/min gespült bzw. konditioniert. 10 ml der aufbereiteten Probe wurden durch ein Teflonmembranfilter (45 µm) in die Probenschleife injiziert; davon gelangten 5 ml durch die GPC-Säule. Die mobile Phase wurde unmittelbar vor Gebrauch 15 min ultrabeschallt und während des Versuches durch Einleiten von Helium sauerstofffrei gehalten. Nach der

Probeninjektion wurde die bis 28 min gesammelte Fraktion (*Dump*, 140 ml) verworfen. Die von 28 – 48 min (140 – 240 ml) gesammelte Fraktion (*Collect*)- wurde direkt in einem 250 ml-Rundkolben aufgefangen. Anschließend wurde die Säule 7 min lang mit Lösungsmittel gespült und die daraus resultierende Fraktion (*Wash*) verworfen. Die Tabelle 18 gibt die Parameter zur Aufreinigung von Chiliextrakten mittels GPC an.

**Tab. 18: GPC-Parameter zur Aufreinigung von HD-Chiliextrakten.**

	Zeit (min)	Volumen (ml)
<i>Dump</i>	0 – 28	0 – 140
<i>Collect</i>	28 – 48	140 – 240
<i>Wash</i>	48 – 55	240 – 275
Fördervolumen	5 ml/min, Ethylacetat/Cyclohexan (1 : 1), Heliumbegasung	
Probe	2,0 g Chiliextrakt gelöst in 20 ml Ethylacetat : Cyclohexan = 1 : 1	

Die mittels GPC aufgereinigte Probe wurde im Rotationsverdampfer eingengt bzw. von Ethylacetat : Cyclohexan 1 : 1 befreit, mit ca. 1 ml Isooctan (Lösungsmittelaustausch) versetzt und danach mittels einer Glaspipette direkt auf die schon vorgepackte und mit Hexan konditionierte MSChr-Säule (s. Kap. 3.1.3 auf S. 42) aufgebracht. Als Packungsmaterial für die Säulenchromatographie (SC) erwiesen sich 2 g Kieselgel hier als am besten geeignet. Die Elutionsreihe (Tab. 19) unterscheidet sich von der bei der DFG S19- Methode empfohlenen. Zusammenfassend wurde nach über 60 verschiedenen Vorversuchen die Standard DFG S19-Methode entsprechend verändert (Tab. 19), um Coelutionen von Wirkstoffen und Rückständen zu vermeiden.

**Tab. 19: Elutionsreihe bei der Untersuchung der HD-Chiliextrakte.**

Schritt	Eluat
Konditionierung	6 ml Hexan
Dosierung	Probe
Elutionsmittel 0	6 ml Hexan
Elutionsmittel 1	6 ml Hexan/Toluol (40 : 60)
Elutionsmittel 2	6 ml Toluol

Alle Eluate wurden in einem Langspitzkolben vereinigt, am Rotationsverdampfer auf ca. 1 ml eingengt und unter Stickstoffbegasung völlig eingedampft. Anschließend wurde 1 ml Hexan zugegeben, (in Hexan 1,0 ng/µl Methidathion als Innerer Standard (IS) gelöst). Die Probe wurde 15 min stehen gelassen, gerührt und sodann mit einer Pasteurpipette in eine GC-

Ampulle überführt. Die anschließende GC/ECD-Analyse sowie die quantitative Auswertung folgten den schon skizzierten Bedingungen (s. Kap. 3.1.5 bzw. Kap. 3.6.1).

### 3.6.4 Bestimmung einzelner Pflanzenschutzmittel im Hopfenextrakt

Zur Probenaufarbeitung wurden 0,25 g Hopfenextrakt in knapp 50 ml Ethylacetat : Cyclohexan 1 : 1 gelöst. Die Mischung wurde 10 min im Ultraschallbad homogenisiert und anschließend 20 min bei 20 °C im Wasserbad temperiert. Sodann wurde die Probe bis zur 50 ml-Marke aufgefüllt. Die Tabelle 20 vermittelt einen Überblick über die Parameter der GPC-Aufreinigung von HD-Hopfenextrakten.

**Tab. 20: GPC-Parameter zur Aufreinigung von HD-Hopfenextrakten.**

	Zeit (min)	Volumen (ml)
<i>Dump</i>	0,0 – 28,5	0,0 – 142,5
<i>Collect</i>	28,5 – 50,0	142,5 – 250,0
<i>Wash</i>	50,0 – 55,0	250,0–300,0
Fördervolumen	5 ml/min, Ethylacetat/Cyclohexan (1 : 1), Helium-begast	
Probe	0,25 g Hopfenextrakt gelöst in 50 ml Ethylacetat : Cyclohexan = 1 : 1	

Die weitere Probenaufarbeitung erfolgte analog zur Bestimmung einzelner Pflanzenschutzmittel im Chiliextrakt auf Seite 56. Nach der Probeneinspritzung wurde die bis 28,5 min (142,5 ml) gesammelte Fraktion (*Dump*) verworfen. Die *Collect*-Fraktion (28,5 – 50 min; 142,5 – 250 ml) wurde direkt durch eine mit 3 g Florisil (vorher bei 140 °C 4 h lang konditioniert) gefüllte Säule und Glaswolle filtriert. Anschließend wurde die Säule 5 min lang gespült und regeneriert (*Wash*-Fraktion).

Die Probe wurde am Rotationsverdampfer eingeengt, von Ethylacetat : Cyclohexan 1:1 befreit, mit ca. 1 ml Isooctan versetzt und anschließend wie beschrieben (s. Kap. 3.1.3) über 2 g Florisil säulenchromatographiert. Die Elutionsreihe (s. Tab. 21) der DFG S 19 - Standardmethode wurde ebenfalls modifiziert und optimiert.

**Tab. 21: Elutionsreihe für Methidathion und Myclobutanil bei Extraktion der Hopfenextrakte.**

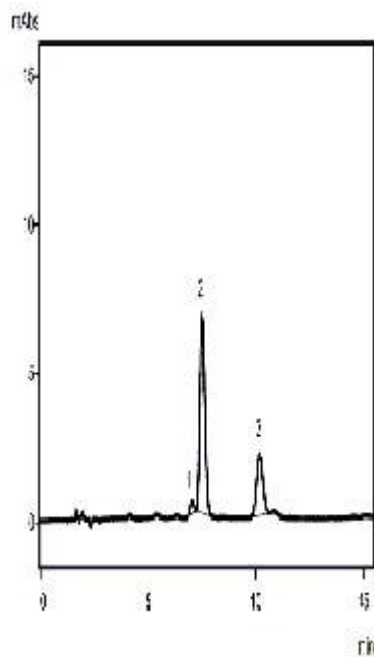
Schritt	Eluat
Konditionierung	6 ml Hexan
Dosierung	Probe
Elutionsmittel 1	6 ml Hexan/Toluol (40 : 60)
Elutionsmittel 2	6 ml Toluol
Elutionsmittel 3	6 ml Toluol/Aceton (5 : 95)
Elutionsmittel 4	12 ml Toluol/Aceton(20 : 80)

Die anschließende Probenaufarbeitung (Einengen, Zugabe von 0,75 ng Ethion/ $\mu$ l Hexan als IS) und GC/ECD-Analyse erfolgte wie unter Kap. 3.1.5 und Kap. 3.6.1 beschrieben.

### 3.6.5 Bestimmung der Inhaltsstoffe im Chiliextrakt

Bei der Bestimmung der Inhaltsstoffe im Chiliextrakt wurde nach der Methode von Kudian et al. (2002 [29]) verfahren. Ca. 100 mg des im Becherglas enthaltenen und bei 35 °C verflüssigten HD-Extraktes wurden in einen 50 ml-Messkolben eingewogen, in Methanol gelöst und ca. 10 min im Ultraschallbad homogenisiert. Nach weiteren 20 min bei 20 °C im Wasserbad wurde der Kolben mit Methanol bis zur 50 ml-Marke aufgefüllt. Die Probenlösung wurde durch einen 0,45  $\mu$ m Sterilfilter in Probenfläschchen abgefüllt, bei 5 °C gelagert und innerhalb von 48 h HPLC-analysiert. (Analyse des in der vorliegenden Arbeit eingesetzten Capsaicinoid-Standards s. Abb. 19).

Zur Quantifizierung wurde die „externe Standardmethode“ nach Meyer (1992 [30]) angewendet, bei der das Signal des zu messenden Stoffes innerhalb des linearen Bereiches liegen muss:



**Abb. 19: HPLC-Analyse der Capsaicinoide (Chili-Inhaltsstoffe).**  
 (1) Nordihydrocapsaicin, (2) Capsaicin, (3) Dihydrocapsaicin.

$$X = \frac{\text{Signal von X} * \text{Menge Eichsubstanz}}{\text{Signal der Eichsubstanz}} \quad \text{Gleichung 10}$$

mit

X = Menge des zu bestimmenden Stoffes (mg/ml)

Menge der

Eichsubstanz = Hier wird eine Eichgerade erstellt und anhand der Signalhöhe der gemessenen Probe wird in der Eichgerade die Menge der Eichsubstanz ermittelt

### 3.6.6 Bestimmung der Inhaltsstoffe im Hopfenextrakt

500 mg Hopfenextrakt wurden bei Zimmertemperatur in einen 100 ml-Messkolben eingewogen, in ca. 90 ml Methanol gelöst, 10 min ultrabeschallt, im Messkolben ca. 20 min bei 20 °C temperiert, mit Methanol auf 100 ml aufgefüllt und homogenisiert (gemischt). Aus dieser Stammlösung wurden 10 ml in einen 50 ml-Messkolben überführt, ca. 35 ml Methanol zugegeben, 15–20 min bei 20 °C temperiert und auf 50 ml aufgefüllt. Die Proben wurden membranfiltriert (0,45 µm, PTFE) und in 1,5 ml-Ampullen abgefüllt. Da die Proben selbst bei niedriger Temperatur (4 °C) und lichtgeschützter Lagerung nur 24 h stabil blieben, wurden sie am selben Tag analysiert (max. acht Proben pro Tag).

Die Herstellung der Kalibrierprobe erfolgte mit Hilfe eines standardisierten Hopfenextraktes (Co-Humulon = 14,45 %; n- + Ad-Humulon = 34,94 %; Co-Lupulon = 12,02%; n- + Ad-Lupulon = 12,92 %) nach demselben Prinzip.

Co-Humulon und n- + Ad-Humulon werden als α-Säuren sowie Co-Lupulon und n- + Ad-Lupulon als β-Säuren zusammengefasst. In dieser Arbeit wurden alle Einzelwerte addiert und als Inhaltsstoffgehalt angegeben wie bei der Methode der Hopfenringanalysen, an denen der Lehrstuhl für Chemisch-Technische Analyse regelmäßig beteiligt ist [34]. Ein typisches Chromatogramm zeigt die Abb. 20.

$$K = \sum_{i=1}^4 K_i$$

Gleichung 11

i	repräsentiert
1	Co-Humulon
2	n- + Ad-Humulon
3	Co-Lupulon
4	n- + Ad-Lupulon

$$K_i = \frac{Fl_{i-50} * K_{i/ICE}}{Fl_{i/ICE-50}}$$

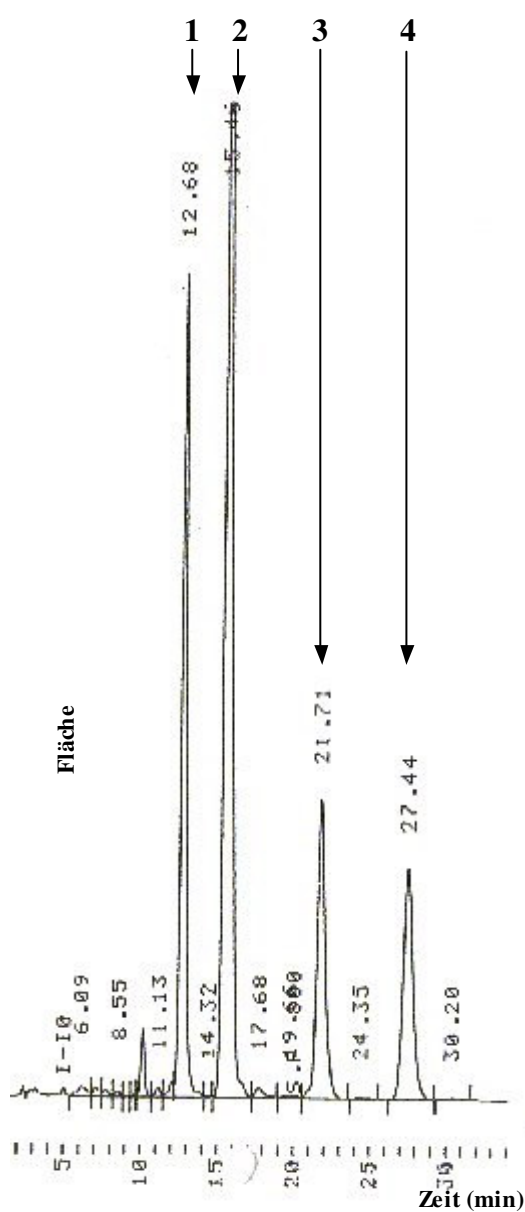
Gleichung 12

$$Fl_{i-50} = \frac{1}{m} \sum_{j=1}^m \frac{j Fl_i * 50}{j EW}$$

Gleichung 13

$$Fl_{ICE-50} = \frac{1}{r} \sum_{k=1}^r \frac{k Fl_{i-ICE} * 50}{j EW_{ICE}}$$

Gleichung 14



K = Gehalt an alpha- und beta-Säuren im Extrakt (%)

$K_i$  = Gehalt an einer einzelnen Substanz (%)

$Fl_{i-50}$  = durchschnittliche Fläche der Substanz i in der Probe, bezogen auf 50 mg Probe in 50 ml Lösungsmittel

$Fl_{i/ICE-50}$  = durchschnittliche Fläche der Substanz i im Standard, bezogen auf 50 mg Standard in 50 ml Lösungsmittel

$K_{i/ICE}$  = bekannte Konzentration der Substanz i im Standard

$j Fl_i$  = gemessene Fläche der Substanz i in der Probe, Wiederholung j

$j EW$  = Einwaage der Probe, Wiederholung j

$j Fl_{i-ICE}$  = gemessene Fläche der Substanz i im Standard, Wiederholung j

$j EW_{ICE}$  = Einwaage des Standards, Wiederholung j

Zugehörigkeit der Peaks

1	Co-Humulon
2	n- + Ad-Humulon
3	Co-Lupulon
4	n- + Ad-Lupulon

Abb. 20: HPLC-Analyse von HD-Hopfeninhaltsstoffen.

### 3.7 Versuchsbeschreibung

#### **Optimierung der DFG-Standardnachweismethoden für Pflanzenschutzmittel in HD-Extrakten von Hopfen-, Chili- und Macisproben (vgl. Tab. 22: Übersicht aller Versuche).**

Zunächst musste die Standard-Nachweismethode für Pflanzenschutzmittel (PSM) verändert werden, da sie mit HD-Extrakten nicht befriedigend gelang. Der erste Schritt war dabei die Bestimmung der Elutionsbereiche mit unterschiedlichen Konzentrationen von HD-Extrakten (0,5–2,5 g) mittels GPC. Die Belastungsgrenze der GPC-Säule liegt laut Hersteller bei 2,0 g Fett. Separat davon sind die Elutionsbereiche von einzelnen Analyten (PSM und PCB-180) untersucht worden mit Konzentrationen von 500 ng/μl – 2500 ng/μl (verschiedene Verdünnungen aus einem Standardmix, deren Konzentrationen geräteabhängig anhand der Responsefaktoren ermittelt wurden). Es wurde darüber hinaus verglichen, ob beim Sammeln von einer Gesamtfraktion eine ausreichende oder von zwei Fraktionen eine bessere Aufreinigung zu erzielen war. Somit konnte eine Aussage zu den optimalen Parametern für die GPC im Hinblick auf die möglichst störsubstanzenfreie Gewinnung der eingesetzten Analyten getroffen werden. Die oben erwähnten Versuche sind in der Tabelle 22a detailliert aufgelistet.

Da dieser GPC-Reinigungsschritt alleine nicht ausreichte, musste ein zusätzlicher Schritt zur Aufreinigung der Proben mittels Minisäulenchromatographie (MSChr) herangezogen werden. Hierzu wurden die HD-Extrakte von Chili, Macis (ursprünglich in die praktischen Versuchsserien einbezogen) und Hopfen nach der optimierten, in dem vorherigen Kap. 3.6.2ff beschriebenen Methode mittels MSChr weiter aufgereinigt, wozu die Standard-DFG S19-Methode eingesetzt wurde. Die Probe wurde mit folgenden Lösungsmitteln eluiert: Hexan (E0), Hexan:Toluol (E1), Toluol (E2), Toluol:Aceton (95 : 5 => E3 und 80 : 20 => E4). Zunächst wurde jede einzelne Fraktion analysiert, sodann die erste und danach die ersten beiden Fraktionen verworfen. Darauf wurde die Menge an stationärer Phase erhöht (1; 1,5 und 2,0 g). Anschließend wurde Kieselgel mit unterschiedlichen Mengen an Wasser deaktiviert (0 – 15 %, gravimetrisch bestimmt). Statt mit Kieselgel wurde mit Florisil, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> und Celite gearbeitet. Dabei wurden jeweils 1 und 2 g eingesetzt. Anstelle der MSChr wurde auch versucht, die Proben von Störsubstanzen durch einen Reinigungsschritt mit Schwefelsäure zu befreien. Letztendlich wurden auch Verunreinigungen im Ausgangsprodukt Kieselgel gefunden, die mit Hilfe der Vorbehandlung dieser Matrix zu beseitigen waren (Tab. 22b).



Nach Etablierung der analytischen Nachweismethoden konnten die HD-Extraktionsversuche durchgeführt werden. Hierzu wurde eine neutrale Matrix ausgesucht, die zunächst mit einer bekannten Menge an Kontaminanten (PSM + PCB) dotiert werden sollte, um den Einfluss auf die summarische Extrahierbarkeit der einzelnen Analyten bei Änderung unterschiedlicher Einflussparameter zu überprüfen. Aus einem Pool von vier Materialien (Stärke, Cellulose, Seesand und Kieselgur) wurde schließlich das Trägermaterial (die Dotiermatrix) ausgewählt. Sodann wurde der Extraktionsverlauf der einzelnen Analyten, bezogen auf ihre Ausbeute, untersucht, um so die erforderliche Extraktionszeit zu bestimmen. Im nachfolgenden Schritt wurden alle unter „Chemikalien“ (s. Kap. 3.2.2) aufgelisteten Stoffe als Adsorbentien (mit Ausnahme der Aerosil-Gruppe) gemäß den oben aufgeführten Parametern (s. Kap. 3.5.1) getestet. Versuche mit Ethanol oder destilliertem Wasser als Modifier (jeweils 5 ml) wurden ebenfalls durchgeführt.

Im nächsten Schritt wurden die Löslichkeitsisothermen für die in der dotierten Matrix enthaltenen Analyten ohne und mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch als Adsorptionsmittel bestimmt.

Die letzte Versuchsreihe wurde zur Feststellung der erzielbaren Extraktionsausbeuten beim Einsatz verschiedener Mengen an ausgewählten, adsorptiv wirkenden Matrices ( $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch, Bleicherde, Florisil, Amberlite) ohne Modifier oder mit Zugabe von 5 ml Wasser oder Ethanol durchgeführt (Tab. 22c).

Mit den skizzierten Vorversuchen konnten die Bedingungen zur Durchführung der Extraktionen mit kontaminiertem pflanzlichen Rohmaterial geschaffen werden. Diese Pflanzen wurden während des Wachstumsprozesses auf dem Feld gezielt mit PSM behandelt. Hierfür wurden Chili, Hopfen und zunächst auch Macis als Untersuchungsmaterialien ausgewählt. Nachdem der Extraktionsablauf festgelegt war, wurden alle in der Tabelle 22c aufgelisteten Materialien zunächst in einem Screening mit 2,5 g auf ihre adsorptiven Eigenschaften untersucht. Darauf wurden 30 ml und zuletzt 50 g (bei ausreichender Volumenkapazität des HD-Extraktionskolbens) eingesetzt. Florisil und Kieselgel wurden auch deaktiviert, um dann als Adsorbens zu dienen. Die Änderungen der Kontaminantenbelastung sowie die Menge an Capsaicin wurden bei den belasteten Chiliprobe mittels GC/ECD- und HPLC-Analyse bestimmt.

Bei Hopfen wurde, wie in allen anderen Fällen, zunächst der Extraktionsverlauf festgelegt: Zwei unterschiedliche  $\text{CO}_2$ -Durchflussraten und Bestimmungen (jeweils nach 45 min) bis zu

---

einer Gesamtzeit von 90 min. Anschließend wurde ein Screening mit unterschiedlichen Adsorbentien vorgenommen (Tab. 22d). Mit fünf adsorptiven Stoffen konnten befriedigende Ergebnisse erzielt werden (Aktivkohle, Bleicherde, Kieselgur, Kieselgel, Florisil). Sie wurden für die weiteren Versuche mit Hopfen ausgewählt, in denen dann unterschiedliche Mengen an Adsorbens eingesetzt wurden, jeweils ohne und mit Modifier (Ethanol oder Wasser). Zum Schluss wurde die Änderung der PSM- und Inhaltsstoff-Ausbeuten (alpha- und beta-Säuren) mittels GC/ECD- und HPLC-Analyse ermittelt.

**Tab. 22: Übersicht über alle Versuche.**

## a) Gelpermeationschromatographie - GPC (Teil 1)

Art	Matrix	Extrakt- menge (g)	Lösungsmittel- menge (ml)	Dump (ml)	Collect (I + II) (ml)	Fraktionsgröße (ml)	Wash (ml)	Anzahl Fraktionen	Menge Insektizid (ng ml <sup>-1</sup> )	Durchläufe	Verfahren	Bestim- mung
Bestimmung der Elutions- bereiche	Chili	2,5	5	0-60	60-175	15	175-220	8	-	1	GPC	Grav.
	Chili	1,0	5	0-60	60-175	15	175-220	8	-	1	GPC	Grav.
	Chili	0,5	5	0-60	60-175	15	175-220	8	-	1	GPC	Grav.
	Macis	2,0	5	0-80	80-200	15	200-250	8	-	1	GPC	Grav.
	Macis	1,0	5	0-80	80-200	15	200-250	8	-	1	GPC	Grav.
	Macis	0,5	5	0-80	80-200	15	200-250	8	-	1	GPC	Grav.
Insektizid-Standards	-	-	5	0-150	140-225	85	225-265	1	1.000	2	GPC/MSChr/GC	GC
Insektizid-freie Extrakte	Chili	0,5	5	0-125	I:125-175 II:175-225	50	225-265	2	-	2	GPC/MSChr/GC	GC
	Macis	0,5	5	0-125	I:150-200 II:200-250	50	250-290	2	-	2	GPC/MSChr/GC	GC
Insektizid-belastete Extrakte	Chili	0,5	5	0-125	I:125-175 II:175-225	50	225-265	2	1.000	1	GPC/MSChr/GC	GC
	Chili	0,5	5	0-125	I:125-175 II:175-225	50	225-265	2	500	2	GPC/MSChr/GC	GC
	Macis	0,5	5	0-150	I:150-200 II:200-250	50	250-290	2	1.000	1	GPC/MSChr/GC	GC
	Macis	0,5	5	0-150	I:150-200 II:200-250	50	250-290	2	500	2	GPC/MSChr/GC	GC

Tab. 22b) Säulenchromatographie - MSChr (Teil 1)

Art	Adsorbens	Extrabehandlung	Menge	Fractionen	Verfahren
<b>Ausgangssituation</b>	Kieselgel	---	1 g	E1-E5	MSChr
<b>Einzelne Fraktionen</b>	Kieselgel	---	1 g	E1-E5 getrennt	GPC/MSChr/GC-ECD
	Kieselgel	---	1 g	E2-E5 getrennt	GPC/MSChr/GC-ECD
	Kieselgel	---	1 g	E3-E5 getrennt	GPC/MSChr/GC-ECD
<b>Unterschiedliche Packungsmengen</b>	Kieselgel	---	1 g	E3-E5 getrennt	GPC/MSChr/GC-ECD
	Kieselgel	---	1,5 g	E1-E5	GPC/MSChr/GC-ECD
	Kieselgel	---	2,0 g	E1-E5	GPC/MSChr/GC-ECD
<b>Verschiedene Wassergehalte im Kieselgel</b>	Kieselgel	0% Wasser	1 g	E1-E5	GPC/MSChr/GC-ECD
	Kieselgel	1,5% Wasser	1 g	E1-E5	GPC/MSChr/GC-ECD
	Kieselgel	5% Wasser	1 g	E1-E5	GPC/MSChr/GC-ECD
	Kieselgel	10% Wasser	1 g	E1-E5	GPC/MSChr/GC-ECD
	Kieselgel	15% Wasser	1 g	E1-E5	GPC/MSChr/GC-ECD
<b>Verschiedene Adsorptionsmittel</b>	Florisil	1,5% Wasser	1 g	E1-E3	GPC/MSChr/GC-ECD
	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	1,5% Wasser	1 g	E1-E3	GPC/MSChr/GC-ECD
	Celite	1,5% Wasser	1 g	E1-E3	GPC/MSChr/GC-ECD
<b>Verschiedene Adsorptionsmittel Fraktionen E1-E4</b>	Florisil	1,5% Wasser	2 g	E1-E4	GPC/MSChr/GC-ECD
	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	1,5% Wasser	2 g	E1-E4	GPC/MSChr/GC-ECD
	Celite	1,5% Wasser	2 g	E1-E4	GPC/MSChr/GC-ECD
	Probe+KG gemischt	1,5% Wasser	1 g	E1-E4	GPC/MSChr/GC-ECD
	---	Schwefelsäure	0 g	E1-E4	GPC/MSChr/GC-ECD
<b>Fraktionen</b>	Kieselgel	1,5% Wasser	2 g	E1-E3	GPC/MSChr/GC-ECD
	Kieselgel	1,5% Wasser	2 g	E1-E4	GPC/MSChr/GC-ECD
	Kieselgel	1,5% Wasser	2 g	E1-E5	GPC/MSChr/GC-ECD

Tab. 22c) Modellmatrices (Teil 2)

Art	Trägerstoff	Extraktions- gut (g)	Spikingmix	Druck im Extraktor(bar)	Extraktor Temp. (°C)	Vorextraktion des Rohstoffes	Adsorbens (Adsm)	Adsm.Menge	CO <sub>2</sub> Durchfluss (l/h)	Extraktionszeit (min)	Modifizier
<b>Test verschiedener Trägermateri- alien als Dotiermatrix</b>	Stärke	50	1ml	350	60	Nein	---	---	153	45	Nein
	Cellulose	60	1ml	350	60	Nein	---	---	153	45	Nein
	Seesand	235	1ml	350	60	Nein	---	---	153	45	Nein
	Kieselgur	30	1ml	350	60	Nein	---	---	153	45	Nein
	Stärke	50	---	350	60	Nein	---	---	153	45	Nein
	Cellulose	60	---	350	60	Nein	---	---	153	45	Nein
	Seesand	235	---	350	60	Nein	---	---	153	45	Nein
	Kieselgur	30	---	350	60	Nein	---	---	153	45	Nein
	Stärke	50	1ml	350	60	Ja	---	---	153	45	Nein
	Cellulose	60	1ml	350	60	Ja	---	---	153	45	Nein
	Seesand	235	1ml	350	60	Ja	---	---	153	45	Nein
	Kieselgur	30	1ml	350	60	Ja	---	---	153	45	Nein
<b>Extraktionsdauer</b>	Cellulose	60	1ml	350	60	Ja	---	---	153	15,30,45, 60,90,120	Nein
<b>Test Adsm (***)</b>	Cellulose	60	1ml	350	60	Ja	(*)	30 ml	153	45	Nein
<b>Adsm mit Modifizier</b>	Cellulose	60	1ml	350	60	Ja	(**)	30 ml	153	45	EtOH (10ml)
	Cellulose	60	1ml	350	60	Ja	(**)	30 ml	153	45	H <sub>2</sub> O (10ml)
<b>Isothermen</b>	Cellulose	60	1ml	100, 150, 200, 250, 300, 350	40, 50, 60	Ja	---	---	153	45	---
	Cellulose	60	1ml	100, 150, 200, 250, 300, 350	40, 50, 60	Ja	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (basisch)	30 ml	153	45	---
<b>Mengen- variiierung Adsorptionsmittel mit Modifizier</b>	Cellulose	30	1ml	350	60	Ja	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (basisch)	0,6,12,18,24,30 g	153	45	---
	Cellulose	30	1ml	350	60	Ja	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (basisch)	0,6,12,18,24,30 g	153	45	H <sub>2</sub> O (5ml)
	Cellulose	30	1ml	350	60	Ja	Bleicherde	0;7,5;15;22,5;30 g	153	45	---
	Cellulose	30	1ml	350	60	Ja	Bleicherde	0;7,5;15;22,5;30 g	153	45	EtOH (5ml)
	Cellulose	30	1ml	350	60	Ja	Bleicherde	0;7,5;15;22,5;30 g	153	45	H <sub>2</sub> O (5ml)
	Cellulose	30	1ml	350	60	Ja	Florisil	0;3,75; 7,5;18,75;30 g	153	45	---
	Cellulose	30	1ml	350	60	Ja	Florisil	0;3,75; 7,5;18,75;30 g	153	45	EtOH (5ml)
	Cellulose	30	1ml	350	60	Ja	Florisil	0;3,75; 7,5;18,75;30 g	153	45	H <sub>2</sub> O (5ml)
	Cellulose	30	1ml	350	60	Ja	Amberlite	0;3,75; 7,5;18,75;30 g	153	45	---
	Cellulose	30	1ml	350	60	Ja	Amberlite	0;3,75; 7,5;18,75;30 g	153	45	EtOH (5ml)
Cellulose	30	1ml	350	60	Ja	Amberlite	0;3,75; 7,5;18,75;30 g	153	45	H <sub>2</sub> O (5ml)	

(\*) : Alle aufgelisteten Adsorptionsmittel

(\*\*) : Alle aufgelisteten Adsorptionsmittel außer NaCl, Seesand, Ascorbinsäure und Polyamid

(\*\*\*) : Ab hier wurde der Durchfluss mit Durchflussmesser gemessen (153 l/h)

Tab. 22d) Pflanzliche Matrices Chili und Hopfen sowie „gespikte“ Cellulosematrix(Teil 3)

Art	Trägerstoff	Extraktionsgut (g)	Spikingmix	Druck im Extraktor(bar)	Extraktor Temp. (°C)	Vorextraktion des Rohstoffes	Adsorbens (Adsm)	Adsm.Menge			CO <sub>2</sub> -Durchfluss (l/h)	Extraktionszeit (min)	Modifizier
1	Chili	50	---	350	60	Nein	---	---			100; 150; 200	30;60;90;120	---
2	Chili	50	---	350	60	Nein	Bleicherde	2,5	18,5	46,5	200	75	---
3	Chili	50	---	350	60	Nein	Celite	2,5	9,87	14,7	200	75	---
4	Chili	50	---	350	60	Nein	Florisil	2,5	16,9	14,6	200	75	---
5	Chili	50	---	350	60	Nein	Florisil 5% H <sub>2</sub> O	2,5	18,9	---	200	75	---
6	Chili	50	---	350	60	Nein	Florisil 10% H <sub>2</sub> O	2,5	21,4	---	200	75	---
7	Chili	50	---	350	60	Nein	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> basisch	2,5	30,6	50	200	75	---
8	Chili	50	---	350	60	Nein	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> neutral	2,5	29,3	50	200	75	---
9	Chili	50	---	350	60	Nein	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> sauer	2,5	19,1	50	200	75	---
10	Chili	50	---	350	60	Nein	Amberlite XAD-16	2,5	7,14	13,1	200	75	---
11	Chili	50	---	350	60	Nein	Kieselgur	2,5	4,11	13	200	75	---
12	Chili	50	---	350	60	Nein	Kieselgel	2,5	14,1	31,3	200	75	---
13	Chili	50	---	350	60	Nein	Kieselgel 5% H <sub>2</sub> O	2,5	15	---	200	75	---
14	Chili	50	---	350	60	Nein	Kieselgel 10% H <sub>2</sub> O	2,5	16,1	---	200	75	---
15	Chili	50	---	350	60	Nein	Mulit M72	2,5	43,3	50	200	75	---
16	Chili	50	---	350	60	Nein	Aktivkohle	2,5	13,6	34,8	200	75	---
17	Chili	50	---	350	60	Nein	Aerosil R972	2,5	3,1	11	200	75	---
18	Chili	50	---	350	60	Nein	Aerosil 380	2,5	2,72	8,27	200	75	---
19	Chili	50	---	350	60	Nein	Aerosil 130	2,5	2,5	5,07	200	75	---
20	Hopfen	50	---	280	35	Nein	---	---			260; 360	15; 30; 45; 60;75;90	---
21	Cellulose	50	****	280	35	Nein	Amberlite XAD-16	6,5 g (25 ml)			307	45	---
22	Cellulose	50	****	280	35	Nein	Kieselgur	4,4 g (25 ml)			307	45	---
23	Cellulose	50	****	280	35	Nein	Florisil	15,4 g (25 ml)			307	45	---
24	Cellulose	50	****	280	35	Nein	Kieselgel 0% H <sub>2</sub> O	14,0 g (25 ml)			307	45	---
25	Cellulose	50	****	280	35	Nein	Kieselgel H <sub>2</sub> O	15,3 g (25 ml)			307	45	---
26	Cellulose	50	****	280	35	Nein	Bleicherde	17,4 g (25 ml)			307	45	---
27	Cellulose	50	****	280	35	Nein	Celite 545	6,12 g (25 ml)			307	45	---
28	Cellulose	50	****	280	35	Nein	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> basisch	28,8 g (25 ml)			307	45	---

Fortsetzung Tab. 22d

Art	Trägerstoff	Extraktionsgut (g)	Spikingmix	Druck im Extraktor(bar)	Extraktor Temp. (°C)	Vorextraktion des Rohstoffes	Adsorbens (Adsm)	Adsm.Menge	CO <sub>2</sub> -Durchfluss (l/h)	Extraktionszeit (min)	Modifizier
29	Cellulose	50	****	280	35	Nein	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> sauer	19,4 g (25 ml)	307	45	---
30	Cellulose	50	****	280	35	Nein	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> neutral	26,2 g (25 ml)	307	45	---
31	Cellulose	50	****	280	35	Nein	Molekularsieb 3A	24,0 g (25 ml)	307	45	---
32	Cellulose	50	****	280	35	Nein	Aktivkohle	13,4 g (25 ml)	307	45	---
33	Cellulose	50	****	280	35	Nein	Mullite M72	40,6 g (25 ml)	307	45	---
34	Hopfen	50	---	280	35	Nein	Aktivkohle	0; 3; 7,12; 13,5; 26	307	45	---
35	Hopfen	50	---	280	35	Nein	Aktivkohle	0; 2,97; 9; 15; 28	307	45	Ethanol (10 ml)
36	Hopfen	50	---	280	35	Nein	Aktivkohle	0; 3,3; 8,7; 13; 27,6	307	45	Wasser (10 ml)
37	Hopfen	50	---	280	35	Nein	Bleicherde	0; 5; 12; 17,3; 31,6	307	45	---
38	Hopfen	50	---	280	35	Nein	Bleicherde	0; 5,5; 11,7; 16,2; 32,7	307	45	Ethanol (10 ml)
39	Hopfen	50	---	280	35	Nein	Bleicherde	0; 4; 10,7; 16,2; 32,9	307	45	Wasser (10 ml)
40	Hopfen	50	---	280	35	Nein	Kieselgur	0; 1; 2,4; 5; 9,3	307	45	---
41	Hopfen	50	---	280	35	Nein	Kieselgur	0; 1,12; 4,4; 5,8; 9,5	307	45	Ethanol (10 ml)
42	Hopfen	50	---	280	35	Nein	Kieselgur	0; 1,3; 2,8; 5,7; 10,8	307	45	Wasser (10 ml)
43	Hopfen	50	---	280	35	Nein	Kieselgel 0% Wasser	0; 4,4; 9,1; 12,6; 23,9	307	45	---
44	Hopfen	50	---	280	35	Nein	Kieselgel 0% Wasser	0; 3,8; 8,7; 13,5; 23,9	307	45	Ethanol (10 ml)
45	Hopfen	50	---	280	35	Nein	Kieselgel 0% Wasser	0; 4,2; 9,3; 13,6; 24,6	307	45	Wasser (10 ml)
46	Hopfen	50	---	280	35	Nein	Florisil	0; 4,9; 10,3; 14,9; 27,5	307	45	---
47	Hopfen	50	---	280	35	Nein	Florisil	0; 4,6; 9,6; 15,31; 26,95	307	45	Ethanol (10 ml)
48	Hopfen	50	---	280	35	Nein	Florisil	0; 5,4; 10,97; 15,93; 26,98	307	45	Wasser (10 ml)

\*\*\*\*: Mix bestehend jeweils aus 1500 ng Methidathion, 5000 ng Myclobutanil, 1500 ng Cyhalothrin, 1500 ng Bifendrin

## 4 ERGEBNISSE

### 4.1 Teil 1: Analytische Verfahren

Die Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit erforderte es, die in den Hochdruckextrakten mitextrahierten Pflanzenschutzmittel (PSM) quantitativ zu erfassen. Dies erwies sich als schwierig, da es sich bei den HD-Extrakten zumeist um Inhaltsstoffgemische mit Lipiden, Harzen und anderen, nicht aufgeklärten schwerflüchtigen bzw. höhermolekularen Substanzen handelte, welche als Störsubstanzen eine direkte GC/ECD-Analyse sehr erschwerten. Die Methode der Wahl zur Vorreinigung der Rohextrakte, mit der die Rückstände von der Hauptmenge der mitextrahierten Begleitstoffe abgetrennt werden konnten, war die *Gelpermeationschromatographie* (GPC), der bei Bedarf auch noch eine *Minisäulen-chromatographie* (MSChr) mit Kieselgel oder Florisil nachgeschaltet werden konnte (DFG S19-Methode der Deutschen Forschungsgemeinschaft [18]). Diese chromatographischen Verfahren wurden schon erfolgreich zur Probenaufarbeitung verschiedenster Lebensmittel- sowie Pflanzenextrakte zum Nachweis von insgesamt 220 lipid- und wasserlöslichen PSM eingesetzt [20]-[26]. In Tab. 23 und Abb. 21 wird der experimentelle Verfahrensablauf von der Pflanze bis zur Ermittlung der analytischen Ergebnisse (GC/ECD-Analyse der Kontaminanten u. HPLC-Analyse der Extraktinhaltsstoffe) dargestellt.

**Tab. 23: Schema eines gesamten experimentellen Ablaufs von der Pflanze über die Extraktion, Probenvorbereitung bis zur GC/ECD- oder HPLC-Analyse.**

Pflanze→Trocknen→Zermahlen→HD-Extraktion→HD-Extrakt		
Extrakt→Analytik	→Bestimmung Schadstoffe (Rückstände, z. B. Pflanzenschutzmittel, PCBs) →Bestimmung der Extrakt-Inhaltsstoffe (z. B. Capsaicin, $\alpha$ -Säuren)	
Bestimmung Kontaminanten	(a)→GPC→GC (b)→ GPC→MSChr→GC (c)→MSChr→GC	Alle drei Vorgänge mussten in diesem Teil der Arbeit getestet bzw. optimiert werden
Drei Fraktionen aus der GPC	(1) Dump (wird verworfen) (2) Collect (wird analysiert) (3) Wash (wird verworfen)	

Die DFG S19 –Methode musste zunächst so modifiziert werden, dass ein hoher Analysendurchsatz gewährleistet war und eine zeit- und kostenaufwendige Reinigung des empfindlichen GC-ECD-Systems vermieden wurde. Abbildung 22 zeigt das Chromatogramm einer Extraktprobe, die nach der klassischen DFG S 19-Methode aufgearbeitet wurde.



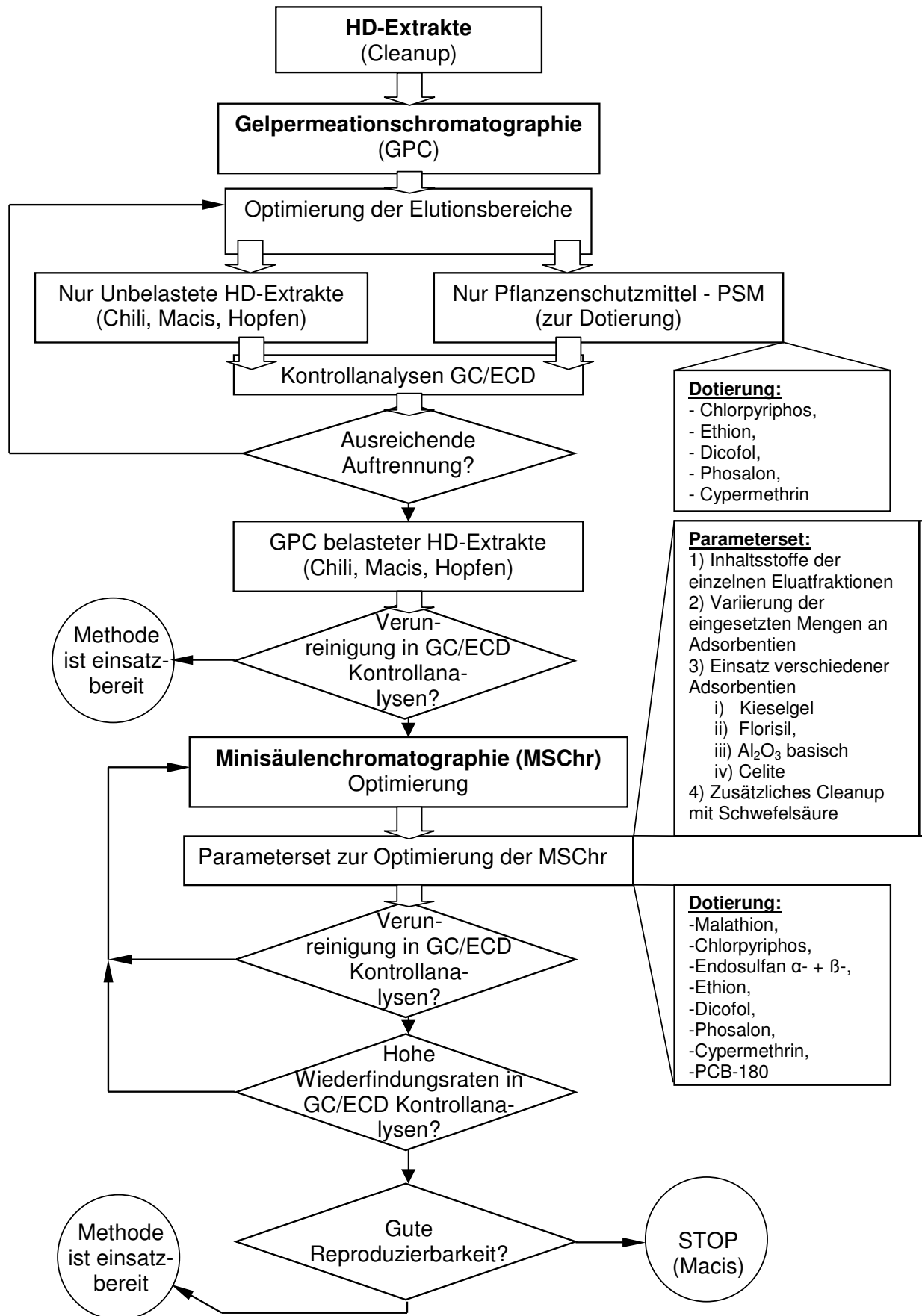
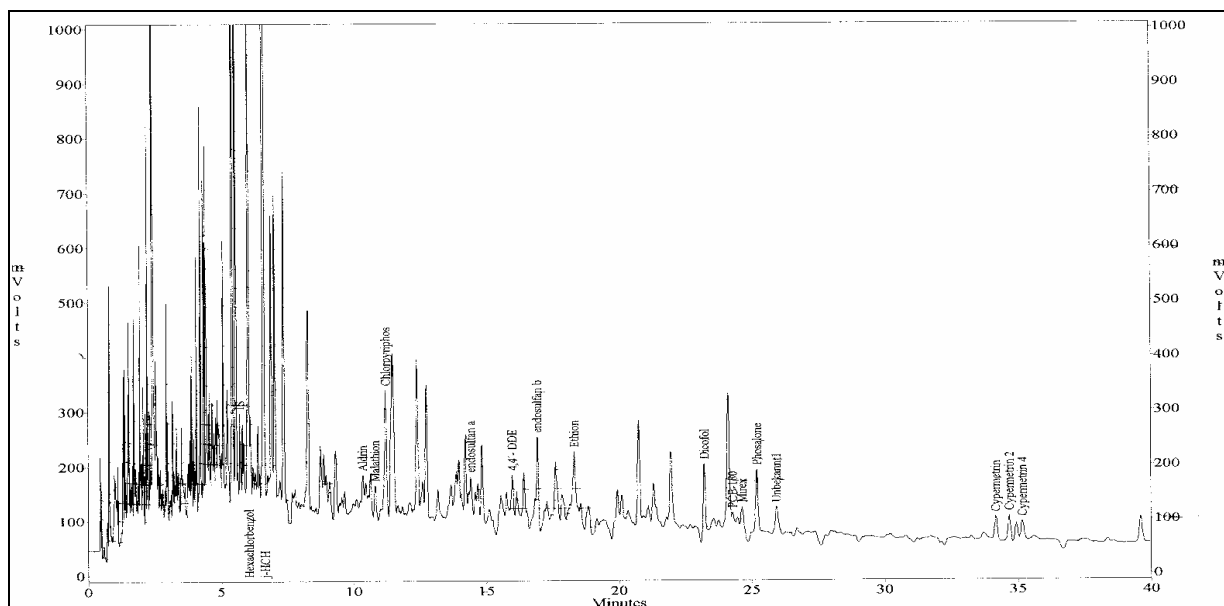


Abb. 21: Fließschema zur Optimierung der analytischen Verfahren (GPC, MSChr und GC/ECD-Analyse von Kontaminanten)

Vor allem im Retentionszeitenbereich bis 25 min sind hiernach in der Probe zahlreiche Verunreinigungen verblieben. Diese Peaks waren das erste Anzeichen für eine Ablagerung von Störsubstanzen im GC-System, die eine mögliche Beeinträchtigung der Trennleistung der Hochleistungskapillare und langfristig deren Zerstörung sowie ebenso Ablagerungen im Injektor- und Detektorsystem (Anode und Kathode des ECD) anzeigten. Nach der Injektion und Analyse mehrerer derartig verschmutzter Proben waren daher weitere reproduzierbare Analysen ausgeschlossen.



**Abb. 22:** Chromatogramm zur Bestimmung von Pflanzenschutzmitteln in einem HD-Extrakt nach Aufreinigung mit der klassischen DFG S19-Methode (GPC + MSChr).

Es musste also zunächst eine modifizierte rückstandsanalytische Methode entwickelt werden, die die quantitative GC/ECD-Bestimmung möglichst vieler unterschiedlicher Rückstände (PSM oder PCBs) nach möglichst verlustfreier und effektiver Vorreinigung von Pflanzenextraktstoffen (erwünschte Inhaltsstoffe und Extraktreste) zulässt. Dies würde die quantitative GC-Bestimmung in derart problematischen Substraten, wie den gewonnenen HD-Extrakten, auf Dauer weitgehend störungsfrei gewährleisten.

Nach einer Vorabdiagnose, in der bereits festgestellt wurde, dass die klassische DFG S19-Methode die oben formulierten Anforderungen nicht erfüllt, wurde folgendermaßen vorgegangen:

- Bestimmung und Optimierung der Elutionszeiten in der GPC,
- Test verschiedener Einflussparameter in der Mini-Säulenchromatographie (MSChr).

### **4.1.1 Bestimmung und Optimierung der Elutionsbereiche von Inhaltsstoffen und Rückständen im HD-Extrakt bei Anwendung der Gelpermeationschromatographie (GPC).**

#### **4.1.1.1 Elutionsbereiche in rückstandsfreien Chili-, Macis- und Hopfenextrakten**

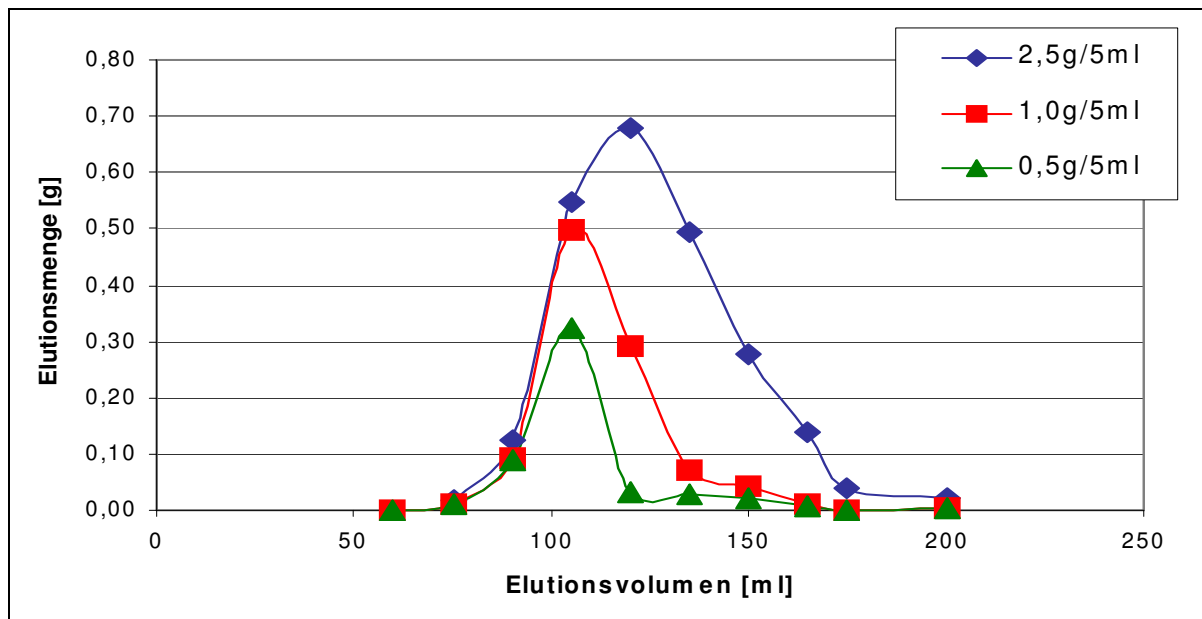
Kontaminantenfreier, handelsüblicher Chiliextrakt (jeweils 2,5 g; 1,0 g und 0,5 g in 5 ml) wurde mittels GPC getrennt und aufgereinigt. Mit dem Sammeln von Fraktionen zu je 15 ml wurde nach 60 ml Elutionsvolumen begonnen (Elutionsvolumen insgesamt: 60–175 ml). Die Fraktionen wurden quantitativ in gereinigte, zuvor gewogene Rundkolben überführt. Verworfen wurden die Eluate 0–60 ml (*Dump*) sowie 175–220 ml (*Wash*), da sie fast frei von Chiliextrakt-Inhaltsstoffen waren. Nach dem Abrotieren des Lösungsmittelgemisches wurde der verbliebene GPC-Rückstand gravimetrisch bestimmt, so dass die Rückstandsmasse gegen das Elutionsvolumen aufgetragen werden konnte. Sämtliche Versuchsparameter sind in der Tabelle 22 (S. 65–69) aufgeführt.

Kontaminantenfreier, handelsüblicher Macisextrakt (HD Extrakt, jeweils 2 g; 1 g und 0,5 g in 5 ml) wurde ebenfalls mittels GPC aufgereinigt. Mit dem Sammeln von acht Fraktionen zu je 15 ml (Elutionsvolumen insgesamt 120 ml; ab 80–200 ml) wurde nach 80 ml Elutionsvolumen begonnen. Die Fraktionen wurden quantitativ in gewogene Rundkolben überführt. Verworfen wurden die Eluate von 0–80 ml (*Dump*) sowie von 200–240 ml (*Wash*), da in diesen keine Macisextrakt-Inhaltsstoffe eluiert wurden.

Kontaminantenfreier, handelsüblicher HD-Hopfenextrakt (jeweils 1,0 g in 5 ml) wurde durch GPC vorgetrennt. Mit dem Sammeln von 22 Fraktionen zu je 7,5 ml (Elutionsvolumen insgesamt 165 ml; ab 90–255 ml) wurde nach 90 ml Elutionsvolumen begonnen. Die Fraktionen wurden, wie oben beschrieben, quantitativ in gewogene Rundkolben überführt. Verworfen wurden die Eluate von 0–90 ml (*Dump*) sowie von 255–300 ml (*Wash*).

In allen drei Fällen ergaben sich die Elutionsbereiche aus dem Auftragen der gravimetrisch ermittelten GPC-Rückstandsmasse gegen das Elutionsvolumen. Unter Einbeziehung gewogener Blindproben konnte bei der GC/ECD-Analyse kein Auftreten von Memory-Effekten in der GC-Säule festgestellt werden. In der Abbildung 23 sind die GPC-Elutionsmuster von PSM-freien Chiliextrakten dargestellt, bei Einsatz von jeweils 0,5; 1,0 und 2,5 g Totalextrakt/5 ml.

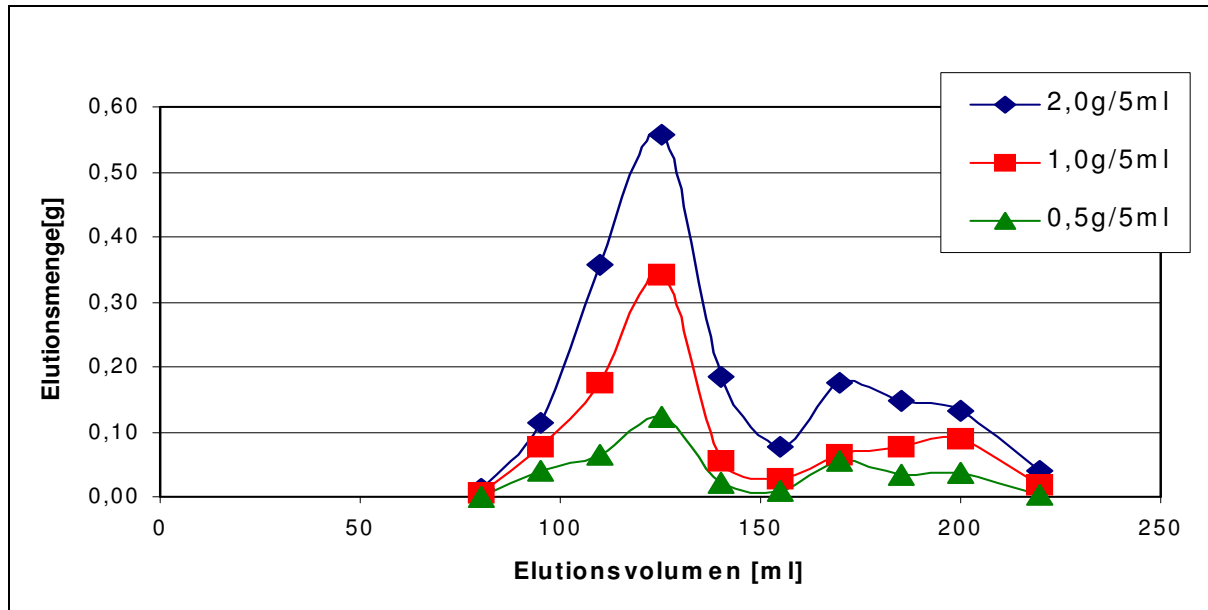
Beim Chiliextrakt lagen die durch Auswiegen der Elutionsmenge bestimmten Wiederfindungsraten bei  $99,4 \% \pm 5 \%$ . Das Volumen bis zur Elution der ersten Chilihaltstoffe (ca. 80 ml) blieb bei allen drei verwendeten Konzentrationen konstant. Es war immer nur ein Elutionspeak zwischen 100 und 125 ml zu beobachten, dessen exakte Position lediglich von der eingesetzten dotierten Extraktmenge abhing.



**Abb. 23:** Elutionsmuster von Chiliextrakt bei verschiedenen Konzentrationen.

Der Peak verhielt sich proportional zur verwendeten Chilikonkonzentration (Abb. 23). Da der Hauptteil der im Mix verwendeten PSM erst ab einem Gesamtvolumen von ca. 145 ml eluiert, wurde beim *Cleanup* mit der DFG S19-Methode für die folgenden Versuche eine Chiliextrakt-Konzentration von  $0,5 \text{ g} \times 5 \text{ ml}^{-1}$  ( $0,1 \text{ g ml}^{-1}$ ) verwendet, um eine ausreichende Trennung der Extraktinhaltsstoffe von den Lipiden und PSM zu gewährleisten.

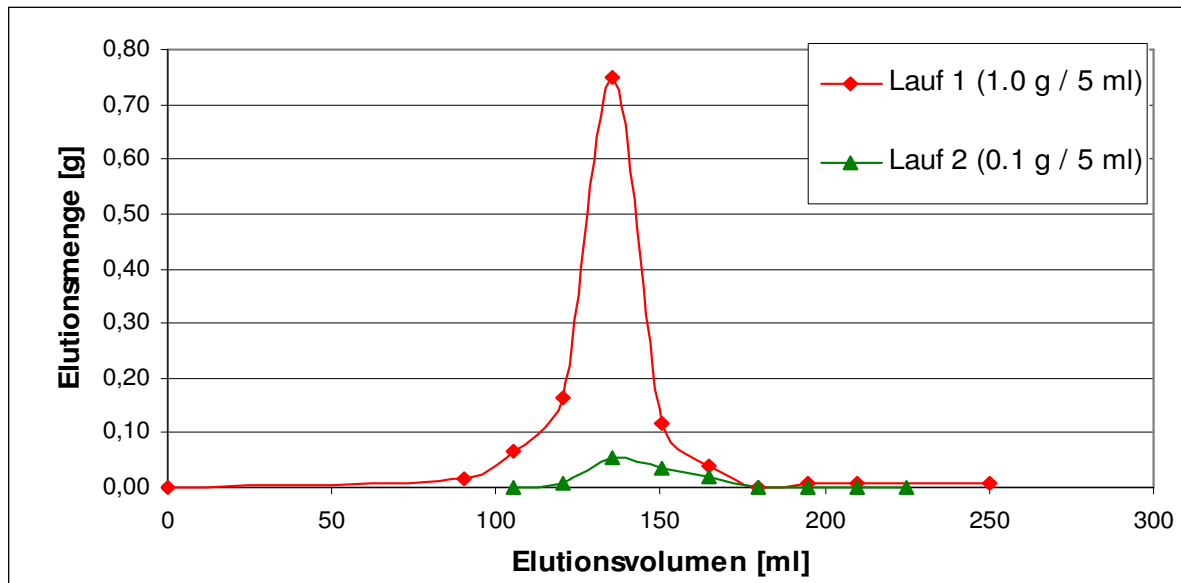
Abb. 24 zeigt die Elutionsmuster von PSM-freiem Macisextrakt nach der Untersuchung von drei verschiedenen Dotiermengen.



**Abb. 24: Elutionsmuster von Macisextrakt bei verschiedenen Konzentrationen.**

Das Auswiegen der Elutionsmenge ergab auch in diesem Fall Wiederfindungsraten von  $83 \% \pm 8 \%$ . Die Abb. 24 lässt eine Auftrennung in drei Peaks erkennen, wobei der erste die hochmolekularen Substanzen, wie z. B. Fette oder Lipide, repräsentiert und die beiden angetrennten, flachen Peaks vermutlich auf das Vorhandensein etherischer Öle zurückzuführen sind. Letzteres erklärt auch die etwas geringeren Wiederfindungsraten im Vergleich zu Chili, da beim Abdampfen des Lösungsmittels auch mit einem Verlust an flüchtigen etherischen Ölen gerechnet werden muss. Bei einer Extraktkonzentration von  $0,5 \text{ g} \times 5 \text{ ml}^{-1}$  (dies entspricht  $0,1 \text{ g} \times \text{ml}^{-1}$ ) wurden praktisch alle Lipide eluiert. Diese Probenmenge wurde bei den weiteren Analysen eingesetzt.

Die Abbildung 25 zeigt die Elutionsmuster von kontaminantenfreiem Hopfenextrakt bei einer Einsatzmenge von 1 g in 5 ml Probenlösung. Die Versuche mit Hopfen wurden in dieser Arbeit chronologisch später als die mit Chili und Macis durchgeführt, so dass die Elutionsbereiche der Hopfen-PSM bereits bekannt waren. Die Ergebnisse mit Chili und Macis zeigten, dass das Elutionsprofil in jedem Fall ähnlich war, und da die Ergebnisse mit 1 g Hopfen eine gute Auftrennung der Extraktinhaltsstoffe von den Kontaminanten zeigten, wurde aus Zeitgründen auf Versuche mit anderen Extraktmengen verzichtet. Anhand der in Abbildung 25 dargestellten Ergebnisse wurde die für die Rückstandsanalyse ausgewählte *Collect*-Fraktion auf den Bereich 142,5–255 ml eingegrenzt.

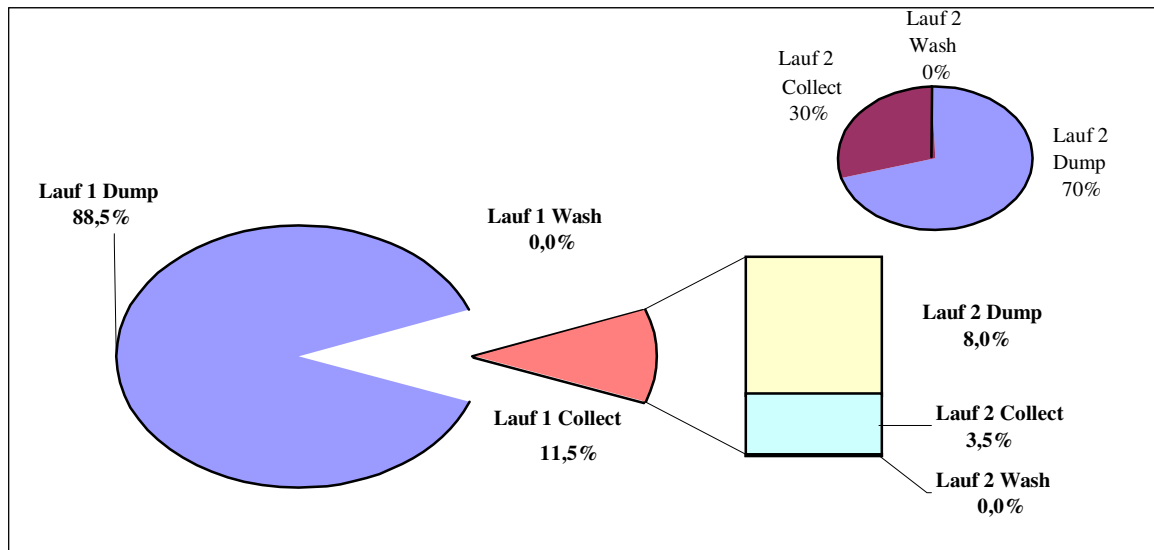


**Abb. 25: Elutionsmuster von Hopfenextrakt.**

(▲) zeigt das auf 5 ml eingeeugte Elutionsprofil eines Collects der Fraktionen von 142,5–255 ml bei der Injektion von 1.0 g/5 ml unter normalen Bedingungen.

Bei Hopfen wurde die *Collect*-Fraktion (142,5–255 ml) ein zweites Mal in die GPC-Säule eingespritzt, um zu überprüfen, ob sich die spät eluierenden Substanzen dabei anders verhalten, z. B. eine frühere Elutionszeit aufweisen, um somit von den Kontaminanten (PSM) evtl. noch besser abgetrennt werden zu können (Abb. 25).

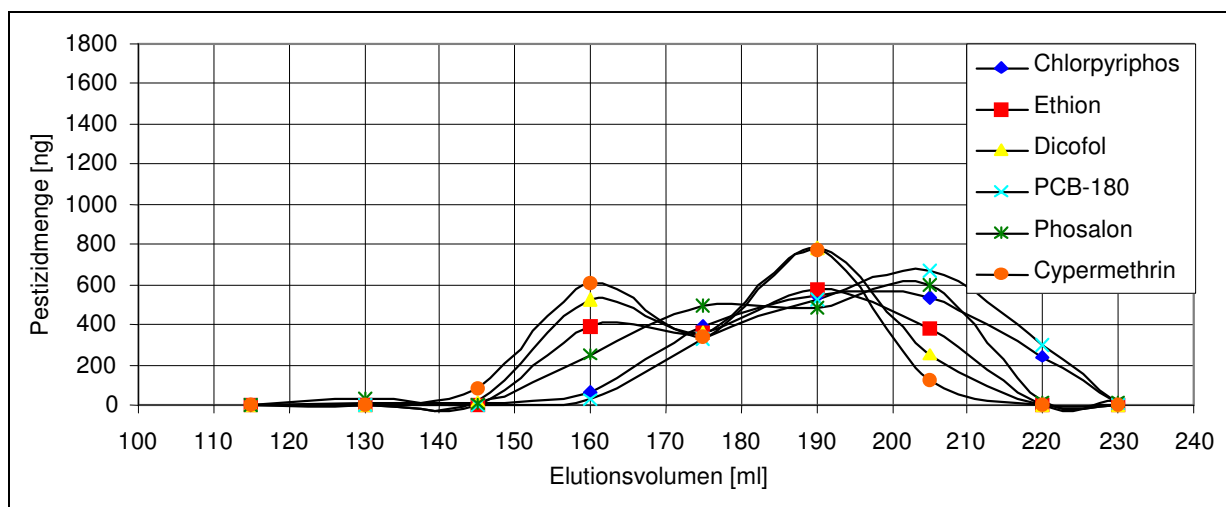
In detaillierter schematischer Form ist das Ergebnis in Abbildung 26 dargestellt. 11,5 % der eingesetzten Extraktangangs- masse sind im ersten und 3,5 % im zweiten *Collect* (ca. 1/3 der im ersten *Collect* gemessenen Gesamtmenge) zu finden. Tatsächlich war eine verbesserte Abtrennung zu beobachten. Trennleistung und Ausbeute der zweiten, angehängten GPC rechtfertigten jedoch nicht den Aufwand an Zeit und dabei verbrauchter Menge an Lösungsmitteln. Auf eine zweite GPC wurde daher in der Folge verzichtet. Aus der Abbildung 26 lässt sich für Hopfenextrakt (Einsatz von 1,0 g/5 ml) in der GPC (*Collect*fraktion von 142,5 bis 255 ml) die prozentuale, gravimetrisch ermittelte Gesamtausbeute erkennen (0.115 g aus ursprünglich 1,0 g Extrakt im *Collect I*). Wenn diese Fraktion nach der ersten GPC-Reinigung auf 5 ml eingeeugt und zur weiteren Reinigung erneut in das GPC-System eingebracht wurde, waren nach der zweiten GPC-Reinigung nur noch 3,5 % (4.025 mg) von 0,115 g im *Collect II* des zweiten Durchlaufes zu finden.



**Abb. 26:** Prozentuale Verteilung eines Hopfenextraktes beim Cleanup in einer GPC-Säule.  
 Unteres Bild: 1. Durchlauf; kleines Bild rechts oben: Zusammensetzung des Collects beim 2. Durchlauf.

#### 4.1.1.2 Elutionsbereiche der zur Dotierung eingesetzten Pflanzenschutzmittel

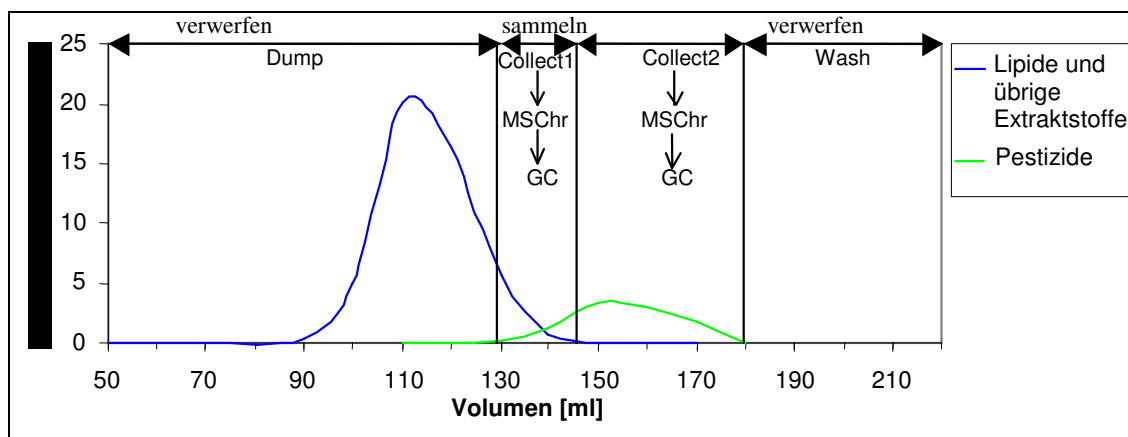
In ähnlicher Form wie in den Untersuchungen mit kontaminantenfreien HD-Extrakten beschrieben (s. Kap. 4.1.1), wurde ein PSM-Standardmix aus Chlorpyriphos, Ethion, Dicofof, Phosalon und Cypermethrin mit einer Konzentration von jeweils 375 ng/μl hergestellt. 5 ml davon (insgesamt 1,875 μg) wurden mittels GPC getrennt, und der Gehalt jeder einzelnen 15 ml-Fraktion mittels GC-ECD-Analyse untersucht. Mit Hilfe der Gaschromatographie wurden die einzelnen Kontaminanten quantitativ bestimmt und, umgerechnet, in Abb. 27 aufgetragen. Bei ca. 145 ml beginnt hier die Elution fast aller PSM und damit das Auffangen der *Collect*-Fraktion.



**Abb. 27:** Elutionsverhalten verschiedener dotierter Pflanzenschutzmittel bei der GPC.

In Abhängigkeit vom zuvor bestimmten Elutionsbereich der HD-Extrakte im GPC-Verfahren wurden zwei Elutionsbereiche festgelegt und als getrennte Fraktionen gesammelt (*Collect I* und *Collect II*). Im *Collect I* kam es noch zu Überschneidungen zwischen den Elutionsbereichen der Extrakt(Wirk)stoffe und der PSM (Kontaminanten). *Collect II* lag ausschließlich im extraktstofffreien Elutionsbereich (bzw. im reinen PSM-Bereich). Die eluierten Fraktionen, in denen kein dotiertes PSM vorhanden war (*Dump/Wash*), wurden ebenfalls verworfen. Abb. 28 veranschaulicht die Abgrenzung der *Collect*bereiche von *Dump* und *Wash*.

In *Collect I* (bei Chili: Elutionsvolumen ab 125 bis 175 ml, bei Macis: Elutionsvolumen ab 150 bis 200 ml und bei Hopfen: Elutionsvolumen 142,5 bis 200 ml) befanden sich geringe Extraktreste, vermischt mit einem geringen PSM-Anteil. Deshalb wurde *Collect I* einem zusätzlichen MSChr-Cleanup über die Kieselgelsäule unterworfen. Als *Collect II* wurde das Eluat bei Chili im Elutionsbereich 175–225 ml, bei Macis 200–250 ml und bei Hopfen 200–255 ml definiert.

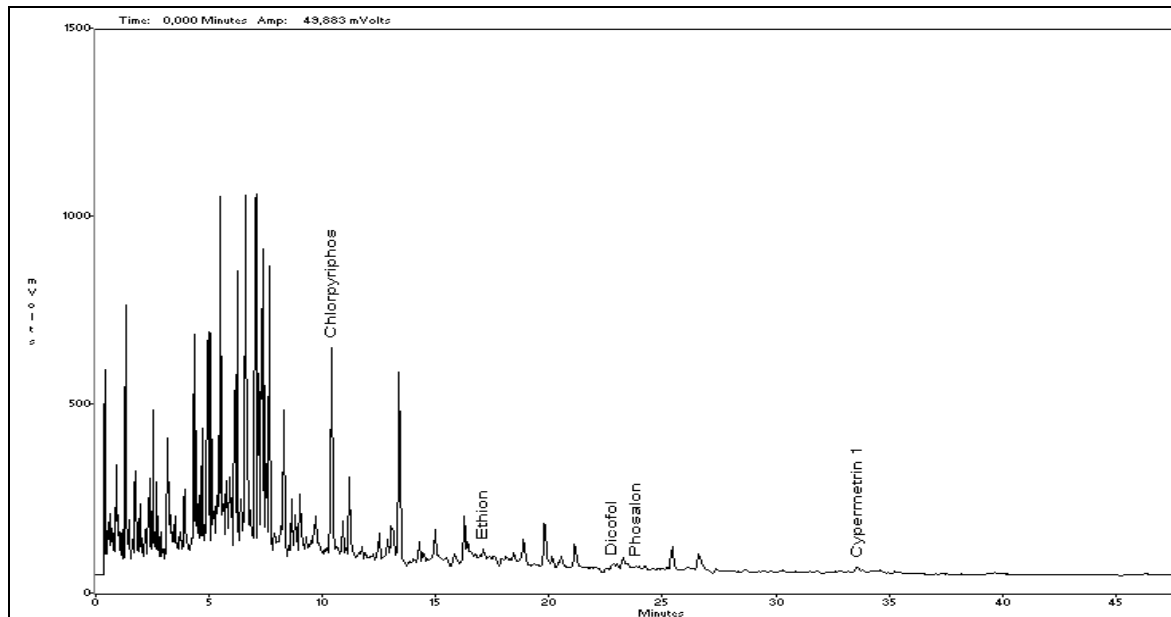


**Abb. 28:** Schematische Darstellung der Elutionsbereiche von Extrakt- bzw. Lipidbegleitstoffen und Pflanzenschutzmitteln (MSChr\* = Cleanup über Minikieselgelsäule).

Sowohl Chili- als auch Macisextrakte, welche mit einer Konzentration von 0,5 g in 5 ml, d. h.  $0,1 \text{ g} \times \text{ml}^{-1}$  eingesetzt wurden, enthielten aber, wie nach Behandlung mit der DFG S19-Methode, bei der GC-Analyse einen unterschiedlichen Restgehalt an Störsubstanzen.

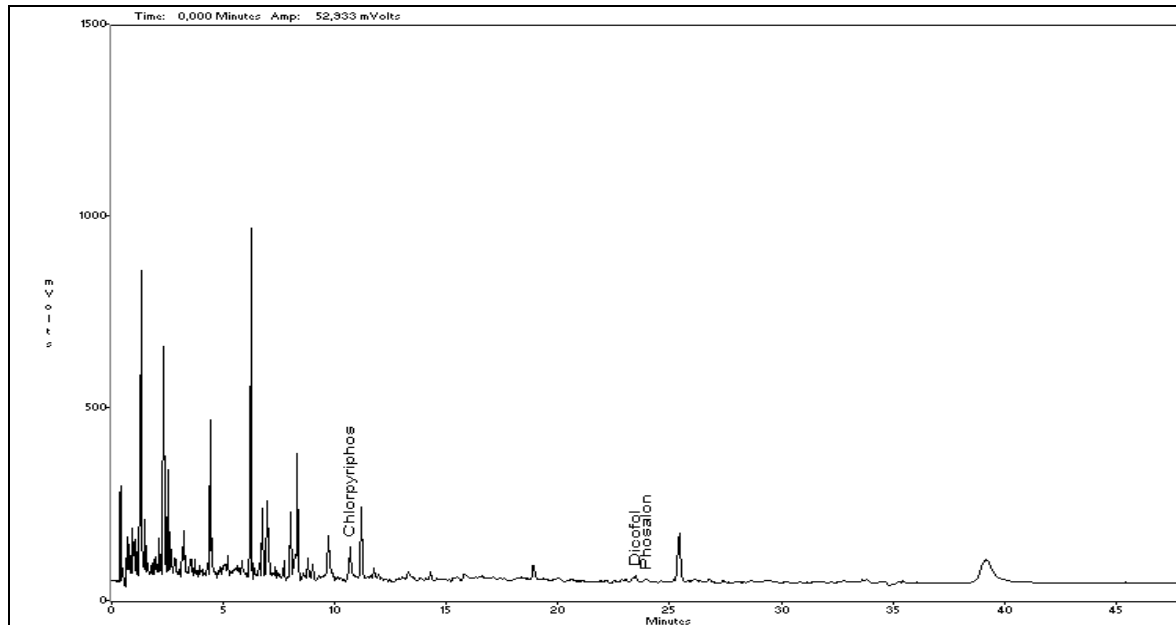


Die Aufreinigung des Chiliextrakts gelang bis auf relativ wenig Störstoffe in *Collect II*. In den Folgeversuchen wurde daher *Collect II* ebenso wie *Collect I* mit Hilfe der Minikieselgel-säulenchromatographie nachgereinigt. Wie aus den Abbildungen 29 und 30 hervorgeht, weisen die Chromatogramme des Chili-*Collects II* mit MSChr-Nachbehandlung einen deutlich störstofffreien Verlauf auf.



**Abb. 29:** Chromatogramm eines kontaminantenfreien Chiliextraktes nach GPC-Cleanup, ohne Minikieselgelsäulenbehandlung, Elutionsvolumen: 175-225 ml (*Collect II*).

Bei Macisextrakt blieben vor allem in *Collect I*, aber auch in *Collect II*, deutlich mehr störende Stoffe zurück als beim Chiliextrakt. Auch eine Nachbehandlung von *Collect II* erzielte nicht die mit Chili erreichten guten Resultate. Störpeaks im Retentionsbereich der ersten 10 min erschwerten die Identifizierung und verursachten langfristig eine Verunreinigung des gesamten GC-Trennsystems.



**Abb. 30:** Chromatogramm eines kontaminierten Chiliextraktes nach der GPC, mit Minikieselgelsäulenbehandlung.  
Elutionsvolumen: 175-225 ml (*Collect II*).

Trotz dieser Störpeaks wurden die Wiederfindungsraten nach Anwendung der DFG S19-Methode bestimmt (Konzentration des eingesetzten PSM-Mixes: zunächst  $1000 \text{ ng ml}^{-1}$  und später reduziert auf  $500 \text{ ng ml}^{-1}$ ). (Die Analytik von Hopfen wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit später vorgenommen).

#### 4.1.1.3 Ergebnisse mit dotierten Chili- und Macisextrakten

Die bei der GC-ECD-Doppelbestimmung gemessenen Werte sind für Chili (dotiert mit  $1000 \text{ ng ml}^{-1}$ , s. Tab. 24 und dotiert mit  $500 \text{ ng ml}^{-1}$ , s. Tab. 26) sowie Macis (Tab. 25) zusammengefasst. In diesen Tabellen sind die Mittelwerte der in beiden *Collect*-Fraktionen gefundenen Kontaminantenmengen sowie der Anteil an der Gesamtkontaminantenmenge im *Collect* und die Gesamtwiederfindungsraten aufgeführt.

Die Versuche mit Macis wurden hier endgültig abgebrochen, nachdem die GC/ECD-Analyse eine zu starke Verschmutzung der Proben, selbst nach *Cleanup* mit GPC und MSChr, aufzeigte: Eine reproduzierbare Bestimmung der PSM und ihrer Wiederfindungsraten war nicht möglich.

**Tab. 24:** Ergebnisse und Wiederfindungsraten (WFR) eines mit jeweils 1000 ng Pflanzenschutzmittel ml<sup>-1</sup> dotierten HD-Chiliextraktes (GPC + MSChr, Kieselgel).

Kontaminanten	Durchlauf 1				WFR gesamt
	Mittelwert		Anteil in	Anteil in	
	Collect I	Collect II	Collect I	Collect II	
Chlorpyrifos	1,02 µg	0 µg	100%	0%	<b>102%</b>
Ethion	1,19 µg	0 µg	100%	0%	<b>119%</b>
Dicofol	0,73 µg	0 µg	100%	0%	<b>73%</b>
Phosalon	0,75 µg	0,27 µg	74%	26%	<b>102%</b>
Cypermethrin	1,02 µg	0,05 µg	95%	5%	<b>107%</b>

**Tab. 25:** Ergebnisse und Wiederfindungsraten (WFR) eines mit jeweils 1000 ng Pflanzenschutzmittel ml<sup>-1</sup> dotierten HD-Macisextraktes (GPC + MSChr, Kieselgel).

Kontaminanten	Durchlauf 1				WFR gesamt
	Mittelwert		Anteil in	Anteil in	
	Collect I	Collect II	Collect I	Collect II	
Chlorpyrifos	0,90 µg	0 µg	100%	0%	<b>90%</b>
Ethion	0,98 µg	0 µg	100%	0%	<b>98%</b>
Dicofol	0,80 µg	0 µg	100%	0%	<b>80%</b>
Phosalon	1,25 µg	0 µg	100%	0%	<b>125%</b>
Cypermethrin	0,41 µg	0,05 µg	89%	11%	<b>46%</b>

**Tab. 26:** Ergebnisse und Wiederfindungsraten (WFR) eines mit jeweils 500 ng Pflanzenschutzmittel ml<sup>-1</sup> dotierten HD-Chiliextraktes (GPC + MSChr, Kieselgel).

Kontaminanten	Durchlauf 1				WFR
	Mittelwert		Anteil in	Anteil in	
	Collect I	Collect II	Collect I	Collect II	
Chlorpyrifos	0,51 µg	0 µg	100%	0%	<b>102%</b>
Ethion	0,54 µg	0 µg	100%	0%	<b>109%</b>
Dicofol	0,24 µg	0 µg	100%	0%	<b>47%</b>
Phosalon	0,43 µg	0 µg	100%	0%	<b>86%</b>
Cypermethrin	0,48 µg	0,05 µg	91%	9%	<b>96%</b>

Als Gesamtergebnis dieses Teiles der Vorversuche wurden die in der Tabelle 27 aufgelisteten Elutionsparameter für die GPC-Cleanups ausgewählt.

**Tab. 27: Elutionsparameter zur GPC von Chili, Macis und Hopfen.**

Stoff	Dump (ml)		Collect (ml)		Wash (ml)	
	Anfang	Ende	Anfang	Ende	Anfang	Ende
Chili	0	140	140	240	240	275
Macis	0	150	150	250	250	290
Hopfen	0	142,5	142,5	250	250	300
Durchfluss 5 ml/min						
Einspritzmenge:		5 ml Probe enthielten jeweils:		Chili	Macis	Hopfen
				0.5 g	---	25 mg
Elutionsmittel		Ethylacetat:Cyclohexan 1:1				

#### 4.1.2 Optimierung der Minisäulenchromatographie (MSChr)

Wie oben bereits erwähnt (s. Kap. 3.7), wird gemäß der DFG S19-Standardmethode ein zusätzlicher Reinigungsschritt empfohlen. Es handelt sich um die Minisäulenchromatographie (MSChr), die durchgeführt werden soll, wenn die Proben nach dem GPC-Cleanup noch nicht rein genug sind. Aber selbst dieser zweite Reinigungsschritt reichte hier zur weiteren Aufreinigung der GC-Proben oft nicht aus. Die weiterhin auftretende starke Verschmutzung des GC-Systems (Injektor-Säule-ECD) durch zahlreiche Artefakte zwang uns dazu, auch diesen Reinigungsschritt zu verbessern.

In mehr als 100 Vorversuchen wurden die gesamte Vorreinigung durch Variation der im Folgenden aufgelisteten einschlägigen Parameter optimiert:

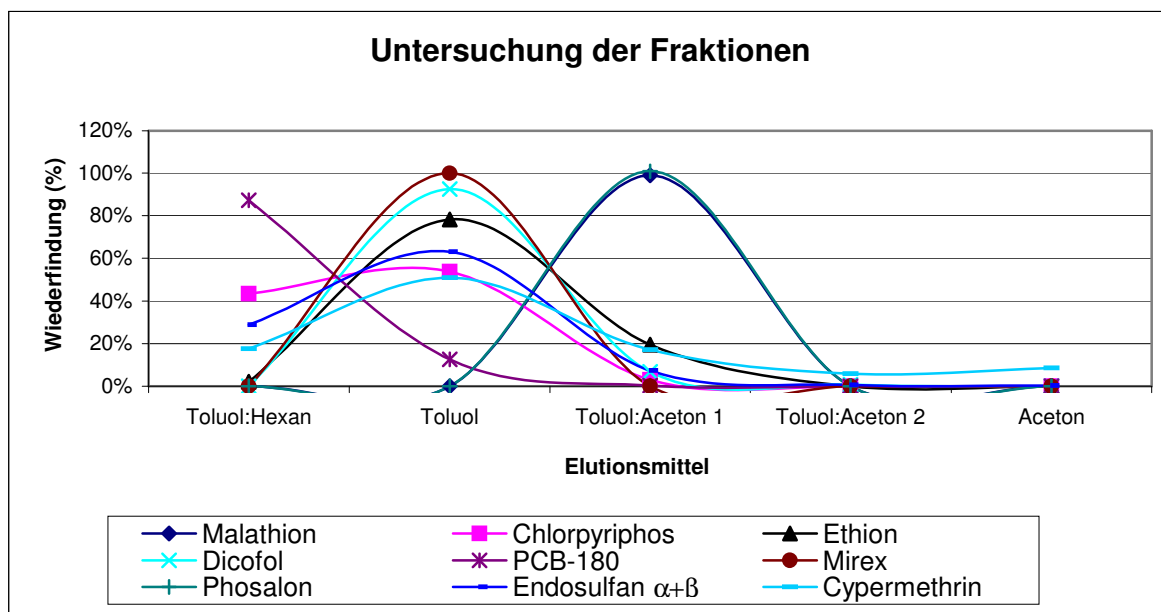
- Matrixmenge, Elutionsmitteleffektivität, verwendete Adsorptionsmittel;
- Änderung der Aktivität einiger Adsorptionsmittel und der Säulenlänge bei der MSChr; Verunreinigung der eingesetzten Adsorptions- und Elutionsmittel (trotz Anwendung von p. a.-Qualität aller Materialien war ein Qualitätstest jeder Charge unbedingt erforderlich);
- Tests alternativer Reinigungsmethoden (Schwefelsäure-Cleanup).

Die dabei erzielten relevantesten Ergebnisse werden nachfolgend kurz skizziert.

#### 4.1.2.1 Untersuchung der einzelnen Fraktionen der Mini-Säulenchromatographie

Im Rahmen der MSChr wurde zunächst mit der gängigen Fraktionierungsmethode (Toluol/nHexan 60 : 40; Toluol; Toluol/Aceton 95 : 5; Toluol/Aceton 80 : 20 und Aceton) eine mittels GPC vorgereinigte Probe zusammen mit einem Kontaminanten-Mix (ng/μl: Malathion 0,825; Chlorpyriphos 11,16; α- + β-Endosulfan 9,513; Ethion 7,404; Dicofol 13,287; PCB-180 11,865; Phosalon 4,932; Cypermethrin 10,026) untersucht.

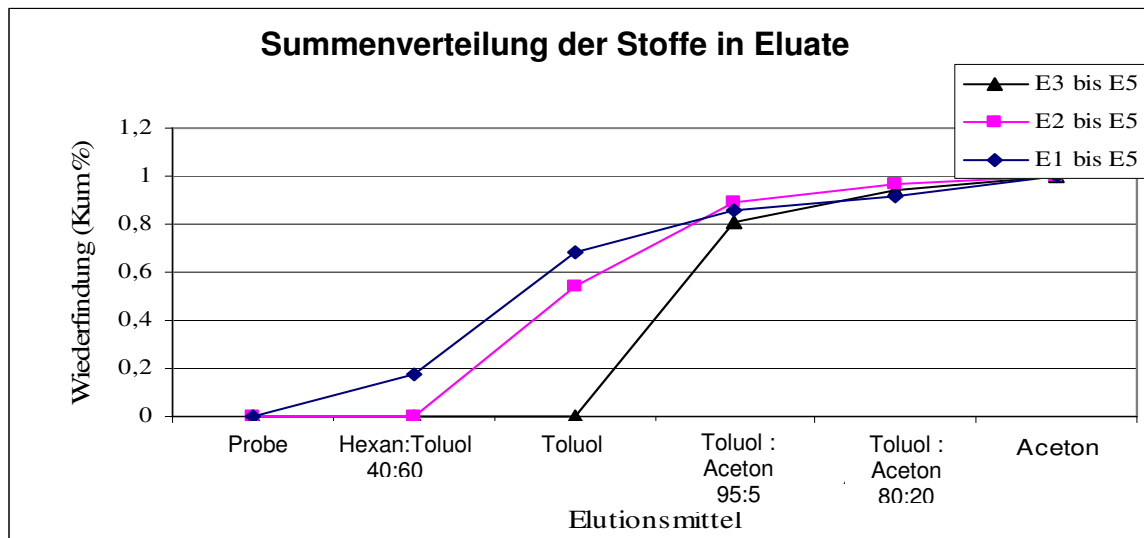
Jede Fraktion wurde einzeln aufgefangen, auf 1 ml eingengt und analysiert, um festzustellen, welche Kontaminanten mit welchem Elutionsmittel eluiert werden (Abb. 31)



**Abb. 31: Nachgewiesene Kontaminanten (Pflanzenschutzmittel + PCB-180) in den einzelnen Fraktionen der Minisäulenchromatographie (MSChr).**

Der Abbildung 31 ist zu entnehmen, dass PCB-180 in der ersten Fraktion aus Hexan :Toluol 40 : 60 zu ca. 90 % eluiert. Mit Ausnahme von Malathion und Phosalon wurden alle anderen dotierten PSM weitgehend von den ersten drei Lösungsmitteln eluiert (n-Hexan/Toluol 40 : 60; Toluol; Toluol/Aceton 95 :5). Lediglich Malathion und Phosalon wurden fast ausschließlich durch Toluol : Aceton 95 : 5 eluiert. Reines Aceton (Elutionsmittel 5) trug nicht wesentlich zur Elution der PSM bei. Da in der Aceton-Fraktion normalerweise große Mengen an Störsubstanzen aus der Matrix erschienen, wurde diese Fraktion verworfen.

Im folgenden Schritt wurde auf die beiden ersten Fraktionen der Elutionsreihe verzichtet (Toluol : n-Hexan, reines Toluol). Das Resultat wurde anhand eines Versuches, in dem alle Fraktionen der Elutionsreihe in der MSChr vereinigt worden waren, analytisch verglichen, um festzustellen, ob die Kontaminanten auch ohne die Elutionsmittel 1 und 2 in gleicher Ausbeute eluiert werden können (Abb. 32). Auf diese Weise wurde erneut – entsprechend des Ergebnisses des vorherigen Versuches – bestätigt, dass auf Aceton verzichtet werden kann. Ein Verzicht auf Toluol : n-Hexan und Toluol ist jedoch keinesfalls möglich. Toluol : n-Hexan (1. Fraktion) eluiert etwa 20 % aller PSM und Toluol (2. Fraktion) immerhin ca. 50 %.



**Abb. 32:** Summenverteilung der Elution aller Pflanzenschutzmittel in Abhängigkeit vom Beginn des Auffangens der einzelnen Fraktionsabschnitte (Elutionsmittel).

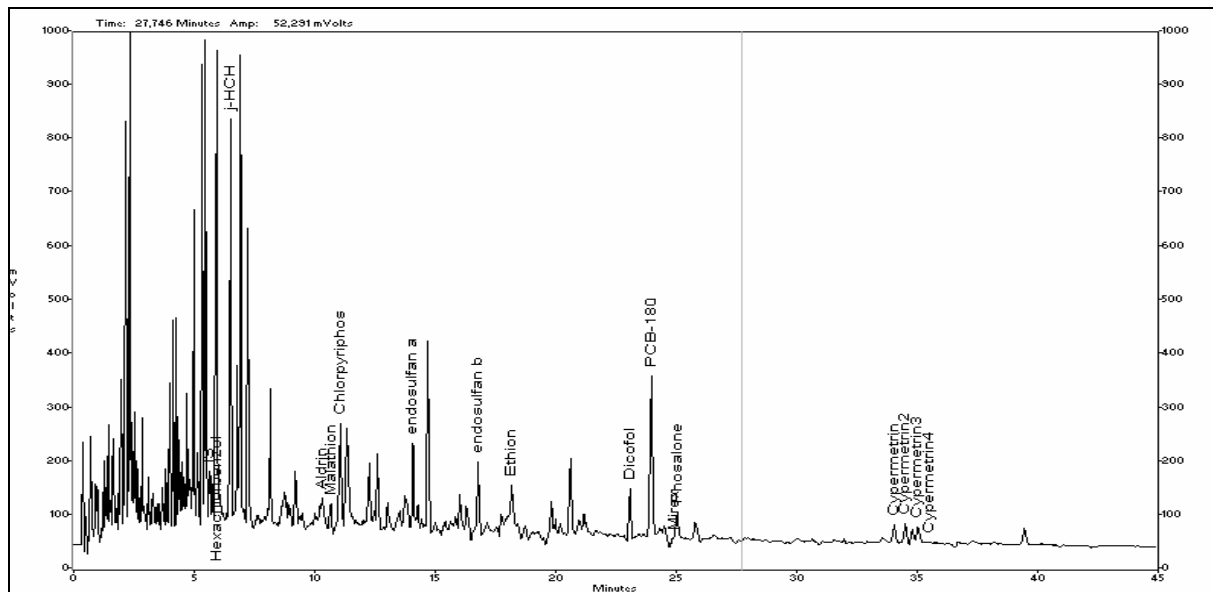
Abb. 32 zeigt die Verschiebung der Elution nochmals ganz deutlich. Trotz unterschiedlichen Beginns gelangen die Kurven alle zu einem gemeinsamen Endpunkt. Je mehr Elutionsmittel einbezogen werden, desto flacher verläuft die summarische Wiederfindungsratenkurve, weil eine Verteilung auf die einzelnen Elutionsmittel stattfindet. Dieses Phänomen führte uns zu der Schlussfolgerung, die gesamte Elutionsreihe bis auf Aceton beizubehalten, um somit die Fehlerstreuung möglichst gering zu halten.

#### 4.1.2.2 Test verschiedener Einsatzmengen an Kieselgel bei der MSChr

Die Dimensionierung der Minisäule ermöglichte den Einsatz von 1 g, 1,5 g und maximal 2 g Kieselgel. Mit Rückständen dotierte, GPC-vorgereinigte Chili-HD-Extrakte (Dotierung in ng: Malathion 8,76; Chlorpyrifos 133,6;  $\alpha$ - +  $\beta$ -Endosulfan 89,12; Ethion 63,76; Dicofol 130,4;

PCB-180 113,72; Phosalon 38,72; Cypermethrin 106,8) wurden mit MSChr aufgereinigt, die vereinigten Fraktionen eingengt und schließlich am GC analysiert.

Die Entscheidung über die zur MSChr einzusetzende Menge an Kieselgel wurde anhand zweier Kriterien getroffen, nämlich der Wiederfindungsraten und der Auswertbarkeit der dabei erhaltenen Gaschromatogramme. Da die Basislinien (Abb. 33) in den Versuchen mit 2 g Kieselgel weitgehend störungsfrei waren, wurde diese Menge bei den weiteren Versuchen eingesetzt.



**Abb. 33:** GC/ECD-Chromatogramm zur Verdeutlichung des Einflusses der bei der MSChr eingesetzten Kieselgelmenge (hier 2 g) auf den Verlauf der Basislinie.

#### 4.1.2.3 Test anderer Adsorptionsmittel bei der MSChr

Obwohl Kieselgel ein universell einsetzbares, preiswertes Mittel ist, war es von Interesse zu bestätigen, ob andere Materialien bei der MSChr die Abtrennung der restlichen Matrixkomponenten von den durch quantitative GC/ECD-Analyse zu bestimmenden Kontaminanten möglicherweise besser erfüllen könnten. Neben Kieselgel wurden daher Florisil, Aluminiumoxid und Celite getestet. Diese Adsorptionsmittel wurden wie Kieselgel vorbehandelt, also ebenfalls auf einen Wassergehalt von 1,5 % eingestellt und in einer Menge von 1 g angewendet. Die MSChr wurde analog zur Kieselgel-SC mit den dotierten und mittels GPC vorgereinigten Chili-HD-Extrakten durchgeführt (Dotierung in ng: Malathion 8,76;

Chlorpyrifos 133,6;  $\alpha$ - +  $\beta$ -Endosulfan 89,12; Ethion 63,76; Dicofol 130,4; PCB-180 113,72; Phosalon 38,7; Cypermethrin 106,8).

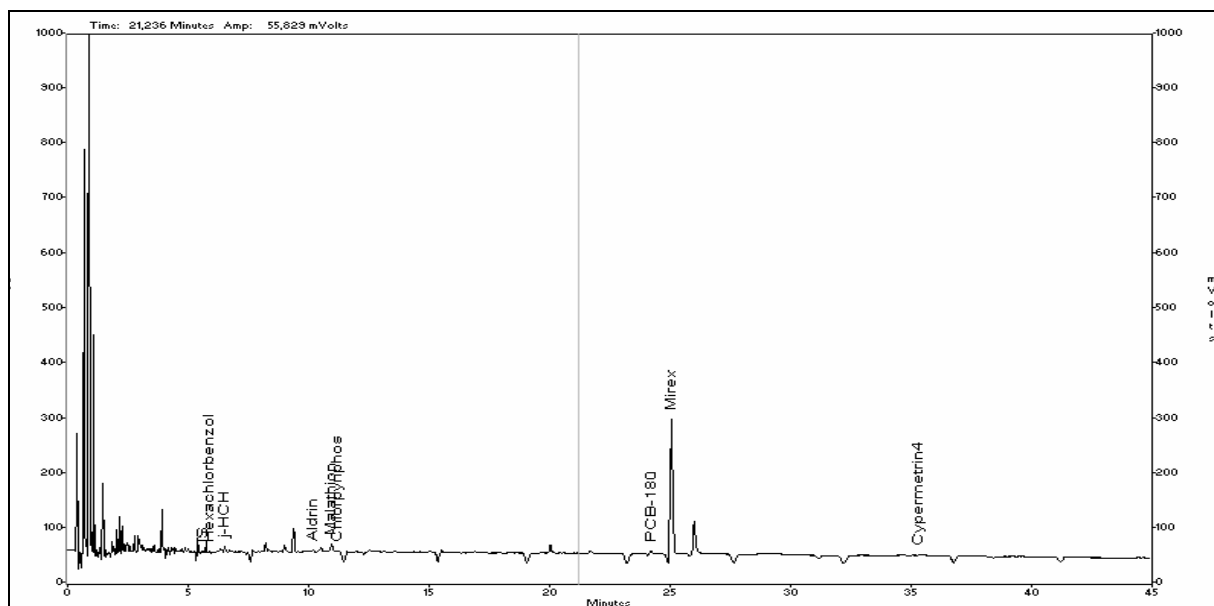
Alle Adsorptionsmittel zeigten ein schlechteres Elutionsverhalten als Kieselgel und lieferten keine besseren Wiederfindungsraten.

#### 4.1.2.4 Bestimmung der Ausgangsverunreinigung des als Adsorbens eingesetzten Kieselgels

Zur Bestimmung der Ausgangsverunreinigung des als Adsorbens eingesetzten Kieselgels wurde handelsübliches Kieselgel in p. a.-Qualität mit n-Hexan eluiert und eingesetzt, wie zuvor beschrieben (s. Kap. 3.7). In weiteren Versuchsreihen wurde es mit Aceton und Hexan/Aceton voreluiert. Schließlich wurde dieses Adsorbens mit Hexan und anschließend zweimal mit Aceton vorgereinigt. Die Versuche wurden als Blindversuche ohne Probenmaterial durchgeführt.

Diese Vorreinigung führte zu einer Verbesserung der Basislinie (Abb. 34). Am effektivsten erwies sich eine Abfolge von drei Reinigungsschritten: Hexan einfach, Aceton zweifach.

Bei der oben beschriebenen GC-Kontrollanalyse der einzelnen Fraktionen waren Verunreinigungen stets in der Toluol-Fraktion zu beobachten. Auf diese Fraktion kann jedoch nicht verzichtet werden (Elution von ca. 50% PSM).

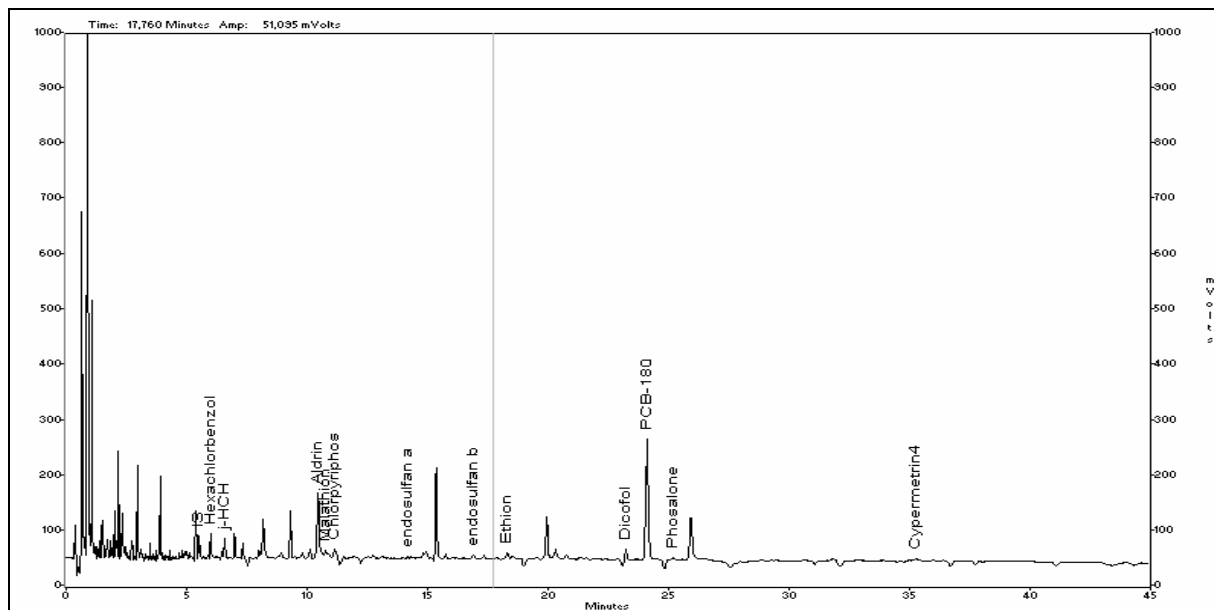


**Abb. 34:** Chromatogramm zur Darstellung der Vorreinigungsschritte des verwendeten Packungsmaterials Kieselgel (mit 6 ml n-Hexan und 12 ml Aceton vorgereinigt).



### 4.1.3 Schwefelsäure-Cleanup

Ein weiterer Versuch sollte die Effektivität eines zusätzlichen *Cleanup*-Schrittes mit Schwefelsäure zeigen, die in der Rückstandsanalytik häufig zur Aufreinigung eingesetzt wird.



**Abb. 35:** Gaschromatogramm der mittels Schwefelsäure-*Cleanup* aufgereinigten Probe.

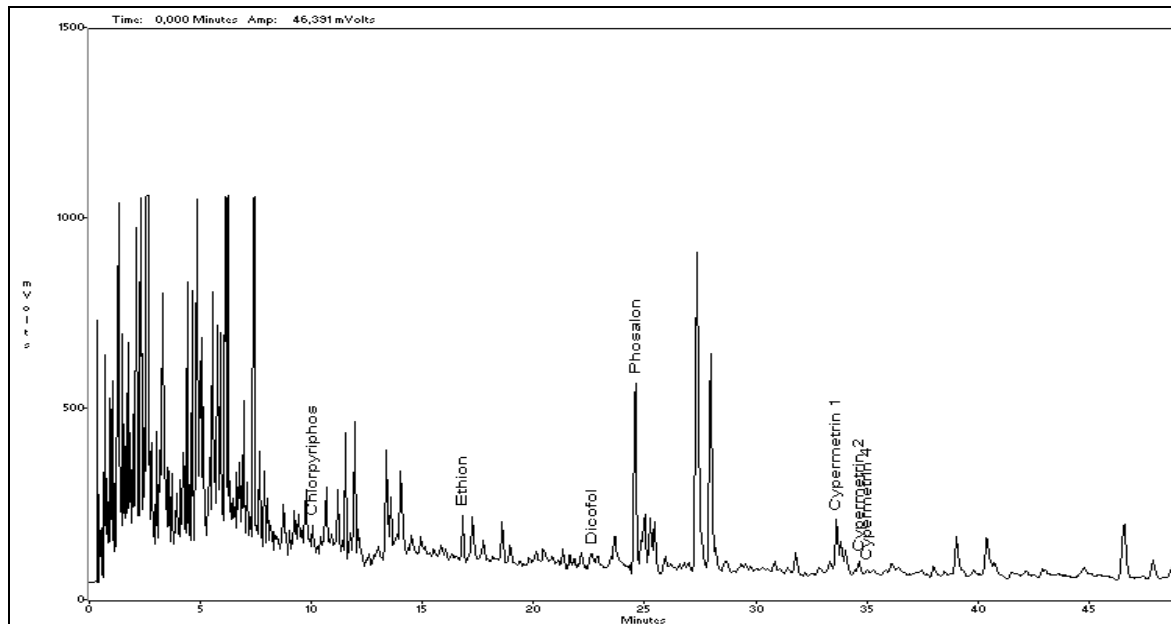
Wie das Ergebnis (Abb. 35) zeigt, waren in der aufgereinigten Probe zwar kaum Störsubstanzen vorhanden, doch die dotierten PSM (ausser Kontaminant PCB-180) wurden mehr oder minder stark zersetzt. Daher ist diese *Cleanup*-Methode für vergleichende, quantitative Versuchsserien weniger bzw. nicht geeignet.

### 4.1.4 Bestätigung der bisher erzielten Ergebnisse aus den Vorversuchen

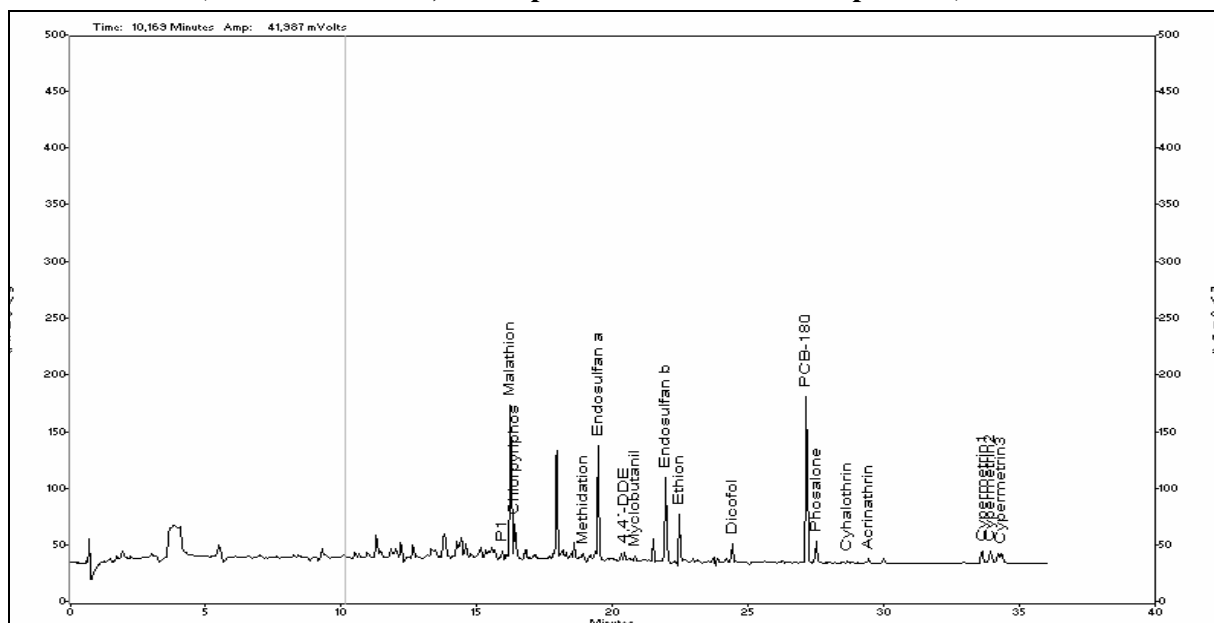
Zur Bestätigung der bisher ermittelten Einflussparameter auf das Proben-*Cleanup* und die Reproduzierbarkeit der zum Vergleich der im Rahmen der einzelnen Teilziele herangezogenen GC/ECD-Analyse wurden sechs gleichartige Kontrollanalysen durchgeführt (Säulen mit 2 g vorgereinigtem Kieselgel – 1x mit Hexan und 2x mit Aceton vorgereinigt – gepackt; Elutionsmittel: n-Hexan, Hexan/Toluol, Toluol; dotierte, mit GPC vorgereinigte Chili-HD-Extrakte als

Probenmaterial, Dotierung in ng: Malathion 8,76; Chlorpyrifos 133,6;  $\alpha$ - +  $\beta$ -Endosulfan 89,12; Ethion 63,76; Dicofol 130,4; PCB-180 113,72; Phosalon 38,72; Cypermethrin 106,8).

Wie ein Vergleich der Chromatogramme dieser dotierten HD-Chiliextrakte zeigt (Abb. 36 und Abb. 37), führte das modifizierte Proben-Cleanup zu erheblichen Verbesserungen. Zur Validierung wurde diese optimierte Methode nun jeweils sechsmal mit einem Chili- und einem Hopfenextrakt, jeweils dotiert mit einem Kontaminanten-Mix, wiederholt.



**Abb. 36:** Analyse einer dotierten Probe (HD-Chiliextrakt) nach der DFG S19-Methode (Standardmethode, GCP optimiert + MSChr nicht optimiert).



**Abb. 37:** Analyse einer dotierten Probe (HD-Chiliextrakt) nach der DFG S19-Methode (modifizierte Methode, GCP-optimiert + MSChr-optimiert).

Dabei ergaben sich Wiederfindungsraten von 88-110 %; die jeweiligen Konfidenzintervalle reichten von 3–7 % [t (0,67)] und 11–30 % [t (0,95)]. Die Tabelle 28 zeigt die Konfidenzintervalle aus den Ergebnissen der Methodenvalidierungsversuche, unter Zugrundelegung einer Konfidenzzahl von  $\gamma = 95$  %.

**Tab. 28:** Konfidenzintervalle (mittels GC-ECD-Analyse) bei einem leeren Analyten-Mix und einer realen Probe (Chili- und Hopfen-HD-Extrakte) bei Anwendung einer Konfidenzzahl von  $\gamma = 95$  %.

Pflanzenschutzmittel	Nur Mix (ohne Extrakt) [%]	Chiliextrakt [%]	Hopfenextrakt [%]
Malathion	±17	±30	N.V.
Aldrin	±17	±15	N.V.
Chlorpyrifos	±14	±11	N.V.
Endosulfan	±10	±15	N.V.
4,4-DDE	±10	±11	N.V.
Ethion	±19	±15	N.V.
Dicofol	±20	±20	N.V.
Phosalon	N.V.	±12	N.V.
Cypermethrin	±20	±19	N.V.
Methidathion	±28	N.V.	±7
Myclobutanil	±19	N.V.	±10
Bifendrin	±19	N.V.	±7
Cyhalothrin	±42	N.V.	±37

N.V. = Stoff in der Probe nicht vorhanden

## 4.2 Teil 2: Variation der physikalisch-chemischen Parameter in der HD-Extraktion

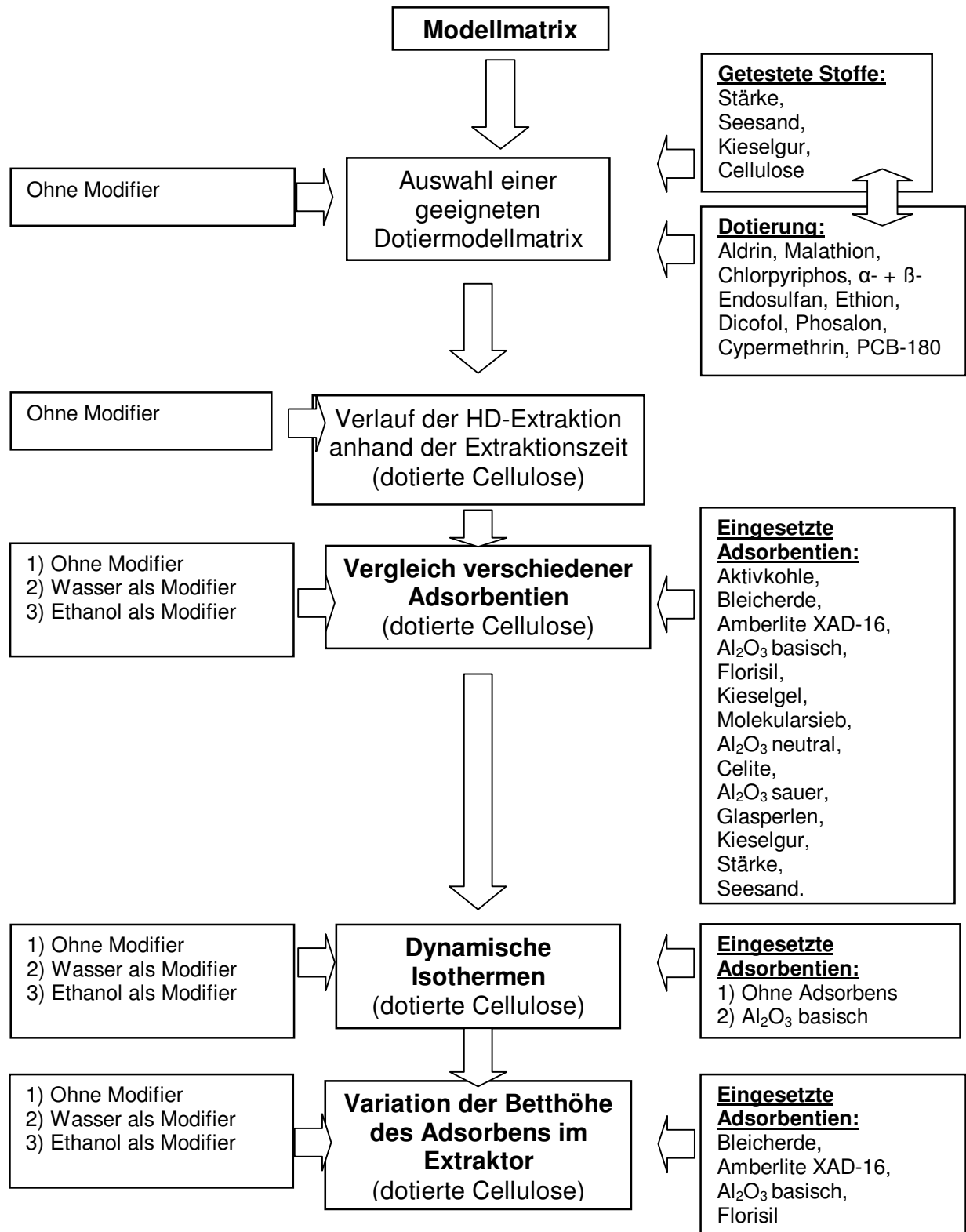
Die Untersuchungen zur Kontaminanteneeliminierung aus einer Modellmatrix dienten dazu festzustellen, ob und inwieweit PSM- und PCB-Rückstände ausschließlich durch Variation der wichtigsten physikalisch-chemischen Parameter der HD-Extraktion eliminiert werden können.

Die HD-Extraktionen wurden in der Laboranlage der Fa. Nova Swiss (s. Kap. 3.1.1) unter Industriebedingungen (350 bar Extraktionsdruck, 60 °C Extraktionstemperatur) durchgeführt. Die Parameter Korngröße und pH-Wert wurden konstant gehalten. Wasser und Ethanol wurden bei einigen Versuchen als Modifier (s. Tab. 10 in Kap. 3.2.3 u. Kap. 3.5) eingesetzt.

Zur Lösung dieses Problems musste zunächst eine geeignete Modell- bzw. Trägermatrix gefunden werden. Aus diesem Grund wurden verschiedene Matrices mit unterschiedlichen Mengen speziell ausgewählter PSM, die sich hinsichtlich Struktur und Polarität unterscheiden, dotiert und HD-extrahiert. Mit der Modellmatrix, die sich dabei am vorteilhaftesten erwies, wurde der Verlauf der HD-Extraktion bestimmt.

Anschließend wurde durch Zusatz verschiedener Adsorptionsmittel getestet, ob sich die miteluierten PSM im HD-Extrakt aus diesem selektiv eliminieren lassen. Die wichtigsten Extraktionsparameter Druck und Temperatur, die das Verhalten der PSM beeinflussen, wurden variiert und die zugehörigen Isothermen erstellt.

In der folgenden Versuchsserie wurden die zugesetzten Adsorptionsmittel in Kombination mit den lebensmittelrechtlich zugelassenen Schleppmitteln (Modifiern) Wasser und Ethanol eingesetzt, um zu prüfen, ob sich dadurch die Aufnahme von mitextrahierten PSM-Rückständen in den zugesetzten Adsorptionsmitteln verbessern lässt. Zuletzt wurde bei gleichbleibender Dotierung der PSM die Zusatzmenge von vier erfolgversprechenden Adsorptionsmitteln durch Variation der Betthöhe verändert, um deren Aufnahmekapazität bzw. die prozentuale Eliminierung der Kontaminanten (PSM und PCB-180) aus den HD-Extrakten zu prüfen. In Abb. 38 ist das Fließschema zur HD-Extraktion einer dotierten Modellmatrix aufgezeichnet.



**Abb. 38:** Fließschema zur HD-Extraktion einer dotierten Modellmatrix. Verfahren zur Optimierung der Eliminierungsraten von Kontaminanten (PSM und PCB-180).

### 4.2.1 Ermittlung einer Dotiermodellmatrix

Um das Verhalten bzw. die Löslichkeit der Kontaminanten in fluidem CO<sub>2</sub> gut beobachten zu können, müssen diese im Extraktor homogen verteilt sein und das CO<sub>2</sub> muß frei fließen können. Deshalb war es wichtig, eine – möglichst aus kostengünstigem Material bestehende – Matrix auszuwählen, die folgende Eigenschaften besitzt:

- (a) Zur Gewinnung eines sauberen Extraktes sollte das Material möglichst frei von Verunreinigungen sein;
- (b) Zwischen Matrix und Kontaminanten sollten nur geringe Anlagerungs- und Bindungskräfte herrschen, um gute Wiederfindungsraten zu ermöglichen [28];
- (c) Die HD-Anlage darf nicht, z. B. durch Verstopfungen in Rohrleitungen und Ventilen, verunreinigt sein, so dass ein störungsfreier Extraktionsablauf gewährleistet ist.
- (d) Partikel (Korngröße < 0,05 mm) könnten im Extraktionsbehälter zu einer lokalen Kanalbildung oder einem ineffizientem Kontakt der Probe zu fluidem CO<sub>2</sub> führen [31];
- (e) Das Material darf unter CO<sub>2</sub>-Einfluss nicht quellen;
- (f) Das Material muss wasserfrei sein [32];
- (g) Das Material sollte eine große spezifische Oberfläche besitzen, die durch eine gute Wechselwirkung zwischen Adsorbat und Adsorbens den Stofftransport begünstigt [32];
- (h) Die Extraktionsergebnisse müssen insgesamt reproduzierbar sein.

In der Literatur [35] wird Seesand häufig als sehr gut geeignete Matrix für die Hochdruckextraktion von Kontaminanten beschrieben, weil die unter (a) – (h) aufgeführten Kriterien häufig erfüllt sind. Dies wurde unter Einbeziehung drei weiterer Vergleichsmatrizes (Kieselgur, Stärke und Cellulose) überprüft. Es wurde jeweils eine zur vollständigen Befüllung des Extraktors ausreichende Menge an Matrix (Stärke: 50 g, Cellulose: 60 g, Kieselgur: 30 g, Seesand: 235 g) verwendet. Die Matrizes wurden in drei Versuchsreihen wie folgt behandelt (s. Tab. 29):

- (1) Die jeweilige Matrix wurde mit dem Kontaminanten-Mix dotiert und extrahiert.
- (2) Danach wurden Kontrolleextraktionen mit undotierter Matrix durchgeführt, um etwaige Verunreinigungen des unbehandelten Rohstoffes und deren Einflüsse auf das Extraktionsergebnis beurteilen zu können.
- (3) Die unter Punkt (2) undotierten und HD-extrahierten Matrizes wurden dotiert und erneut HD-extrahiert.

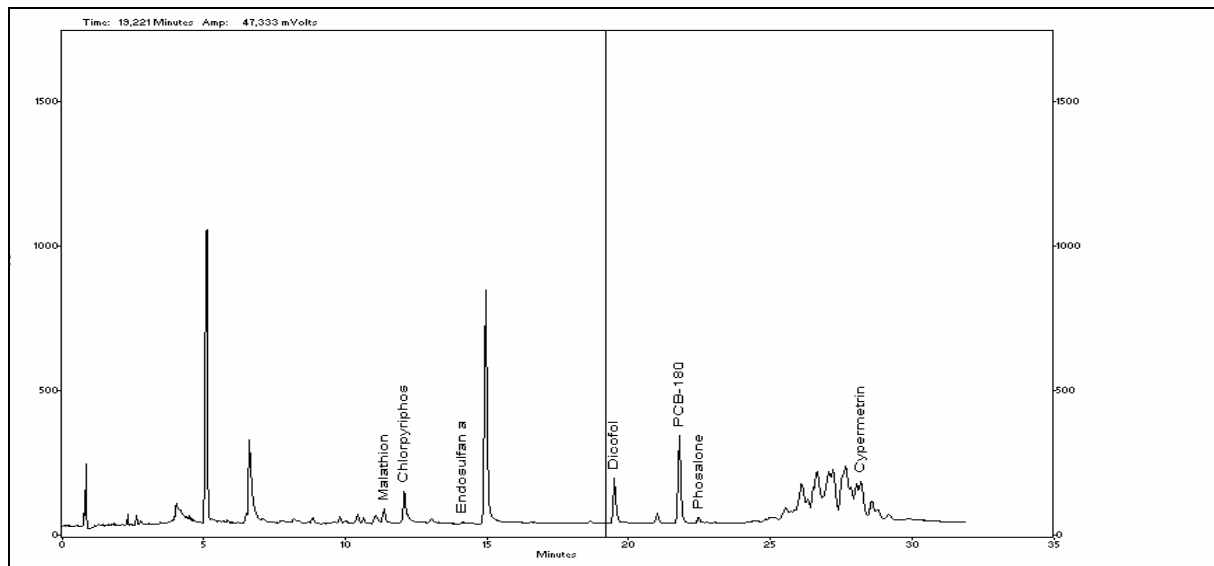
Alle Extraktionen wurden 45 min lang bei einem Extraktionsdruck von 350 bar, einer Temperatur von 60 °C und einem CO<sub>2</sub>-Fluss von 153 l h<sup>-1</sup> durchgeführt.

**Tab. 29: Parameter der Versuchsreihen zur Ermittlung einer geeigneten Dotiermatrix.**

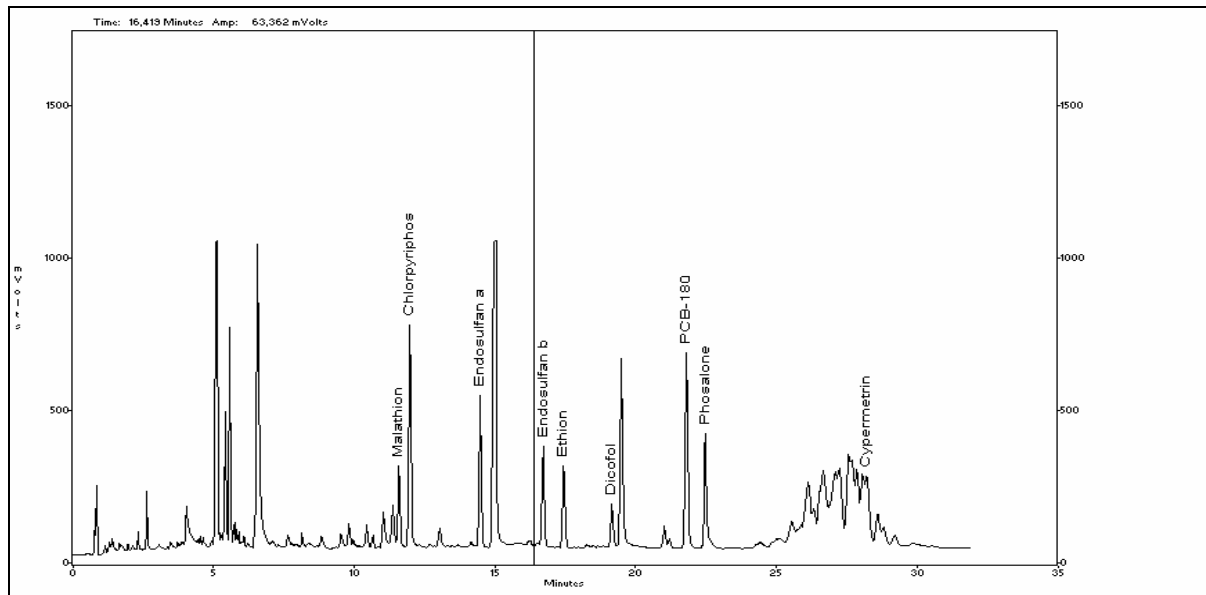
Versuch	Matrix	Dotiert	Vorextrahiert
1.	M <sub>i</sub> (*)	ja	nein
2.	M <sub>i</sub> (*)	nein	nein
3.	M <sub>i</sub> (*)	ja	ja

(\*) i = entweder Stärke (50 g), Cellulose (60 g), Seesand (235 g) oder Kieselgur (30 g)

Erwartungsgemäß [35] waren in Versuchsreihe 1 die Extrakte des Seesands im Vergleich zu denen der anderen Matrices nahezu frei von rohstoffeigenen Störsubstanzen (Kriterium a erfüllt), da der Seesand p. a.-Qualität besaß. Allerdings fielen die Wiederfindungsraten der dotierten Kontaminanten bei Seesand im Vergleich zu den anderen Matrices sehr gering aus, wie ein Vergleich der Abbildungen 39 und 40 zeigt. Einige der eingesetzten Referenz-PSM (z. B. Endosulfan) konnten im Extrakt nicht wiedergefunden werden (Kriterium b nicht erfüllt). Deshalb wurde Seesand in den weiteren Versuchsreihen als ungeeignete Dotiermatrix ausgeschlossen.



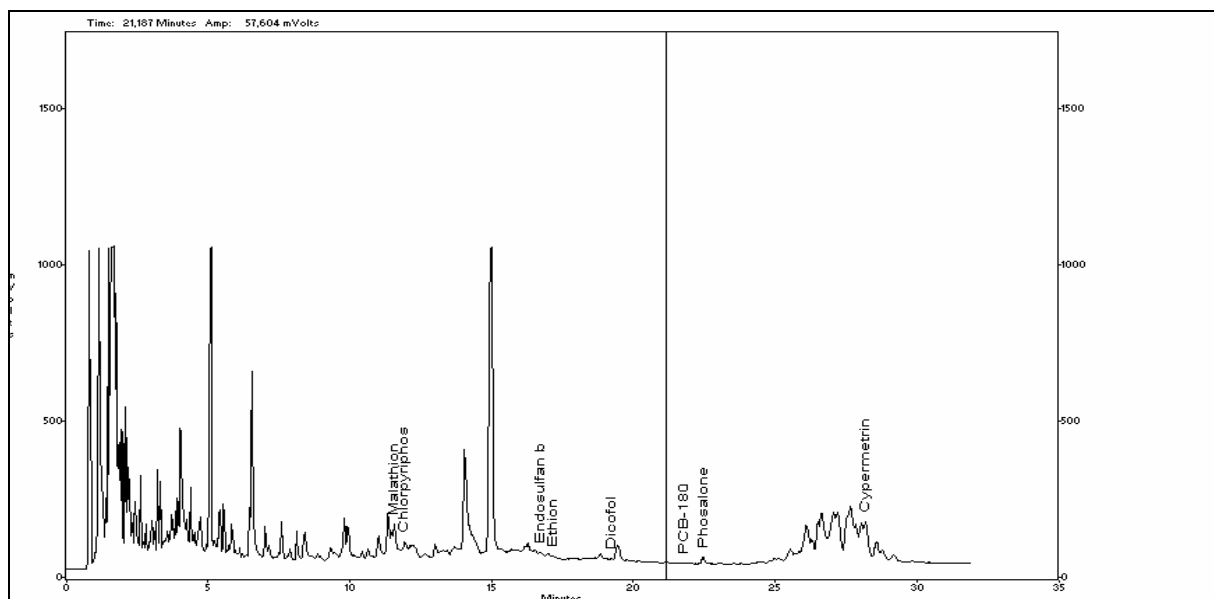
**Abb. 39: GC/ECD-Analyse eines HD-Extraktes von Seesand nach Dotierung und ohne Vorextraktion (Versuchsreihe 1).**



**Abb. 40:** GC/ECD-Analyse eines HD-Extraktes von Cellulose nach Dotierung und ohne Vorextraktion (Versuchsreihe 1).

In den GC/ECD-Chromatogrammen der Extrakte der dotierten Matrices (Versuchsreihe 1) für Kieselgur und Stärke erschienen zahlreiche Störpeaks (meist rohstoffeigene Verunreinigungen), die durch Coelution mit dotierten PSM die Analyseergebnisse verfälschten (Kriterium a nicht erfüllt).

Um zu überprüfen, inwieweit die Matrices tatsächlich verunreinigt sind, wurden sie zunächst undotiert extrahiert (Versuchsreihe 2). Am Beispiel von Kieselgel lässt sich zeigen, wie stark ein Trägerstoff verunreinigt sein kann (Abb. 41). Lediglich Cellulose und Seesand zeigten bei Extraktionen ohne Dotierung geringe Verunreinigungen.



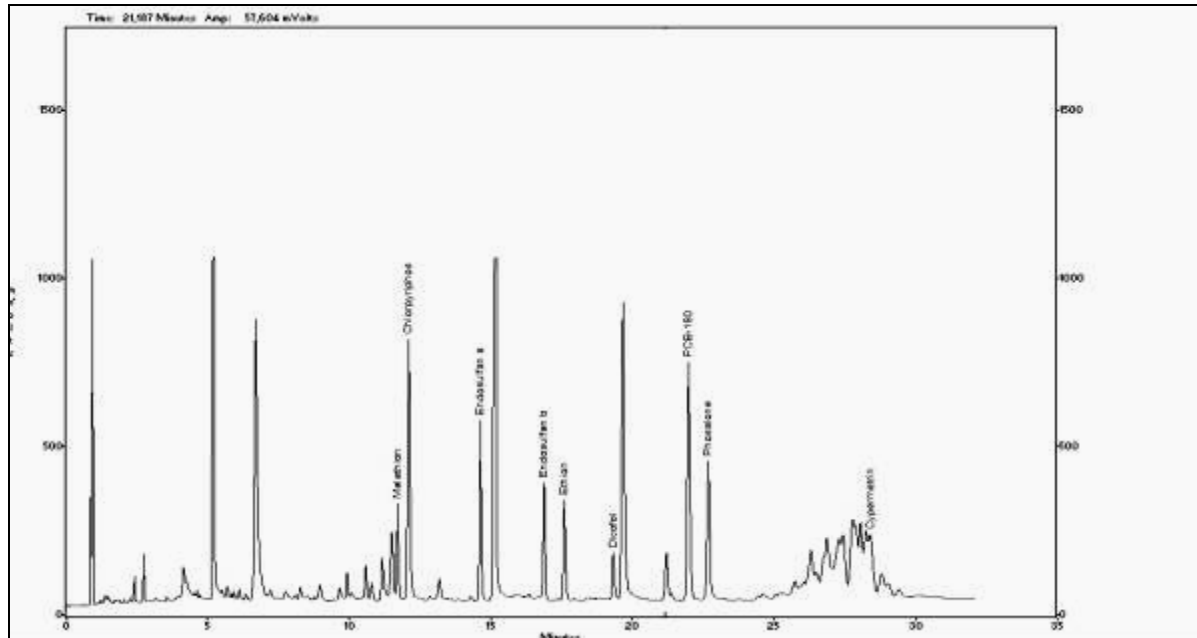
**Abb. 41:** GC/ECD-Analyse von HD-extrahierter Kieselgur, undotiert und ohne Vorextraktion (Versuchsreihe 2).



Im nächsten Schritt sollte festgestellt werden, ob sich die in den HD-Extrakten unerwünschten Störsubstanzen – insbesondere bei Verwendung von Stärke und Kieselgur – minimieren oder entfernen lassen. Hierzu wurden die in Versuchsreihe 2 zuvor unbehandelt extrahierten Matrices dotiert und wiederum extrahiert (Versuchsreihe 3).

Die Abbildung 42 veranschaulicht, dass sich durch eine vorgeschaltete Leerextraktion rohstoffspezifische Verunreinigungen der Matrix deutlich verringern ließen. Deshalb wurden die Matrices bei den nachfolgenden Versuchen stets vorextrahiert, erst dann dotiert und extrahiert (vgl. Abb. 42 mit Abb. 40).

Auch im Fall von Stärke und Kieselgur zeigten die Chromatogramme nach Vorextraktion weniger und kleinere Störpeaks, jedoch waren die Wiederfindungsraten der PSM deutlich geringer. Lediglich die Wiederfindungsraten von Cypermethrin lagen teilweise erheblich über 100 %, was auf Coelution mit dem Peak der Hauptverunreinigung zurückzuführen ist. Eine reproduzierbare Qualifizierung und Quantifizierung der PSM war deshalb nicht in allen Fällen möglich.



**Abb. 42:** GC/ECD-Analyse von HD-extrahierter Cellulose, dotiert und vorextrahiert (Versuchsreihe 3).

Da die Extrakte der dotierten Cellulose (Abb. 40 und Abb. 42) im Vergleich zu den anderen Materialien (außer Seesand) am wenigsten verunreinigt waren und auch die höchsten

Wiederfindungsraten an PSM lieferten (Versuchsreihe 3), wurde Cellulose als geeignete Dotiermatrix für die weiteren Versuche ausgewählt.

#### 4.2.2 Verlauf der Extraktion anhand der Extraktionszeit

Die Wiederfindungsraten der Analyten (Kontaminanten) in Abhängigkeit von der Extraktionszeit wurden in den folgenden Versuchen mit dotierter Cellulose bestimmt.

Dotiert wurde wie folgt (ng/μl):

Malathion 0,72; Chlorpyrifos 9,01;  $\alpha$ - +  $\beta$ -Endosulfan 3,26; Ethion 2,31; Dicofol 10,52; PCB-180 1,51; Phosalon 1,49; Cypermethrin 18,28; Aldrin 6,30; 4,4'-DDE 4,10.

Bei 350 bar, 60 °C und einem CO<sub>2</sub>-Fluss von 153 l h<sup>-1</sup> wurden jeweils nach 15, 30, 45, 60, 90 und 120 min HD-Extraktfraktionen aus dem zuvor mit 25 ml Cyclohexan:Ethylacetat-Gemisch befüllten Separator entnommen und anschließend die Extraktion ohne Zwischenspülung der HD-Anlage fortgeführt.

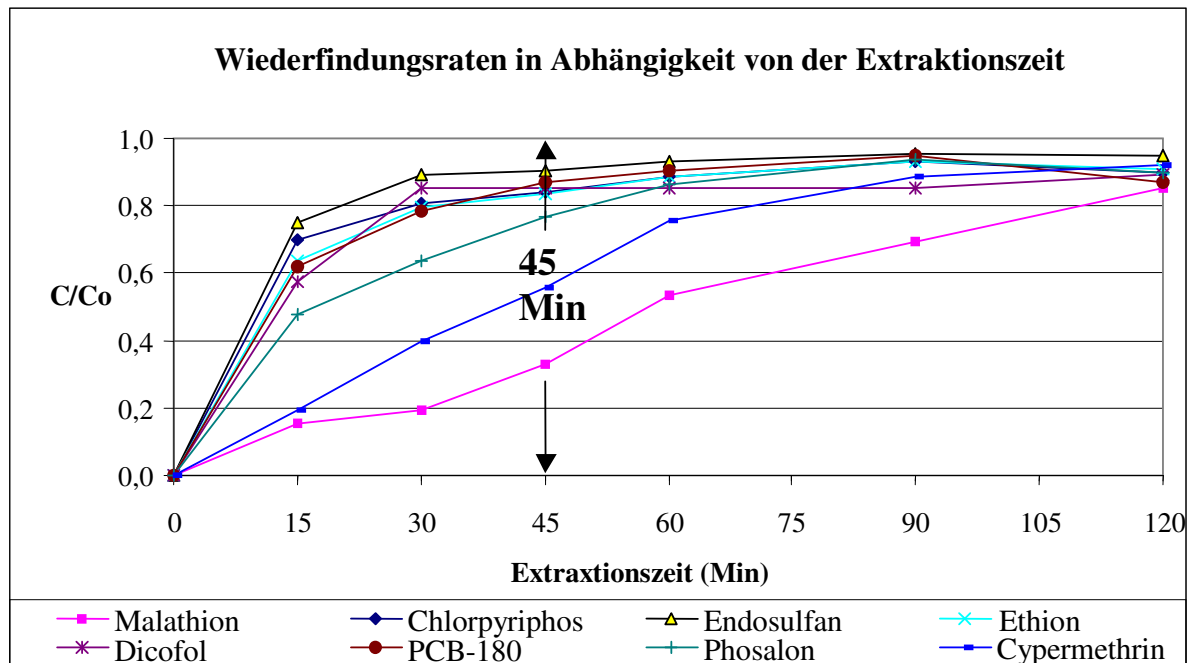
Als Kontrollversuch wurde eine Extraktion über eine Gesamtdauer von 120 min ohne Entnahme von Extraktfraktionen unter identischen Bedingungen durchgeführt, wobei die so erzielten Extraktausbeuten als 100 % angenommen wurden.

Nach Beendigung dieses Versuchs erfolgte die Reinigung der Anlage wie oben beschrieben (s. Kap. 3.5), allerdings ohne die Spülflüssigkeiten mit dem Extrakt zu vereinigen. Die Parameter dieser Versuchsreihe sind in der Tabelle 30 zusammengefasst.

**Tab. 30: Parameter zu den Versuchen für die Bestimmung der erforderlichen Extraktionszeit.**

<b>Matrix</b>	Cellulose			
<b>Menge</b>	60 g			
<b>Druck</b>	Extraktor	350 bar	Separator	10 bar
<b>Temperatur</b>		60 °C		25 °C
<b>Zeit</b>	15, 30, 45, 60, 90, 120 min.			

Bei der GC/ECD-Analyse der einzelnen Extraktfraktionen zeigte sich, dass innerhalb der ersten 15 min mehr als 60 % der zu extrahierenden PSM aus der Matrix gelöst wurden (Abb. 43). Nach 45 min sind bereits über 80 % in den Extrakt übergegangen.



**Abb. 43: Extraktionskinetik der Kontaminanten.**  
**Fraktionenentnahme nach 15, 30, 45, 60, 90 und 120 min Extraktionszeit.**

Ab 30 min Extraktionszeit erreichten die Wiederfindungsraten aller Rückstände mit Ausnahme von Malathion und Cypermethrin Werte zwischen 60 und 90 %. Für die folgenden Versuche wurde deshalb eine Extraktionszeit von 45 min (entspricht 115 l CO<sub>2</sub> bei 153 l/h) gewählt. Nach 45 min (Sicherheitsfaktor Zeit: 1,5) sind alle Analyten nahezu quantitativ aus der Modellmatrix extrahiert. Ausnahmen bildeten nach wie vor die Organophosphorverbindung Malathion, von der ca. 2/3 extrahiert wurden, und das Pyrethroid Cypermethrin mit einer Extraktionsausbeute von ca. 1/3.

### 4.2.3 Adsorptionsraten von Pflanzenschutzmitteln und PCB-180 an den 17 bei der HD-Extraktion von dotierter Cellulose eingesetzten Adsorptionsmitteln

In dieser Versuchsreihe wurden 17 verschiedene, bei der HD-Extraktion eingesetzte Materialien (Adsorptionsmittel) auf ihr Vermögen getestet, Kontaminanten zu adsorbieren. Hierzu wurden jeweils 60 g mittels HD-Extraktion vorgereinigte Cellulose mit 1 ml Kontaminanten-Mix wie in den vorherigen Versuchen (Kap. 4.2.2) dotiert und mit jeweils

30 ml (konstantes Volumen im Extraktor) dieser Materialien überschichtet. Danach wurde wie in allen Versuchen bei 350 bar und 60 °C extrahiert.

Nach dem *Cleanup* der Extraktfraktionen wurden die Wiederfindungsraten der Kontaminanten in den HD-Extrakten mittels GC/ECD-Analyse verglichen (Bezugswert = Wiederfindungsraten Kontaminanten im HD-Extrakt ohne Adsorptionsmittelzusatz = 100 %).

Geringe Wiederfindungsraten würden ein brauchbares, hohe aber ein schlechtes Adsorptionsmittel kennzeichnen. Zunächst wurde eine grobe Gruppeneinteilung der 17 Adsorptionsmittel vorgenommen, wobei anhand der mittels GC/ECD-Analyse ermittelten Wiederfindungsraten für die Wirkung des Adsorptionsmittels gegenüber den einzelnen Kontaminanten Punkte vergeben wurden (Tab. 31). Aus diesen klassifizierten Daten wurden Mittelwerte berechnet und so das allgemeine Verhalten des jeweiligen Adsorptionsmittels beurteilt.

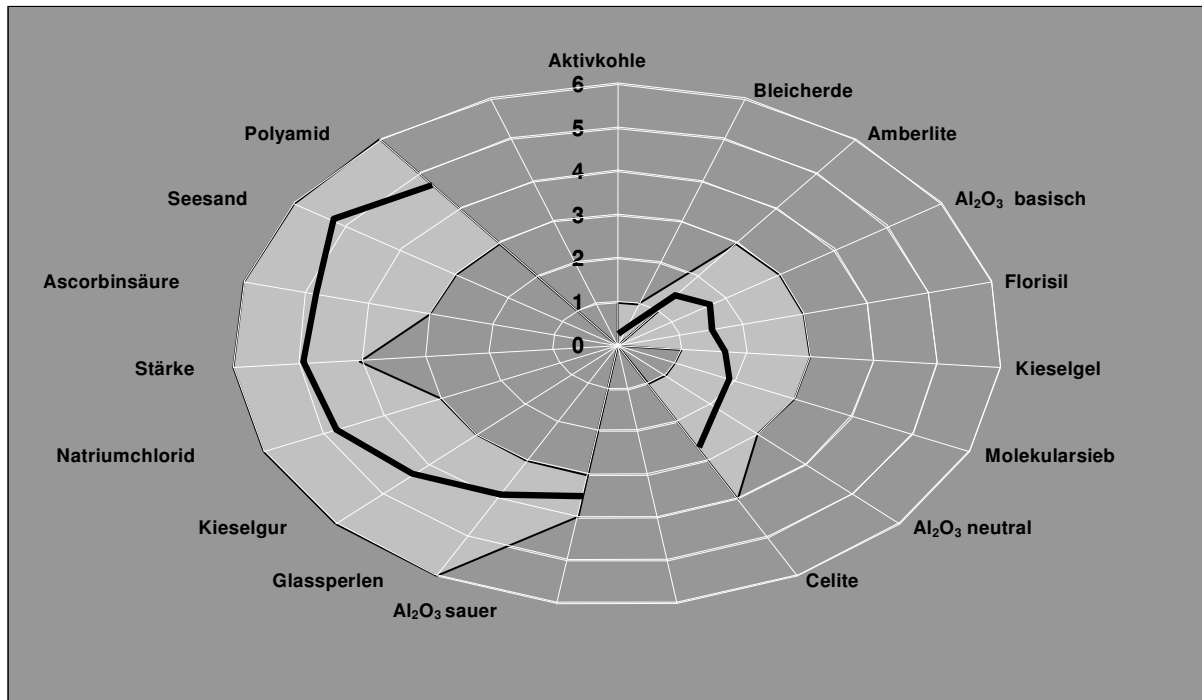
**Tab. 31: Gruppeneinteilung der Adsorptionsmittel nach ihrer Kapazität.**

Wiederfindungsrate	Bewertung	Punkte
0 – 25 %	Sehr Gut	0
25 – 60 %	Gut	1
60 – 90 %	Mittel	3
90 – 110 %	Schlecht	4
> 110 %	Sehr Schlecht	6

Aufgrund der Ergebnisse dieser Versuchsreihe wurden die Adsorptionsmittel in folgende Kategorien eingeteilt:

- Sehr Gut : Aktivkohle
- Gut : Bleicherde, Amberlite, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch, Florisil, Kieselgel, Molekularsieb
- Mittel : Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> neutral, Celite,
- Schlecht : Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sauer, Glasperlen, Kieselgur
- Sehr Schlecht : Natriumchlorid, Stärke, Ascorbinsäure, Seesand, Polyamid.

Zur Veranschaulichung sind in der Abbildung 44 links die Adsorptionsmittel, die nach der oben genannten Gruppeneinteilung als schlecht und sehr schlecht bezeichnet wurden, rechts die als neutral bis sehr gut beurteilten Adsorptionsmittel graphisch dargestellt. Mit einer fetten Linie sind die Mittelwerte gekennzeichnet, die hellgestellten Flächen um diese fette Linie zeigen die gemessenen Extremwerte.



**Abb. 44:** Veranschaulichung der Kategorisierung der Adsorptionsmittel nach ihrer Adsorptionskapazität.

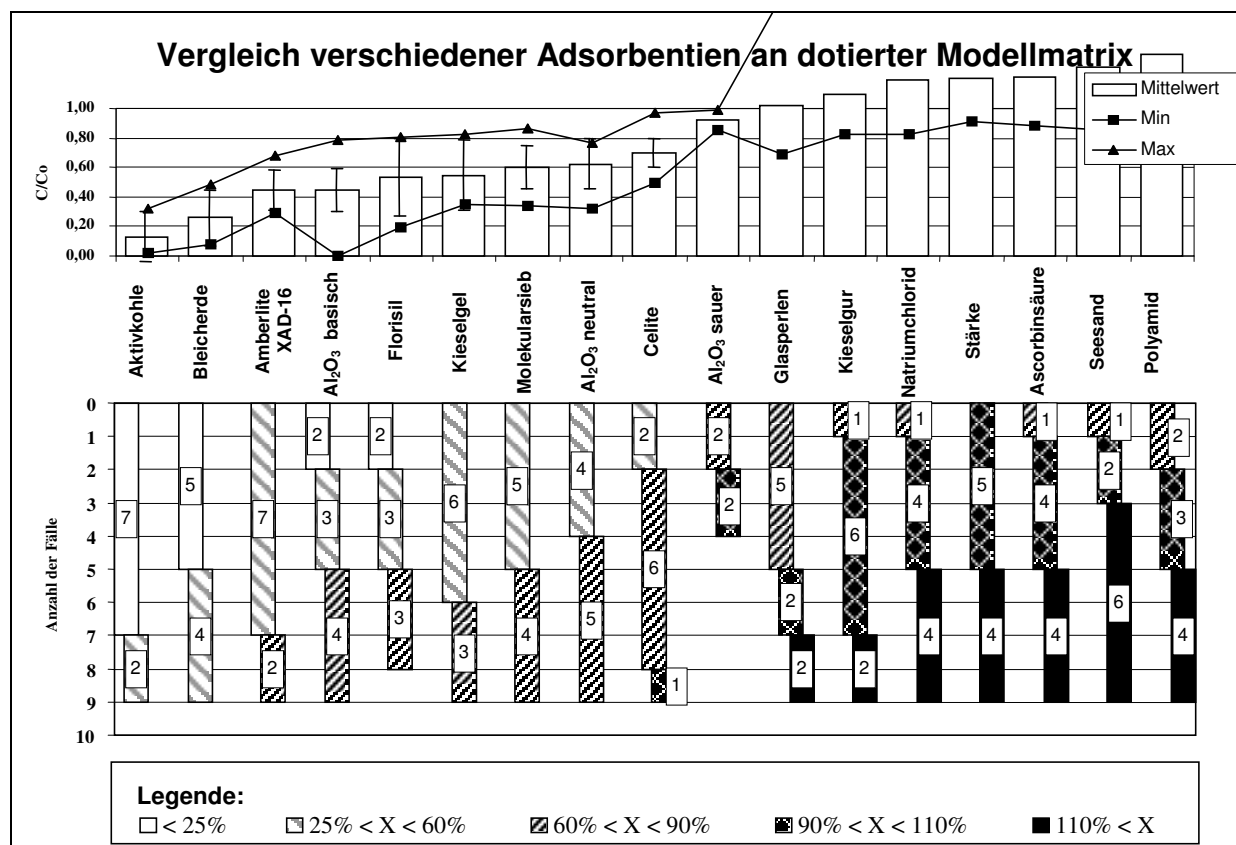
links: schlechte (4) und sehr schlechte (6) Adsorptionsmittel; rechts: sehr gute (0), gute (1) und mittelmäßige (3) Adsorptionsmittel . Die hellen Flächen spiegeln Bereiche zwischen Extremwerten wider).

Abbildung 45 zeigt die Ergebnisse für die Mittelwerte und Standardabweichungen der Wiederfindungsraten aller Adsorptionsmittel auf. Außerdem sind die gemessenen Extremwerte dargestellt. Im unteren Teil des Diagrammes ist die Anzahl der Adsorptionsmittel dargestellt, die die unterschiedlichen Kategoriekriterien nach Tab. 31 erfüllen.

Hiernach wurden die besten Eliminierungseigenschaften für die Kontaminantenpalette des dotierten Mixes bei Aktivkohle beobachtet, die deshalb mit „sehr gut“ charakterisiert wurde. Zwar lag die Adsorption der Analyten sehr hoch, doch wurden von Aktivkohle auch die erwünschten Wirkstoffe adsorbiert. Bleicherde und  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch wurden als „gut“ eingestuft, ebenso wie Amberlite XAD-16, Florisil, Kieselgel und Molekularsieb.

Mit dieser engeren Auswahl an sechs Materialien wurden zusätzliche (hier nicht beschriebene) Versuche durchgeführt. Hiernach blieben schließlich vier Materialien - Bleicherde, mit einer mittleren Wiederfindung der dotierten Kontaminanten von ca. 30 % sowie  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch, Florisil und Amberlite XAD-16, alle mit Wiederfindungsraten < 50 % und als „gut“ eingestuft - in der Auswahl für weitere Versuche (Abb. 45).

Florisil, aus der einschlägigen Literatur zur Analytik von PSM bekannt, besitzt zusammen mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch eine höhere Selektivität für einzelne, bestimmte PSM (große Spannen zwischen Maxima und Minima, vgl. Abb. 45). Amberlite XAD-16, ein Styrol-Divinylbenzol-Copolymer und Ionenaustauscher, zeigte lediglich eine geringe Streubreite und einen geringen Mittelwert.



**Abb. 45:** Vergleich der Pflanzenschutzmittelwiederfindungsraten beim Einsatz unterschiedlicher Adsorptionsmittel während der HD-Extraktion einer dotierten Modellmatrix.

Oben: Mittelwerte (Balken), Standardabweichungen (vertikale Linien), Extremwerte (▲: max, ■: min).

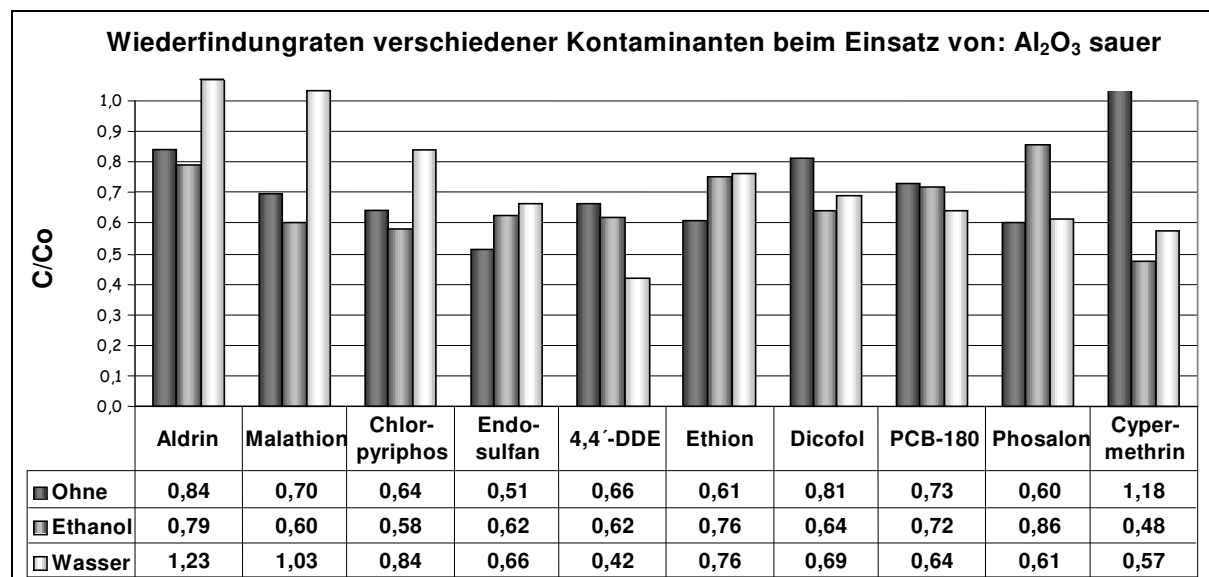
Unten: Anzahl der Fälle, in denen die Kriterien von Tabelle 31 erfüllt wurden.

#### 4.2.4 Ausgewählte Adsorptionsmittel mit Zusatz von Modifiern (Ethanol oder Wasser)

Im Rahmen dieser Versuchsreihe wurden die Modellextraktionen unter Einsatz ausgewählter Adsorptionsmittel (Natriumchlorid, Ascorbinsäure und Polyamid wegen schlechter Aufnahmekapazität bereits ausgeschlossen) zur weiteren Verbesserung ihrer Aufnahmekapazität gegenüber PSM in Kombination mit den Modifiern Wasser oder Ethanol sowie als Kontrolle ohne diese Modifier durchgeführt (Modellmatrix, Dotierung s. Kap. 4.2.2).

Vor Extraktionsbeginn wurden in den Versuchsreihen mit Modifier jeweils 10 ml Ethanol oder Wasser in der Extraktionsmatrix homogen verteilt. Anschließend wurde mit jeweils 30 ml (konstante Betthöhe im Extraktor) an Adsorptionsmittel überschichtet und HD-extrahiert. In den Tabellen 32 - 35 sind die Ergebnisse dieser Versuchsreihen dargestellt. In den Abbildungen 46 - 48 sind die Ergebnisse an den Beispielen für  $\text{Al}_2\text{O}_3$  sauer (als schlecht eingestuft), Bleicherde und Amberlite XAD-16 (beide „gut“) veranschaulicht. Darin wird die relative Wiederfindung  $C/C_0$  für jedes PSM bei Einsatz der unterschiedlichen Adsorptionsmittel und Anwendung beider Modifier verglichen. Wiederfindungsraten, Streubreite der Ergebnisse und zusätzlich die Effektivität der Modifier im System bildeten die ausschlaggebenden Auswahlkriterien.

Adsorptive Materialien, deren Adsorptionskapazität bereits in der vorherigen Versuchsreihe (Kap. 4.2.3) als schlecht oder sehr schlecht bewertet wurde, zeigten in diesen Versuchen ein ähnliches Verhaltensmuster, z. B. Glasperlen mit einem Mittelwert der Wiederfindungsrate von PSM über 90 % ( $0,90 \pm 0,40$ ), aber auch Kieselgur. Bei Glasperlen und auch Kieselgur bewirkte der Ethanolzusatz eine weitere Erhöhung der Wiederfindungsraten. Wasser dagegen bewirkte eine Erniedrigung, vermutlich wegen Wechselwirkungen mit beiden Adsorptionsmitteln (s. Tab. 32)



**Abb. 46:** Wiederfindungsraten verschiedener Kontaminanten beim Einsatz von  $\text{Al}_2\text{O}_3$  sauer mit und ohne Modifier.

Unspezifisch und tendenziell unterschiedlich wirkte sich der Modifierzusatz bei Aluminiumoxid sauer (Abb. 46) aus. Sehr hohe Wiederfindungsraten im Extrakt

kennzeichneten dieses Material trotz geringer Standardabweichungen (0,2) als schlecht geeignet.

In der Tabelle 32 sind die Ergebnisse für die Adsorptionsmittel dargestellt, die als „schlecht“ und „sehr schlecht“ eingestuft wurden. Besonders bei Seesand und Stärke wurde die Extrahierbarkeit der PSM bei Zugabe eines Modifiers deutlich herabgesetzt. Auch Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sauer, Glasperlen, Kieselgur, Natriumchlorid, Ascorbinsäure und Polyamid erwiesen sich erneut als schlecht geeignet.

**Tab. 32: Relative Wiederfindung beim Einsatz von Adsorptionsmitteln („schlecht“ und „sehr schlecht“) mit und ohne Modifier (MW ± K.I.,  $\gamma = 95 \%$ ).**

Bewertet als „schlecht und sehr schlecht“										
	Aldrin	Malathion	Chlorpyrifos	Endosulfan	4,4'-DDE	Ethion	Dicofol	PCB-180	Phosolon	Cypermethrin
<b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sauer</b>										
Ohne	0,84 ± 0,14	0,7 ± 0,12	0,64 ± 0,09	0,51 ± 0,05	0,66 ± 0,07	0,61 ± 0,12	0,81 ± 0,16	0,73 ± 0,07	0,6 ± 0,07	1,18 ± 0,24
Ethanol	0,79 ± 0,13	0,6 ± 0,1	0,58 ± 0,08	0,62 ± 0,06	0,62 ± 0,06	0,76 ± 0,14	0,64 ± 0,13	0,72 ± 0,07	0,86 ± 0,1	0,48 ± 0,1
Wasser	1,23 ± 0,21	1,03 ± 0,18	0,84 ± 0,12	0,66 ± 0,07	0,42 ± 0,04	0,76 ± 0,14	0,69 ± 0,14	0,64 ± 0,06	0,61 ± 0,07	0,57 ± 0,11
<b>Glasperlen</b>										
Ohne	0,79 ± 0,13	0,61 ± 0,1	0,5 ± 0,07	0,48 ± 0,05	0,6 ± 0,06	0,49 ± 0,09	0,84 ± 0,17	0,53 ± 0,05	3,33 ± 0,4	0,93 ± 0,19
Ethanol	0,83 ± 0,14	0,61 ± 0,1	0,61 ± 0,09	0,67 ± 0,07	0,63 ± 0,06	0,84 ± 0,16	0,9 ± 0,18	0,72 ± 0,07	0,88 ± 0,11	0,66 ± 0,13
Wasser	0,68 ± 0,12	0,52 ± 0,09	0,49 ± 0,07	0,29 ± 0,03	0,18 ± 0,02	0,26 ± 0,05	0,27 ± 0,05	0,39 ± 0,04	0,36 ± 0,04	0,29 ± 0,06
<b>Kieselgur</b>										
Ohne	0,77 ± 0,13	0,54 ± 0,09	0,5 ± 0,07	0,45 ± 0,05	0,65 ± 0,07	0,47 ± 0,09	0,43 ± 0,09	0,52 ± 0,05	0,44 ± 0,05	0,72 ± 0,14
Ethanol	0,86 ± 0,15	0,72 ± 0,12	0,66 ± 0,09	0,71 ± 0,07	0,61 ± 0,06	0,94 ± 0,18	1,03 ± 0,21	0,94 ± 0,09	1,13 ± 0,14	0,66 ± 0,13
Wasser	0,66 ± 0,11	0,54 ± 0,09	0,64 ± 0,09	0,4 ± 0,04	0,28 ± 0,03	0,29 ± 0,06	0,49 ± 0,1	0,35 ± 0,04	0,16 ± 0,02	0,25 ± 0,05
<b>Stärke</b>										
Ohne	0,87 ± 0,15	0,7 ± 0,12	0,63 ± 0,09	0,52 ± 0,05	0,7 ± 0,07	0,57 ± 0,11	0,6 ± 0,12	0,69 ± 0,07	0,49 ± 0,06	0,86 ± 0,17
Ethanol	0,51 ± 0,09	0,25 ± 0,04	0,19 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,23 ± 0,04	0,15 ± 0,03	0,24 ± 0,02	0,36 ± 0,04	0,08 ± 0,02
Wasser	0,71 ± 0,12	0,55 ± 0,09	0,64 ± 0,09	0,29 ± 0,03	0,18 ± 0,02	0,24 ± 0,05	0,23 ± 0,05	0,37 ± 0,04	0,3 ± 0,04	0,2 ± 0,04
<b>Seesand</b>										
Ohne	1,16 ± 0,2	1,31 ± 0,22	2,1 ± 0,29	1,1 ± 0,11	0,85 ± 0,09	1,24 ± 0,24	1,13 ± 0,23	0,97 ± 0,1	2,82 ± 0,34	1,13 ± 0,23
Ethanol	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Wasser	0,68 ± 0,12	0,49 ± 0,08	0,56 ± 0,08	0,26 ± 0,03	0,16 ± 0,02	0,2 ± 0,04	0,21 ± 0,04	0,33 ± 0,03	0,28 ± 0,03	0,11 ± 0,02
<b>Kieselgel 10% Wasser</b>										
Ohne	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Ethanol	0,85 ± 0,14	0,67 ± 0,11	0,67 ± 0,09	0,55 ± 0,06	0,54 ± 0,05	0,82 ± 0,16	0,57 ± 0,11	0,89 ± 0,09	0,98 ± 0,12	0,56 ± 0,11
Wasser	0,48 ± 0,08	0,35 ± 0,06	0,36 ± 0,05	0,2 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,17 ± 0,03	0,18 ± 0,04	0,27 ± 0,03	0,25 ± 0,03	0,13 ± 0,03

Celite und Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sauer wurden hier als „mittelmäßig“ eingestuft (Tab. 33). Bei diesen Stoffen lag der Einfluss von Wasser auf die Wiederfindungsraten am höchsten, insbesondere bei Aldrin, Malathion, Chlorpyrifos, und Dicofol. Celite lieferte ein Beispiel für einen



„mittelmäßigen“ Stoff, der sowohl einen durchschnittlichen Mittelwert und eine ähnlich liegende Standardabweichung aufwies.

Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> neutral erwies sich als ein Adsorbens, aus dem die Extrahierbarkeit von Kontaminanten bei Zugabe eines Modifiers deutlich herabgesetzt wurde.

**Tab. 33: Relative Wiederfindung beim Einsatz von Adsorptionsmitteln („mittelmäßig“ geeignet) mit und ohne Modifier (MW ± K.I.,  $\gamma = 95\%$ ).**

Bewertet als „mittelmäßig“										
	Aldrin	Mala- thion	Chlor- pyriphos	Endo- sulfan	4,4'- DDE	Ethion	Dicofol	PCB- 180	Phosa- lon	Cyper- methrin
<b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> neutral</b>										
Ohne	1,03 ± 0,18	0,55 ± 0,09	1,42 ± 0,2	0,66 ± 0,07	0,88 ± 0,09	0,9 ± 0,17	1,17 ± 0,23	1,12 ± 0,11	0,73 ± 0,09	1,69 ± 0,34
Ethanol	0,58 ± 0,1	0,37 ± 0,06	0,33 ± 0,05	0,17 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,31 ± 0,06	0,21 ± 0,04	0,49 ± 0,05	0,63 ± 0,08	0,24 ± 0,05
Wasser	1,5 ± 0,26	0,76 ± 0,13	0,95 ± 0,13	0,58 ± 0,06	0,39 ± 0,04	0,37 ± 0,07	0,38 ± 0,08	0,78 ± 0,08	0,62 ± 0,07	0,46 ± 0,09
<b>Celite</b>										
Ohne	0,57 ± 0,1	0,32 ± 0,05	0,3 ± 0,04	0,28 ± 0,03	0,44 ± 0,04	0,31 ± 0,06	0,25 ± 0,05	0,39 ± 0,04	0,19 ± 0,02	1 ± 0,2
Ethanol	0,59 ± 0,1	0,38 ± 0,06	0,39 ± 0,05	0,2 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,36 ± 0,07	0,21 ± 0,04	0,55 ± 0,06	0,47 ± 0,06	0,31 ± 0,06
Wasser	1 ± 0,17	0,9 ± 0,15	0,8 ± 0,11	0,48 ± 0,05	0,27 ± 0,03	0,48 ± 0,09	0,65 ± 0,13	0,67 ± 0,07	0,63 ± 0,08	0 ± 0

In Tabelle 34 sind die Adsorptionsmittel mit guter Kontaminanteneeliminierung aufgelistet.

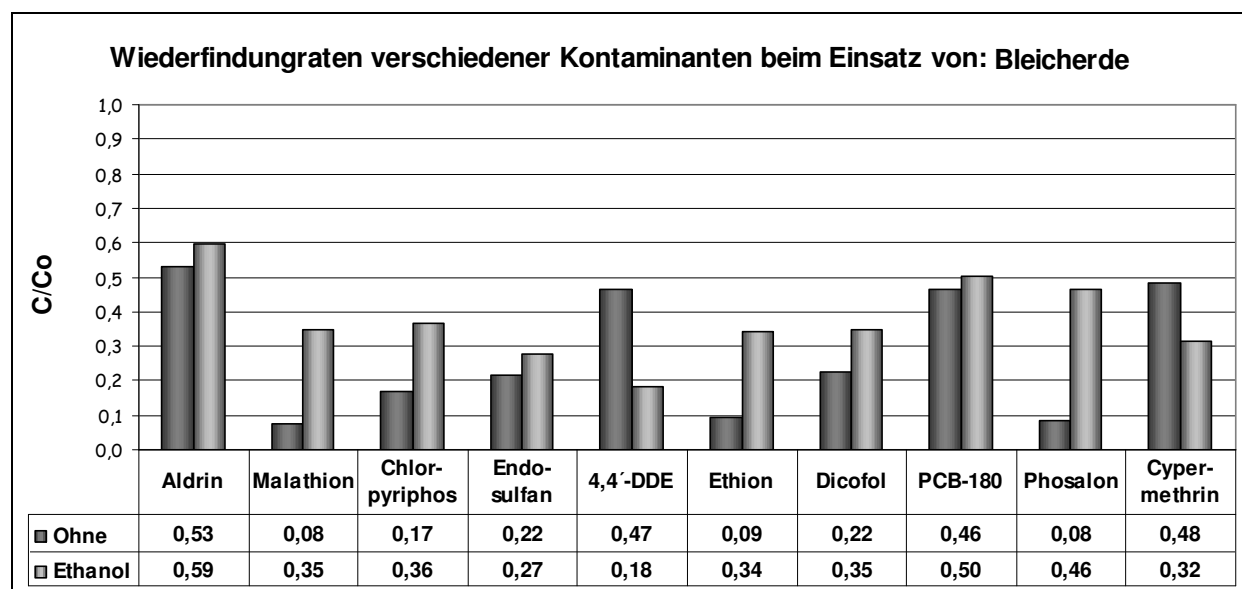
**Tab. 34: Relative Wiederfindung beim Einsatz von Adsorptionsmitteln („gut“ geeignet) mit und ohne Modifier (MW ± K.I.,  $\gamma = 95\%$ ).**

	Aldrin	Mala- thion	Chlor- pyriphos	Endo- sulfan	4,4'- DDE	Ethion	Dicofol	PCB- 180	Phosa- lon	Cyper- methrin
<b>Bleicherde</b>										
Ohne	0,53 ± 0,09	0,08 ± 0,01	0,17 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,47 ± 0,05	0,09 ± 0,02	0,29 ± 0,06	0,46 ± 0,05	0,08 ± 0,01	0,48 ± 0,1
Ethanol	0,59 ± 0,1	0,35 ± 0,06	0,36 ± 0,05	0,27 ± 0,03	0,18 ± 0,02	0,34 ± 0,06	0,45 ± 0,09	0,5 ± 0,05	0,46 ± 0,06	0,32 ± 0,06
Wasser	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<b>Amberlite XAD-16</b>										
Ohne	0,74 ± 0,13	0,68 ± 0,12	0,49 ± 0,07	0,32 ± 0,03	0,43 ± 0,04	0,42 ± 0,08	0,29 ± 0,06	0,33 ± 0,03	0,41 ± 0,05	0,63 ± 0,13
Ethanol	0,63 ± 0,11	0,44 ± 0,07	0,36 ± 0,05	0,36 ± 0,04	0,5 ± 0,05	0,46 ± 0,09	0,38 ± 0,08	0,19 ± 0,02	0,56 ± 0,07	0,17 ± 0,03
Wasser	0,56 ± 0,1	0,51 ± 0,09	0,39 ± 0,05	0,22 ± 0,02	0,1 ± 0,01	0,18 ± 0,03	0 ± 0	0 ± 0	0,15 ± 0,02	0 ± 0
<b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch</b>										
Ohne	0,93 ± 0,16	0 ± 0	0,63 ± 0,09	0,27 ± 0,03	0,69 ± 0,07	0,52 ± 0,1	0,35 ± 0,07	0,79 ± 0,08	0,17 ± 0,02	0,61 ± 0,12
Ethanol	0,59 ± 0,1	0,32 ± 0,05	0,25 ± 0,04	0,17 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,24 ± 0,05	0,17 ± 0,03	0,38 ± 0,04	0,5 ± 0,06	0,18 ± 0,04
Wasser	0,61 ± 0,1	0,32 ± 0,05	0,45 ± 0,06	0,3 ± 0,03	0,28 ± 0,03	0,2 ± 0,04	0,3 ± 0,06	0,47 ± 0,05	0,4 ± 0,05	0,11 ± 0,02

Fortsetzung Tab. 34

<b>Florisil</b>										
Ohne	0,62 ± 0,11	0,24 ± 0,04	0,59 ± 0,08	0,58 ± 0,06	0,8 ± 0,08	0,38 ± 0,07	0,84 ± 0,17	0,81 ± 0,08	0,19 ± 0,02	0,68 ± 0,14
Ethanol	0,56 ± 0,1	0,46 ± 0,08	0,51 ± 0,07	0,34 ± 0,03	0,41 ± 0,04	0,46 ± 0,09	0,6 ± 0,12	0,7 ± 0,07	0,46 ± 0,06	0,39 ± 0,08
Wasser	0,49 ± 0,08	0 ± 0	0,14 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,9 ± 0,09	0 ± 0	0,38 ± 0,08	0 ± 0	0,35 ± 0,04	0,1 ± 0,02
<b>Kieselgel 0% Wasser</b>										
Ohne	0,72 ± 0,12	0,23 ± 0,04	0,22 ± 0,03	0,29 ± 0,03	0,65 ± 0,07	0,28 ± 0,05	0,19 ± 0,04	0,45 ± 0,05	0,21 ± 0,03	0,22 ± 0,04
Ethanol	0,87 ± 0,15	0,64 ± 0,11	0,62 ± 0,09	0,4 ± 0,04	0 ± 0	0,81 ± 0,15	0,85 ± 0,17	1,04 ± 0,1	1,11 ± 0,13	0,34 ± 0,07
Wasser	0,65 ± 0,11	0,29 ± 0,05	0,49 ± 0,07	0,22 ± 0,02	0,2 ± 0,02	0,14 ± 0,03	0,15 ± 0,03	0,36 ± 0,04	0,25 ± 0,03	0,03 ± 0,01
<b>Molekularsieb</b>										
Ohne	0,69 ± 0,12	0,26 ± 0,04	0,3 ± 0,04	0,32 ± 0,03	0,62 ± 0,06	0,24 ± 0,05	0,36 ± 0,07	0,49 ± 0,05	0,19 ± 0,02	0,35 ± 0,07
Ethanol	0,86 ± 0,15	0,56 ± 0,1	0,65 ± 0,09	0,42 ± 0,04	0,17 ± 0,02	0,67 ± 0,13	0,75 ± 0,15	0,86 ± 0,09	0,57 ± 0,07	0,53 ± 0,11
Wasser	0,86 ± 0,15	0,33 ± 0,06	0,75 ± 0,11	0,36 ± 0,04	0,33 ± 0,03	0,23 ± 0,04	0,28 ± 0,06	0,47 ± 0,05	0,23 ± 0,03	0,11 ± 0,02

Bleicherde wurde als „gut“ eingestuft, mit einem Mittelwert von  $0,29 \pm 0,18$  ohne Modifier, d. h. niedrige Wiederfindungsraten und hohe Adsorptionskapazität. Ethanol als Modifier (Wiederfindungsrate  $0,38 \pm 0,12$ ) verschlechterte die Adsorptionskapazität mit Ausnahme von 4,4'-DDE und Cypermethrin. Der Eliminierungseffekt war hier bei Malathion, Ethion und Phosalon ohne Modifier besonders ausgeprägt. Die Ergebnisse mit Wasser als Modifizierzusatz sind nicht dargestellt. In der Abbildung 47 sind die Wiederfindungsraten beim Einsatz von Bleicherde graphisch dargestellt.

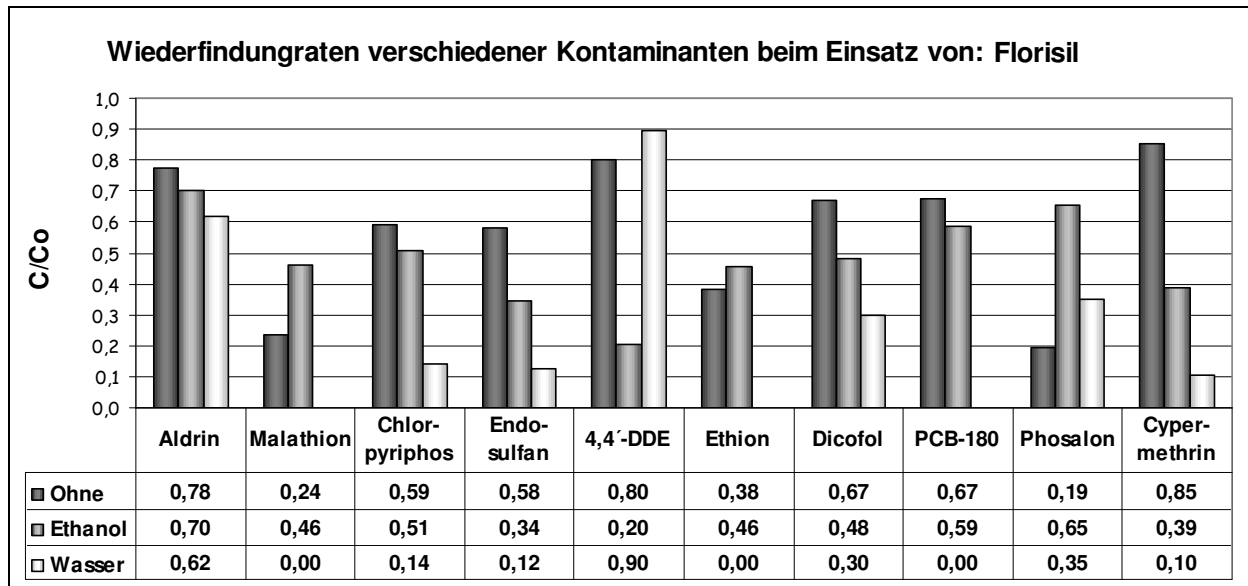


**Abb. 47: Wiederfindungsraten verschiedener Kontaminanten beim Einsatz von Bleicherde mit und ohne Modifier.**

Auch in den Fällen von Amberlite und Florisil verminderten beide Modifier die Extrahierbarkeit vieler PSM (Wasser wesentlich stärker als Ethanol). Dieser Effekt war aber nicht bei allen Kontaminanten zu beobachten (Abb. 48; 4,4'-DDE und Florisil). Florisil zeigte

eine hohe Streubreite der Daten bzw. hohe Selektivität bei den phosphorhaltigen PSM Malathion und Phosalon ( $C_{12}H_{15}ClN_4PS_2$ ).

Wie bei Bleicherde bewirkte Ethanol- bzw. Wasserzusatz eine Erhöhung bzw. Erniedrigung der Wiederfindungsraten bei Molekularsieb und Kieselgel. Bei  $Al_2O_3$  basisch nahm die Extrahierbarkeit der PSM bei Zugabe beider Modifier deutlich ab (Tab. 34).



**Abb. 48:** Wiederfindungsraten verschiedener Kontaminanten beim Einsatz von Florisil mit und ohne Modifier.

Aktivkohle bestätigte auch in dieser Testreihe seine sehr guten adsorbierenden Eigenschaften (Wiederfindungsraten unter 20 %; z. T. bei Versuchen ohne Modifier und mit Wasser als Modifier unter der ECD-Nachweisgrenze). Bei Einsatz von Ethanol als Modifier stieg allerdings die Extrahierbarkeit bzw. Wiederfindungsrate der PSM leicht an (Tab. 35), wie in den Fällen Glasperlen und Kieselgur (Tab. 32) oder Molekularsieb und Kieselgel (Tab. 34). Mit Wasser als Modifier lagen die Wiederfindungsraten etwas höher als ohne ( $0,02 \pm 0,04$  gegenüber  $0,01 \pm 0,03$ ), aber deutlich niedriger als mit Ethanol ( $0,08 \pm 0,05$ ), d. h. es fand fast vollständige Eliminierung statt, was auch die geringe Streubreite der Einzelwerte erklärt.

**Tab. 35: Relative Wiederfindungsraten beim Einsatz von Adsorptionsmitteln (als „sehr gut“ eingestuft) mit und ohne Modifier (MW  $\pm$  K.I.,  $\gamma = 95$  %).**

Bewertet als „sehr gut“										
	Aldrin	Mala- thion	Chlor- pyriphos	Endo- sulfan	4,4'- DDE	Ethion	Dicofol	PCB- 180	Phosa- lon	Cyper- methrin
<b>Aktivkohle</b>										
Ohne	0 $\pm$ 0	0,04 $\pm$ 0,01	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0,08 $\pm$ 0,01	0 $\pm$ 0
Ethanol	0,2 $\pm$ 0,03	0,09 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,01	0,1 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,01	0,02 $\pm$ 0
Wasser	0,06 $\pm$ 0,01	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0,03 $\pm$ 0,01	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0,1 $\pm$ 0,01	0 $\pm$ 0

Anhand des Kriteriums „niedrige Wiederfindungsraten“ wurden vier Adsorptionsmittel als „gut“ klassifiziert und damit weitergearbeitet. Zusätzliche Entscheidungsfaktoren waren selektives Verhalten (große Streuung) und unterschiedliches Verhalten bei Modifierzugabe.

Ausgewählt wurden Amberlite-XAD, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch, Bleicherde und Florisil. Obwohl Aktivkohle sehr gute Adsorptionskapazität zeigte, wurden bei der HD-Extraktion auch die erwünschten Extraktinhaltsstoffe irreversibel mitadsorbiert. Da eine weitere Verringerung der Betthöhe von Aktivkohle anlagentechnisch nicht realisierbar war, wurde dieses Material ausgeschlossen. Da die Ergebnisse dieser ersten Versuchsserie von denen der Betthöhenvariation im Extraktor (s. S. 113ff.) manchmal Abweichungen untereinander zeigten, wurden die letzteren unter Einbeziehung der ersten nachgeiecht, um eine bessere Vergleichbarkeit zu erzielen.

#### 4.2.5 Dynamische Isothermen mit und ohne Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch als Adsorptionsmittel

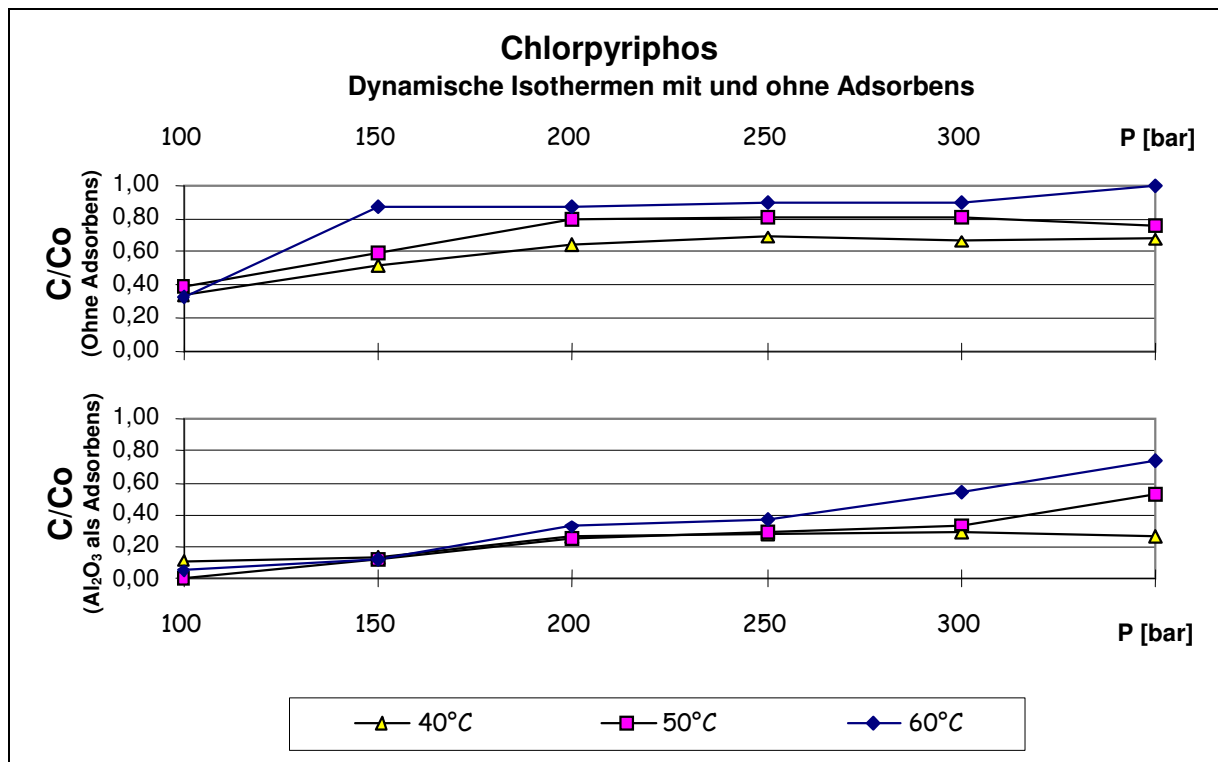
Bei diesen Versuchen wurden nun Extraktionsdruck (100–350 bar, in Intervallen von 50 bar) und Extraktionstemperatur (40, 50 und 60 °C) variiert und kombiniert, um deren Einfluss auf die Wiederfindungs- bzw. Eliminierungsraten zu prüfen. Abscheiderdruck und -temperatur wurden wie in allen anderen Versuchen konstant gehalten. Als Referenz (100 %) diente das Ergebnis einer Kontrollextraktion bei 350 bar und 60 °C. Die Parameter dieser Versuchsreihe sind in der Tabelle 36 zusammengefasst. Die Ergebnisse sind, nach Kontaminanten geordnet, in Tabelle 37 für die Extraktionsserie ohne Adsorbens und in Tabelle 38 für die Serie mit Adsorbentienzusatz aufgelistet.

**Tab. 36: Parameter zur Ermittlung der dynamischen Isothermen mit und ohne  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch als Adsorptionsmittel.**

Temperatur (°C)	40	50	60
Druck (bar)	100, 150, 200, 250, 300, 350	100, 150, 200, 250, 300, 350	100, 150, 200, 250, 300, 350

In den Abbildungen 49 - 52 sind die Extraktionsisothermen wichtiger, derzeit im Pflanzenanbau eingesetzter PSM dargestellt. Ihre relativen Konzentrationen werden in jedem Diagramm ohne (oben) und mit Zugabe von  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch (unten) dargestellt. Dieses Adsorptionsmittel wurde wegen seiner unterschiedlichen Wirkung gegenüber den verschiedenen PSM ausgewählt. Zielsetzung war es, durch Vergleich der Isothermen festzustellen, ob und inwieweit verschiedene Extraktionsdrücke und -temperaturen sich bei Adsorptionsmittelzusatz auf die Wiederfindungsraten der dotierten PSM auswirken. Die Abszisse zeigt die Werte für den Druck im Extraktor (bar) und die Kurve gibt die Temperatur in °C wieder.

Die eingezeichneten Isothermen ließen mit steigendem Druck zunächst eine Löslichkeitszunahme erkennen, wobei der Isothermenanstieg mit zunehmender Temperatur etwas steiler verlief, bis schließlich ein Tal erreicht wurde (Abb. 49). Bemerkenswert war die Tatsache, dass im Druckbereich ab 150 bar ein Abflachen der Löslichkeit zu beobachten war. Die Isothermen für Chlorpyriphos im unteren Diagramm der Abbildung 49 (mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch als Adsorbens) zeigten ein ähnliches Verhalten wie ohne Adsorbens. Der Anstieg der Löslichkeit mit zunehmendem Extraktionsdruck erfolgte aber langsamer (Abflachung der Kurve). Im gleichen Diagramm ist bei den unten dargestellten Isothermen eine exponentielle Kurvenform zu beobachten. Dies bedeutet, dass erst bei deutlich höheren Drücken (> 350 bar) ein Maximum bzw. ein Schnittpunkt zu erreichen ist.



**Abb. 49: Isothermen für Chlorpyriphos; mit und ohne Einsatz von Adsorbensmittel Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch.**

Auch bei Ethion (Abb. 50) waren die eben beschriebenen Effekte besonders gut zu beobachten. Unerwartet war allerdings, dass bei niedrigen Drücken ein Punkt zu beobachten war, an dem sich die Isothermen ausschnitten (Ausschnittspunkt). In den Versuchen mit Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch lag die relative Ausbeute bei 350 bar und 60 °C über 1 (>100 %), was als Ausreißerergebnis betrachtet wurde.

Die Wiederfindungsraten von Chlorpyriphos (Abb. 49) und Ethion (Abb. 50) hingegen ließen auf einen Einfluss beider Parameter (P, T) schließen. Sowohl bei höheren Drücken als auch Temperaturen war eine Erhöhung der Wiederfindungsraten zu beobachten. Diese Effekte ließen sich auf die größere Dichte des CO<sub>2</sub>, den höheren Dampfdruck der PSM und die geringe Beladung des Adsorbensmittels zurückführen.

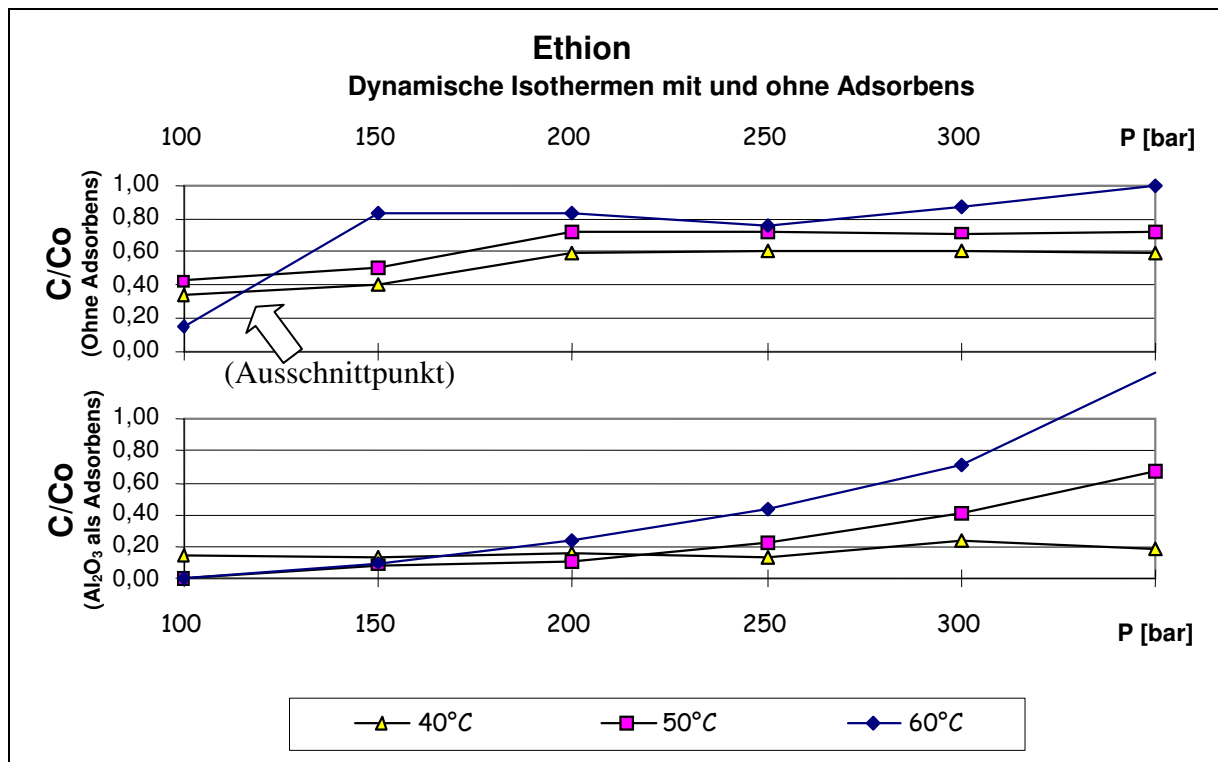
**Tab. 37: Ermittlung von Isothermen ohne Zusatz von Adsorbentien, geordnet nach Kontaminanten (Mittelwerte  $\pm$  Konfidenzintervalle,  $\gamma = 95 \%$ ).**

<b>Malathion</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,4 $\pm$ 0,06	0,49 $\pm$ 0,07	0,78 $\pm$ 0,1	0,77 $\pm$ 0,07	0,67 $\pm$ 0,04	0,73 $\pm$ 0,12
50 °C	0,63 $\pm$ 0,1	0,72 $\pm$ 0,1	0,85 $\pm$ 0,09	0,85 $\pm$ 0,07	0,92 $\pm$ 0,07	0,89 $\pm$ 0,13
60 °C	0,61 $\pm$ 0,09	0,94 $\pm$ 0,15	0,9 $\pm$ 0,09	0,9 $\pm$ 0,07	1 $\pm$ 0,06	1 $\pm$ 0,16
<b>Chlorpyrifos</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,33 $\pm$ 0,04	0,52 $\pm$ 0,07	0,64 $\pm$ 0,08	0,69 $\pm$ 0,05	0,67 $\pm$ 0,05	0,67 $\pm$ 0,11
50 °C	0,39 $\pm$ 0,06	0,59 $\pm$ 0,09	0,79 $\pm$ 0,1	0,81 $\pm$ 0,05	0,8 $\pm$ 0,07	0,76 $\pm$ 0,13
60 °C	0,33 $\pm$ 0,04	0,87 $\pm$ 0,11	0,86 $\pm$ 0,09	0,89 $\pm$ 0,05	0,89 $\pm$ 0,06	1 $\pm$ 0,16
<b>Aldrin</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,48 $\pm$ 0,06	0,54 $\pm$ 0,08	0,87 $\pm$ 0,1	0,78 $\pm$ 0,07	0,68 $\pm$ 0,05	0,83 $\pm$ 0,12
50 °C	0,79 $\pm$ 0,12	0,85 $\pm$ 0,14	0,97 $\pm$ 0,11	0,96 $\pm$ 0,07	1,07 $\pm$ 0,1	0,97 $\pm$ 0,16
60 °C	1,19 $\pm$ 0,17	0,99 $\pm$ 0,13	0,94 $\pm$ 0,1	0,98 $\pm$ 0,06	0,99 $\pm$ 0,09	1 $\pm$ 0,15
<b>Endosulfan</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,32 $\pm$ 0,04	0,4 $\pm$ 0,06	0,59 $\pm$ 0,07	0,59 $\pm$ 0,04	0,61 $\pm$ 0,04	0,61 $\pm$ 0,11
50 °C	0,28 $\pm$ 0,04	0,7 $\pm$ 0,11	0,75 $\pm$ 0,1	0,75 $\pm$ 0,05	0,73 $\pm$ 0,05	0,76 $\pm$ 0,12
60 °C	0,15 $\pm$ 0,02	0,83 $\pm$ 0,13	0,89 $\pm$ 0,09	0,8 $\pm$ 0,06	0,9 $\pm$ 0,05	1 $\pm$ 0,15
<b>4,4'-DDE</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,36 $\pm$ 0,06	0,3 $\pm$ 0,05	0,34 $\pm$ 0,03	0,4 $\pm$ 0,03	0,63 $\pm$ 0,04	0,53 $\pm$ 0,08
50 °C	0,23 $\pm$ 0,03	0,32 $\pm$ 0,05	0,47 $\pm$ 0,05	0,51 $\pm$ 0,04	0,52 $\pm$ 0,03	0,46 $\pm$ 0,07
60 °C	0,14 $\pm$ 0,02	0,81 $\pm$ 0,12	0,85 $\pm$ 0,09	0,62 $\pm$ 0,04	0,58 $\pm$ 0,03	1 $\pm$ 0,16
<b>Ethion</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,33 $\pm$ 0,05	0,4 $\pm$ 0,06	0,59 $\pm$ 0,08	0,6 $\pm$ 0,05	0,6 $\pm$ 0,04	0,59 $\pm$ 0,09
50 °C	0,43 $\pm$ 0,06	0,5 $\pm$ 0,08	0,72 $\pm$ 0,09	0,72 $\pm$ 0,06	0,71 $\pm$ 0,06	0,73 $\pm$ 0,13
60 °C	0,14 $\pm$ 0,02	0,83 $\pm$ 0,11	0,83 $\pm$ 0,08	0,76 $\pm$ 0,05	0,87 $\pm$ 0,05	1 $\pm$ 0,16
<b>Dicofol</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,12 $\pm$ 0,02	0,25 $\pm$ 0,04	0,2 $\pm$ 0,02	0,27 $\pm$ 0,02	0,35 $\pm$ 0,03	0,26 $\pm$ 0,04
50 °C	0 $\pm$ 0	0,19 $\pm$ 0,02	0,25 $\pm$ 0,03	0,29 $\pm$ 0,03	0,26 $\pm$ 0,02	0,33 $\pm$ 0,06
60 °C	0 $\pm$ 0	0,32 $\pm$ 0,04	0,56 $\pm$ 0,07	0,56 $\pm$ 0,04	0,6 $\pm$ 0,04	1 $\pm$ 0,16
<b>PCB-180</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,39 $\pm$ 0,06	0,44 $\pm$ 0,06	0,67 $\pm$ 0,08	0,71 $\pm$ 0,06	0,65 $\pm$ 0,05	0,68 $\pm$ 0,12
50 °C	0,18 $\pm$ 0,03	0,94 $\pm$ 0,13	0,79 $\pm$ 0,09	0,82 $\pm$ 0,07	0,81 $\pm$ 0,05	0,85 $\pm$ 0,13
60 °C	0,08 $\pm$ 0,01	0,85 $\pm$ 0,11	0,87 $\pm$ 0,1	0,86 $\pm$ 0,05	0,97 $\pm$ 0,09	1 $\pm$ 0,17
<b>Phosalon</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,45 $\pm$ 0,06	0,4 $\pm$ 0,06	0,54 $\pm$ 0,07	0,57 $\pm$ 0,03	0,54 $\pm$ 0,04	0,54 $\pm$ 0,09
50 °C	0,17 $\pm$ 0,02	0,51 $\pm$ 0,08	0,66 $\pm$ 0,07	0,64 $\pm$ 0,04	0,65 $\pm$ 0,05	0,67 $\pm$ 0,11
60 °C	0,18 $\pm$ 0,02	0,76 $\pm$ 0,12	0,74 $\pm$ 0,1	0,67 $\pm$ 0,05	0,8 $\pm$ 0,05	1 $\pm$ 0,17
<b>Cypermethrin</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,35 $\pm$ 0,06	0,35 $\pm$ 0,05	0,55 $\pm$ 0,07	0,57 $\pm$ 0,05	0,56 $\pm$ 0,03	0,54 $\pm$ 0,1
50 °C	0,04 $\pm$ 0,01	0,52 $\pm$ 0,07	0,66 $\pm$ 0,07	0,63 $\pm$ 0,04	0,63 $\pm$ 0,04	0,69 $\pm$ 0,12
60 °C	0,04 $\pm$ 0,01	0,75 $\pm$ 0,11	0,73 $\pm$ 0,07	0,8 $\pm$ 0,06	0,85 $\pm$ 0,06	1 $\pm$ 0,15

**Tab. 38: Ermittlung von Isothermen mit Zusatz von Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch als Adsorbens, geordnet nach Kontaminanten (Mittelwerte ± Konfidenzintervalle, γ = 95 %).**

<b>Malathion</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0	0,07 ± 0,01	0,02 ± 0
50 °C	0,01 ± 0	0,02 ± 0	0,03 ± 0	0,03 ± 0	0,05 ± 0	0,08 ± 0,01
60 °C	0,01 ± 0	0,01 ± 0	0,02 ± 0	0,02 ± 0	0,04 ± 0	0,06 ± 0,01
<b>Chlorpyrifos</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,11 ± 0,02	0,14 ± 0,02	0,26 ± 0,03	0,28 ± 0,02	0,29 ± 0,02	0,26 ± 0,04
50 °C	0 ± 0	0,13 ± 0,02	0,25 ± 0,03	0,28 ± 0,02	0,33 ± 0,02	0,53 ± 0,09
60 °C	0,05 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,33 ± 0,04	0,37 ± 0,03	0,54 ± 0,04	0,73 ± 0,12
<b>Aldrin</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,06 ± 0,01	0,15 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,16 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,16 ± 0,03
50 °C	0,01 ± 0	0,18 ± 0,03	0,17 ± 0,02	0,18 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,25 ± 0,04
60 °C	0,04 ± 0,01	0,18 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,24 ± 0,01	0,35 ± 0,03	0,75 ± 0,13
<b>Endosulfan</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,17 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,29 ± 0,04	0,25 ± 0,02	0,27 ± 0,02	0,27 ± 0,04
50 °C	0 ± 0	0,14 ± 0,02	0,18 ± 0,02	0,22 ± 0,01	0,28 ± 0,02	0,45 ± 0,07
60 °C	0,03 ± 0	0,11 ± 0,02	0,2 ± 0,02	0,29 ± 0,03	0,31 ± 0,02	0,35 ± 0,06
<b>4,4'-DDE</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,16 ± 0,03	0,22 ± 0,03	0,88 ± 0,1	0,26 ± 0,02	0,25 ± 0,02	0,24 ± 0,04
50 °C	0,01 ± 0	0,28 ± 0,04	0,43 ± 0,05	0,29 ± 0,02	0,24 ± 0,02	1,01 ± 0,15
60 °C	0,06 ± 0,01	0,43 ± 0,07	0,32 ± 0,03	0,85 ± 0,06	0,65 ± 0,05	0,68 ± 0,12
<b>Ethion</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,15 ± 0,02	0,14 ± 0,02	0,17 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,19 ± 0,03
50 °C	0 ± 0	0,09 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,23 ± 0,02	0,41 ± 0,03	0,67 ± 0,11
60 °C	0 ± 0	0,1 ± 0,02	0,24 ± 0,03	0,43 ± 0,03	0,72 ± 0,06	1,29 ± 0,19
<b>Dicofol</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,01 ± 0	0,03 ± 0	0,11 ± 0,01	0 ± 0	0,03 ± 0	0,01 ± 0
50 °C	0 ± 0	0 ± 0	0,03 ± 0	0,01 ± 0	0,04 ± 0	0,22 ± 0,04
60 °C	0 ± 0	0 ± 0	0,01 ± 0	0,12 ± 0,01	0,23 ± 0,02	0,26 ± 0,04
<b>PCB-180</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,3 ± 0,04	0,58 ± 0,09	0,74 ± 0,09	0,7 ± 0,04	0,66 ± 0,04	0,69 ± 0,1
50 °C	0,03 ± 0	0,69 ± 0,11	0,71 ± 0,07	0,73 ± 0,06	0,72 ± 0,04	0,84 ± 0,15
60 °C	0,02 ± 0	0,95 ± 0,15	0,93 ± 0,09	0,91 ± 0,08	1 ± 0,08	1,75 ± 0,26
<b>Phosalon</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,12 ± 0,02	0,1 ± 0,02	0,08 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,1 ± 0,01	0,08 ± 0,01
50 °C	0,06 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,16 ± 0,03
60 °C	0,04 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,1 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,29 ± 0,05
<b>Cypermethrin</b>	<b>100 bar</b>	<b>150 bar</b>	<b>200 bar</b>	<b>250 bar</b>	<b>300 bar</b>	<b>350 bar</b>
40 °C	0,14 ± 0,02	0,12 ± 0,02	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0	0,17 ± 0,01	0,12 ± 0,02
50 °C	0,02 ± 0	0,05 ± 0,01	0,01 ± 0	0,06 ± 0	0,16 ± 0,01	0,29 ± 0,05
60 °C	0,01 ± 0	0,03 ± 0	0,04 ± 0	0,08 ± 0,01	0,29 ± 0,02	0,53 ± 0,08





**Abb. 50: Isothermen für Ethion; mit und ohne Einsatz von Adsorbensmittel Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch.**

Ein ähnlicher Kurvenverlauf wie in Abb. 50 ergab sich auch für Endosulfan, DDE, PCB-180, Phosalon, und Cypermethrin.

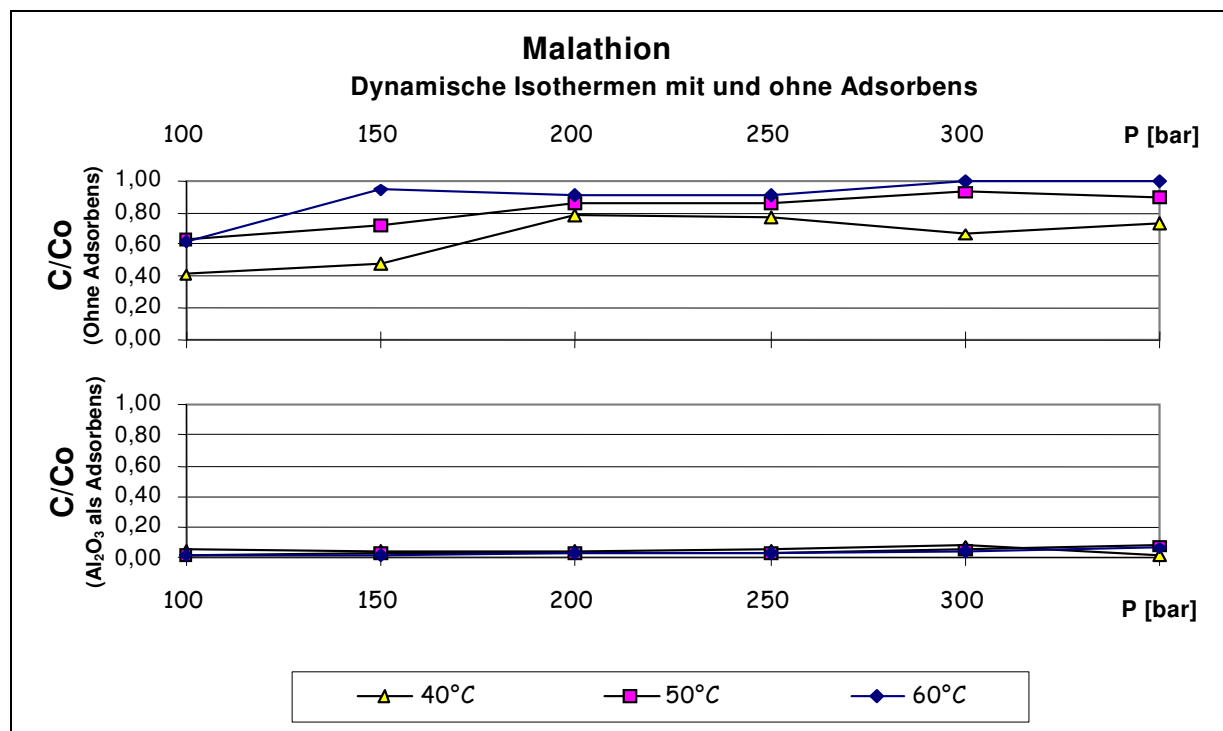
Bei Aldrin stellte die Temperatur die maßgebliche Einflussgröße dar, denn bei Druckerhöhung ändern sich die Wiederfindungsraten nur geringfügig. Zwischen den Verläufen bei 50 und 60 °C war kaum ein Unterschied zu beobachten, bei 40 °C dagegen war der Wert für  $C/C_0$  deutlich geringer. Für Aldrin betrug die Wiederfindungsrate ab 50 °C und 200 bar 100 %. Diese Isothermen verhielten sich linear, sowohl ohne als auch mit Zugabe eines Adsorbens, wobei allerdings im letzten Fall der Anstieg der Wiederfindungsrate bei Temperaturerhöhung deutlich geringer ausfiel.

In den Versuchen mit Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch konnte für Aldrin und Cypermethrin bei höheren Drücken ein leichter Anstieg der Wiederfindungsraten beobachtet werden, aber nur bei Aldrin ließ sich bei einer Temperaturerhöhung auf 60 °C ein weiterer Anstieg erzielen. Bei 40 und 50 °C stagnierten die Wiederfindungsraten bei ca. 20 %.

Im Fall von Dicolfol war der Verlauf der Isothermen für 40 und 50 °C nahezu identisch. Eine Druckerhöhung ließ die Wiederfindungsraten geringfügig ansteigen. Bei 60 °C waren jedoch die Wiederfindungsraten nahezu doppelt so hoch, und eine Erhöhung des Druckes wirkte sich ebenfalls steigernd aus, vor allem in den Bereichen 100–200 sowie 300–350 bar

(Wiederfindung 100 % bei 350 bar). Bei Dicofolextraktion ohne Zusatz von Adsorbens war das Verhalten identisch zu dem der anderen Fälle, lediglich mit einem leichten Unterschied im Verlauf der 60 °C-Isotherme.

Im Vergleich zu den Versuchen ohne Adsorbens war generell festzustellen, dass der Einsatz von  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch bei den eingesetzten PSM (Malathion, Chlorpyrifos, Ethion, Phosalon, Aldrin, Endosulfan, Dicofol, Cypermethrin) niedrigere Wiederfindungsraten bewirkte. Bei einigen OPs (z. B. Malathion und Phosalon) ließ sich jedoch beobachten, dass die Veränderungen von Druck und Temperatur die Extrahierbarkeit nicht beeinflussten. Die Wiederfindungsraten waren bei allen Drücken und Temperaturen sehr gering, was die in den vorherigen Versuchen (s. Kap. 4.2.4) gemachten Erfahrungen bestätigt. Dort wurde  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch als inhomogen wirkendes Adsorptionsmittel, die OPs Malathion und Phosalon als „sehr gut“ sowie die OCs Dicofol und Endosulfan als „gut“ eingestuft.



**Abb. 51: Isothermen für Malathion; mit und ohne Einsatz von Adsorbensmittel  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch.**

Ähnlich zu Dicofol verliefen die Isothermen beim Einsatz von  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch bei der Extraktion von Malathion als flache Kurven (Abb. 51). Malathion ließ sich an diesem Adsorbens gut binden und somit eliminieren. Stahl (1987 [2]) gibt Beispiele von Stoffen an, die nach Erreichen eines Löslichkeitsmaximums wieder niedrige Löslichkeitswerte erreichen.

Dieses in unseren Versuchen erwartete Phänomen konnte jedoch nicht beobachtet werden. Bei Cypermethrin stiegen die Wiederfindungsraten ab 250 bar an, wiederum bei 60 °C deutlicher als bei den Extraktionstemperaturen von 40 und 50 °C. Bei Einsatz von Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch zeigten die Isothermen, ähnlich wie bei Chlorpyrifos (Abb. 49), ein Löslichkeitstal ab 200 bar.

Bei allen bisher besprochenen PSM bzw. Kontaminanten waren deutlich niedrigere Wiederfindungsraten bei Zusatz von Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch im Vergleich zu den reinen Extraktionsisothermen ohne Zusatz zu beobachten. Lediglich bei PCB-180 und 4,4'-DDE trat dieser Effekt nicht oder nur sehr geringfügig auf. Dies bestätigt die in den vorherigen Versuchen gemachten Erfahrungen (s. Kap. 4.2.3 und 4.2.4) erneut. Dort waren die Wiederfindungsraten hoch, was darauf schließen ließ, dass PCB-180 und 4,4'-DDE auf Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch nicht oder nur geringfügig adsorbiert wurden. Bei PCB-180 war schon ein deutlicher Anstieg der Wiederfindungsrate bei einer Druckerhöhung auf 150 bar zu beobachten. Ohne Adsorbens war die Löslichkeit bei 150 bar und 50 °C bedingt höher als bei 60 °C, wobei dieses Maximum auch eine Messschwankung sein könnte, da die anderen Isothermen eben kein Maximum an dieser Stelle zeigten.

#### **4.2.6 Variation der Betthöhe des Adsorbens im Extraktor**

Zielsetzung dieser Versuchsreihen war festzustellen, inwieweit sich der Adsorptionseffekt durch Variation der Einsatzmengen an ausgewählten Adsorptionsmitteln ändert. Zum Einsatz kamen die vier mit guten Eigenschaften beurteilten Adsorptionsmittel Amberlite-XAD (homogen), Bleicherde (inhomogen), Aluminiumoxid basisch (inhomogen) und Florisil (inhomogen). Zu den Auswahlkriterien s. Kap. 4.2.3 und Kap. 4.2.4. Die Arbeitsweise unterschied sich gegenüber der bereits beschriebenen (s. Kap. 3.5.1) lediglich dadurch, dass 30 g anstelle von 60 g Cellulose als Dotiermatrix eingesetzt wurden, um genügend Leerraum im HD-Extraktor zur Verfügung zu haben. Deswegen wurde der HD-Extrakt nicht, wie bisher, auf 10 ml, sondern lediglich auf 5 ml verdünnt. Als Referenzwert (100 %) wurde wiederum das Ergebnis der „Extraktion ohne Adsorptionsmittel bei 350 bar und 60 °C“ herangezogen. Die Parameter zu dieser Versuchsreihe sind in der Tabelle 39 aufgeführt.

**Tab. 39: Parameter für die Bestimmung der Verlaufes der Extraktion bei Variation der Betthöhe des Adsorptionsmittels.**

<b>Matrix</b>	Cellulose			
<b>Menge</b>	30 g			
<b>Druck</b>	Extraktor	350 bar	Separator	10 bar
<b>Temperatur</b>		60 °C		25 °C
<b>CO<sub>2</sub> Durchsatz (*)</b>	153 l/h			
<b>Extraktionszeit</b>	45 min			
<b>Adsorbens (**)</b>	Variable 0 bis 100 %			
<b>Modifiziermenge (***)</b>	10 ml Ethanol (bzw. destilliertes Wasser)			

(\*) Standardbedingungen, 20 °C und 1 atm

(\*\*) auf Matrixmasse bezogen

(\*\*\*) falls Modifier zusätzlich benutzt wurde

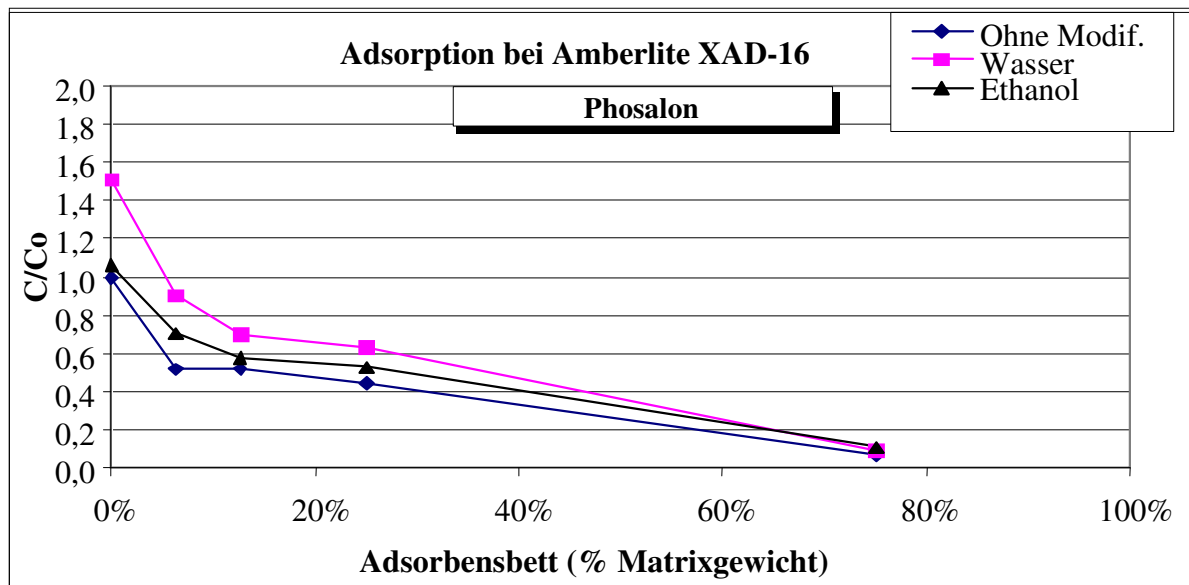
Die im Folgenden aufgeführten Ergebnisse sind nach Adsorptionsmaterialien gegliedert. In jedem Diagramm sind die Wiederfindungsraten ( $C/C_0$ ) für die Kontaminanten bei Extraktionen ohne Modifier und mit 10 ml Ethanol oder 10 ml dest. Wasser in der dotierten Modellmatrix (Cellulose) dargestellt (Konzentration der Kontaminanten s. S. 96). In den meisten Fällen war bei Erhöhung der eingesetzten Adsorbensmasse (X-Achse) eine Verringerung der Kontaminantenmenge im Extrakt zu beobachten (Y-Achse). Die Versuche wurden bei gleicher Menge an Adsorbens (die Erhöhung innerhalb der Versuchsreihe erfolgte stufenweise) mit Zugabe von Ethanol und danach Wasser durchgeführt.

Als allgemeine Tendenz war eine Verringerung des Rückstandsgehaltes im Extrakt bei Erhöhung der Beladung mit Adsorbens zu erkennen. Der Vergleich zwischen den Versuchen ohne bzw. mit Zusatz der Modifier Ethanol oder Wasser lieferte ähnliche Ergebnisse wie bei Zugabe von 30 ml Adsorbens (s. Kap. 4.2.4). Trotz Änderung der Einsatzmengen an Dotiermatrix und Adsorbens stimmen die Ergebnisse mit denen auf Seite 100ff. zitierten überein.

Somit war eigentlich bewiesen, dass das Verfahren reproduzierbar ist. Die für ein charakteristisches Verhalten der Kontaminanten repräsentativen Ergebnisse sind im Folgenden tabellarisch zusammengefasst (Tab. 40 – 43). Die restlichen Ergebnisse sind im Anhang zu finden.

#### 4.2.6.1 Amberlite XAD-16

Bei Einsatz von Amberlite war zu beobachten, dass die Wiederfindungsraten von Aldrin; 4,4'-DDE; Ethion; Dicofol; PCB-180 und Phosalon mit zunehmender Adsorbensmenge stark bis zu Werten unter 20 % abnahmen. In der Abbildung 52 ist dieser Effekt mit Phosalon sehr gut zu erkennen. Der Wert für  $C/C_0$  (ohne Modifier) war geringer als im Fall  $C/C_0$  (Modifier Ethanol), wiederum ähnlich wie in den Versuchen mit 30 ml Adsorbenszusatz. Bei Wasser kam es allerdings zu anderen Befunden (s. Diskussion). Interessant war auch zu beobachten, dass bei geringen Mengen Adsorbens die Abnahme von  $C/C_0$  am stärksten war.



**Abb. 52:** Adsorption von Phosalon, unterschiedliche Betthöhen von Amberlite XAD-16 mit und ohne Zugabe von Modifier.

Bei den OPs Malathion und Chlorpyrifos waren die Wechselwirkungen mit Amberlite XAD-16 eher schwächer und die Wiederfindungsraten hoch (> 60 %). Bei Malathion war der Wert für  $C/C_0$  (mit Ethanol) geringer als der  $C/C_0$ -Wert (ohne Modifier), ähnlich wie in den Versuchen mit 30 ml Adsorbens. Das Verhalten bei Anwendung von Wasser war allerdings anders als erwartet (Details s. Diskussion). Ab ca. 20 % Zugabe an Adsorbens war praktisch kein Einfluss mehr auf die Wiederfindungsraten zu beobachten.

Cypermethrin zeigte hier, abweichend von den Versuchen mit 30 ml Adsorbens, bei Zugabe von 75 % Amberlite XAD-16 eine Konzentration von > 20 %, . Trotzdem war der Wert für  $C/C_0$  (mit Ethanol) geringer als bei  $C/C_0$  (ohne Modifier), ähnlich zu den früheren Versuchen. Die Tabelle 40 zeigt, dass die Verringerung der Kontaminanten im Extrakt durch eine Kurve nach der Art  $1/X$  charakterisiert werden kann und ab 75 % Adsorbenszugabe asymptotisch ausläuft.

**Tab. 40: Relative Konzentrationen ( $C/C_0$ ) für Malathion, Phosalon und Cypermethrin bei Variation der Betthöhe des Adsorbens Amberlite XAD-16.**

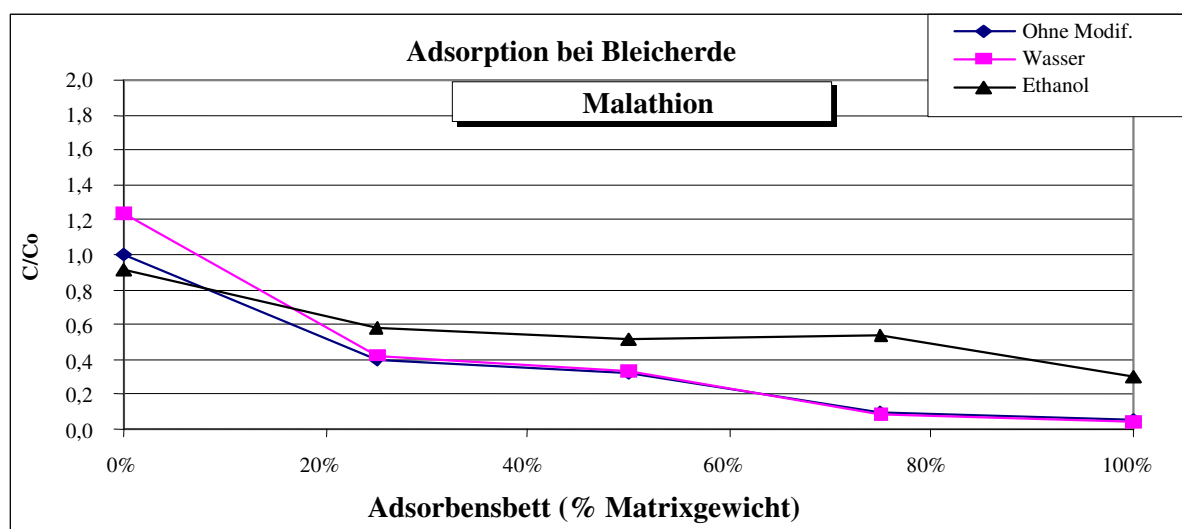
**Bezug: Extraktion ohne Modifier, 0 % Adsorbens.**

	Betthöhe (bezogen auf Matrixmasse, Gew.-Gew.%)				
	0 %	6 %	13 %	25 %	75 %
<b>Malathion</b>					
ohne Modifier	1 ± 0,13	0,62 ± 0,09	0,63 ± 0,07	0,62 ± 0,04	0,64 ± 0,04
Wasser	1,23 ± 0,18	0,83 ± 0,11	0,78 ± 0,09	0,73 ± 0,07	0,54 ± 0,05
EtOH	0,92 ± 0,14	0,58 ± 0,08	0,52 ± 0,06	0,54 ± 0,04	0,65 ± 0,05
<b>Phosalon</b>					
ohne Modifier	1 ± 0,13	0,51 ± 0,07	0,52 ± 0,06	0,44 ± 0,04	0,07 ± 0
Wasser	1,51 ± 0,21	0,9 ± 0,14	0,69 ± 0,07	0,62 ± 0,04	0,08 ± 0,01
EtOH	1,06 ± 0,14	0,71 ± 0,11	0,58 ± 0,06	0,52 ± 0,04	0,1 ± 0,01
<b>Cypermethrin</b>					
ohne Modifier	1 ± 0,15	0,49 ± 0,07	0,48 ± 0,05	0,46 ± 0,03	0,31 ± 0,02
Wasser	1,24 ± 0,16	0,82 ± 0,12	0,73 ± 0,08	0,41 ± 0,04	0,21 ± 0,01
EtOH	1,04 ± 0,14	0,67 ± 0,09	0,47 ± 0,05	0,25 ± 0,02	0,2 ± 0,02

Ergebnisse für Chlorpyrifos, Aldrin, Endosulfan, 4,4'-DDE, Ethion, Dicolol und PCB-180 siehe Anhang.

#### 4.2.6.2 Bleicherde

Bei Einsatz von Bleicherde waren die Befunde weniger eindeutig als bei Amberlite XAD-16. Obwohl einige Kontaminanten sehr gut adsorbiert wurden (z. B. wiederum Phosalon und Malathion, Abb. 53), war das „gute“ Zurückhalten der übrigen dotierten Analyten bei Bleicherde schwächer ausgeprägt. Bei Malathion stimmten die Werte für  $C/C_0$  mit denen bei 30 ml Adsorbenszugabe praktisch überein. Die Wiederfindungsraten von Malathion lagen bei Zusatz von 100 % Bleicherde an der GC/ECD-Nachweisgrenze. Bei Ethanolzusatz wurde ein  $C/C_0$ -Wert von 0,3 erreicht.



**Abb. 53: Adsorption von Malathion, unterschiedliche Betthöhen von Bleicherde sowie mit oder ohne Zugabe von Modifier.**

Chlorpyriphos, 4,4'-DDE und Cypermethrin zeigten eine Abnahme der Extraktionsausbeute bei Erhöhung des Adsorbensbettes (der positive Effekt unter dem Aspekt „Wirkstoffausbeute“ war trotzdem akzeptabel;  $C/C_0$ -Werte um 0,3). Die absteigenden Tendenzen (Verringerung der Konzentration) stimmten für die Versuche mit und ohne Modifier fast überein; die Wiederfindungsraten bei Versuchen mit Modifier lagen geringfügig höher (z. B. Tab. 41 für Chlorpyriphos).

**Tab. 41: Relative Konzentrationen ( $C/C_0$ ) für Chlorpyriphos, Ethion und PCB-180 bei Variation der Betthöhe des Adsorbens Bleicherde.**

**Bezug: ohne Modifier, 0 % Adsorbens.**

	<b>Betthöhe (bezogen auf Matrixmasse % w.w.)</b>				
	<b>0 %</b>	<b>25 %</b>	<b>50 %</b>	<b>75 %</b>	<b>100 %</b>
<b>Malathion</b>					
ohne Modifier	1 ± 0,13	0,4 ± 0,06	0,33 ± 0,04	0,1 ± 0,01	0,06 ± 0
Wasser	1,23 ± 0,18	0,43 ± 0,07	0,34 ± 0,04	0,09 ± 0,01	0,05 ± 0
Ethanol	0,92 ± 0,15	0,59 ± 0,08	0,52 ± 0,06	0,55 ± 0,04	0,3 ± 0,02
<b>Chlorpyriphos</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,16	0,49 ± 0,06	0,43 ± 0,06	0,24 ± 0,01	0,32 ± 0,03
Wasser	1,09 ± 0,17	0,44 ± 0,06	0,35 ± 0,04	0,41 ± 0,02	0,37 ± 0,02
Ethanol	0,92 ± 0,14	0,61 ± 0,09	0,56 ± 0,06	0,44 ± 0,03	0,42 ± 0,03
<b>Ethion</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,14	0,44 ± 0,07	0,43 ± 0,06	0,18 ± 0,01	0,16 ± 0,01
Wasser	1,21 ± 0,18	0,65 ± 0,09	0,49 ± 0,06	0,38 ± 0,02	0,34 ± 0,02
Ethanol	0,95 ± 0,12	0,76 ± 0,12	0,82 ± 0,08	0,8 ± 0,06	0,79 ± 0,05
<b>PCB-180</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,15	0,62 ± 0,1	0,66 ± 0,08	0,65 ± 0,04	0,66 ± 0,05
Wasser	1,21 ± 0,18	0,49 ± 0,08	0,51 ± 0,06	0,47 ± 0,04	0,43 ± 0,03
Ethanol	1,08 ± 0,17	0,76 ± 0,11	0,75 ± 0,08	0,72 ± 0,06	0,68 ± 0,05
Ergebnisse für Aldrin, Endosulfan, 4,4'-DDE, Dicofol, Phosalon und Cypermethrin siehe Anhang.					

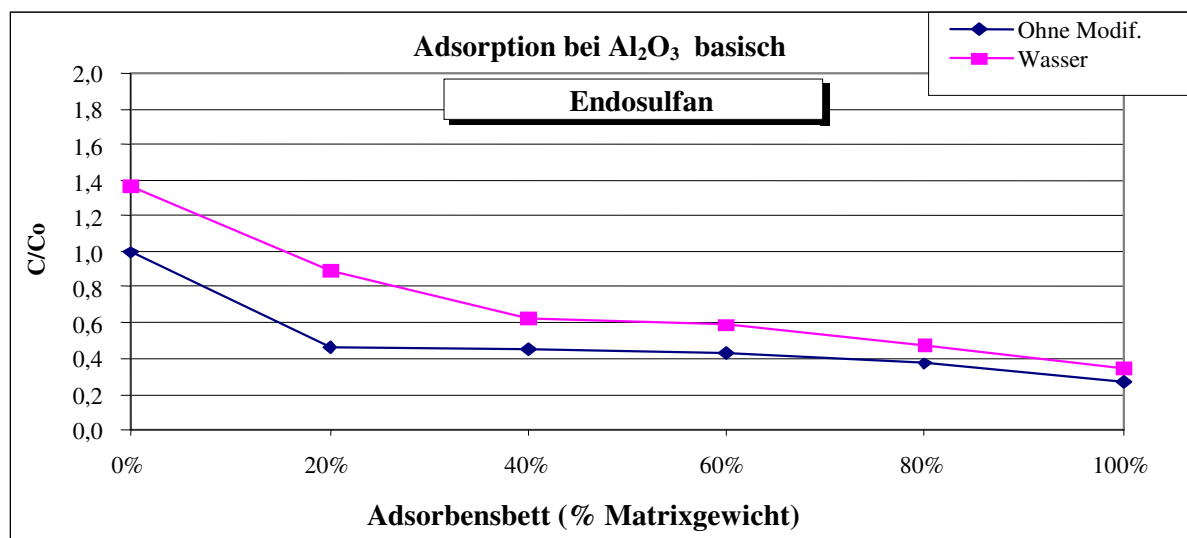
Bei Aldrin, Dicofol, Ethion, und PCB-180 waren die Wiederfindungsraten (20–80 %) unabhängig von der eingesetzten Adsorptionsmittelmenge. Die Werte mit Ethanol als Modifier lagen hier um ca. 20 % höher als beim Einsatz von 30 ml Bleicherde (vorherige Versuchsreihe), aber innerhalb des Methodenkonfidenzintervalles bei einer Konfidenzzahl von  $\gamma = 95 \%$  (z. B. PCB-180 in Tab. 41). Nach einem starken Abfall der  $C/C_0$ -Werte beim Einsatz einer kleinen Menge Bleicherde blieben die Wiederfindungsraten bei weiterer Zugabe von Bleicherde relativ konstant.

Zudem konnten für Ethion und Dicofol hier große Unterschiede zwischen den Versuchsreihen (mit und ohne Modifier) beobachtet werden: z. B. kein Einfluss auf die Ausbeute im HD-

Extrakt bei Zugabe von Ethanol, jedoch eine Verringerung der Wiederfindungsraten mit und ohne Wasserzusatz (Wiederfindungsraten „ohne Modifier“ ähnlich in Kap. 4.2.4).

#### 4.2.6.3 Aluminiumoxid basisch

Ab ca. 20 % Zusatz an Adsorptionsmittel war bei Einsatz von  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch nur noch ein geringer Einfluss auf die Wiederfindungsraten zu beobachten (leicht abfallende relative Konzentrationswerte  $C/C_0$  für Aldrin, Chlorpyriphos, 4,4'-DDE, Ethion und PCB-180; Tab. 42). Die Ergebnisse bei Zugabe von Ethanol sind nicht dargestellt, da sie wegen eines Ausfalls der Kühlung bei der Probenlagerung bis zur Analyse als nicht gesichert erschienen und die Versuche aus Zeitmangel nicht wiederholt werden konnten. Die Ergebnisse ohne Adsorbens und die mit „Modifier Wasser“ glichen denen der Versuchsreihe mit Einsatz von 30 ml  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch.



**Abb. 54:** Adsorption von Endosulfan, unterschiedliche Betthöhen von  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch, mit oder ohne Zugabe von Modifier.

Bei Endosulfan, Dicofol, Malathion, Phosalon und Cypermethrin waren größere Wechselwirkungen mit dem Adsorbens vorhanden (z. B. Abb. 54, Endosulfan). Doch diese Effekte waren beim Zusatz geringerer Mengen an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch proportional größer als bei höheren Zusatzmengen. Die Ergebnisse mit 30 ml Adsorbens, Zugabe von Wasser und „ohne Modifier“ glichen auch hier denen bei Erhöhung des Adsorptionsmittelbettes im HD-Extraktor.



**Tab. 42: Relative Konzentrationen ( $C/C_0$ ) für Malathion, Chlorpyrifos, Aldrin und Ethion bei Variation der Betthöhe des Adsorbens  $Al_2O_3$  basisch.**

**Bezug: Modellmatrix ohne Modifier, 0 % Adsorbens.**

	Betthöhe (bezogen auf Matrixmasse % w.w.)					
	0 %	20 %	40 %	60 %	80 %	100 %
<b>Malathion</b>						
Ohne Modifier	1 ± 0,14	0,42 ± 0,07	0,42 ± 0,05	0,4 ± 0,03	0,36 ± 0,03	0,29 ± 0,05
Wasser	1,23 ± 0,2	0,82 ± 0,12	0,5 ± 0,06	0,45 ± 0,04	0,41 ± 0,02	0,24 ± 0,04
EtOH	---	---	---	---	---	---
<b>Chlorpyrifos</b>						
ohne Modifier	1 ± 0,15	0,49 ± 0,07	0,54 ± 0,07	0,48 ± 0,04	0,46 ± 0,03	0,5 ± 0,08
Wasser	1,09 ± 0,17	0,85 ± 0,12	0,67 ± 0,07	0,57 ± 0,04	0,45 ± 0,04	0,34 ± 0,05
EtOH	---	---	---	---	---	---
<b>Aldrin</b>						
ohne Modifier	1 ± 0,14	0,92 ± 0,12	0,87 ± 0,11	0,83 ± 0,07	0,76 ± 0,05	0,86 ± 0,13
Wasser	0,96 ± 0,15	1,05 ± 0,14	1,01 ± 0,11	0,9 ± 0,08	0,79 ± 0,06	0,61 ± 0,1
EtOH	---	---	---	---	---	---
<b>Endosulfan</b>						
Ohne Modifier	1 ± 0,14	0,47 ± 0,07	0,45 ± 0,05	0,43 ± 0,03	0,37 ± 0,03	0,26 ± 0,05
Wasser	1,36 ± 0,18	0,89 ± 0,12	0,63 ± 0,08	0,58 ± 0,05	0,47 ± 0,03	0,34 ± 0,06
EtOH	---	---	---	---	---	---

Ergebnisse für 4,4'-DDE, Ethion, Dicofol, PCB-180, Phosalon, Cypermethrin siehe Anhang.

#### 4.2.6.4 Florisil

Mit höheren Florisilmengen wurden bei den OPs Malathion, Ethion, Phosalon und dem Pyrethroid Cypermethrin höhere Eliminierungsraten erreicht. Auch dieses Ergebnis war eigentlich zu erwarten, da alle PSM besonders gut von Florisil adsorbiert werden (vgl. Ergebnisse auf S. 105). Der Tabelle 43 ist zu entnehmen, dass Zusatz von 100 % Florisil bei Phosalon Werte unter der GC/ECD-Nachweisgrenze liefert. Bei Zugabe von 60 % Adsorbens lagen die Werte für „mit“ und „ohne Modifier“ nahe beieinander und stimmten mit den Wiederfindungsraten bei Zugabe von „30 ml Adsorbens“ völlig überein.

Bei Endosulfan, Dicofol, Aldrin, 4,4'-DDE, Chlorpyrifos und PCB-180 wirkte sich eine Florisilzugabe nur geringfügig auf die Eliminierungsrate aus dem HD-Extrakt aus (Tab. 43, z.B. Aldrin). Auch hier stimmten die Werte für „mit“ und „ohne Ethanol“ mit denen aus der Versuchsreihe in Kap. 4.2.4 überein, nicht aber im Fall von „Wasser als Modifier“.

**Tab. 43: Relative Konzentrationen ( $C/C_0$ ) für Aldrin und Phosalon bei Variation der Betthöhe des Adsorbens Florisil**

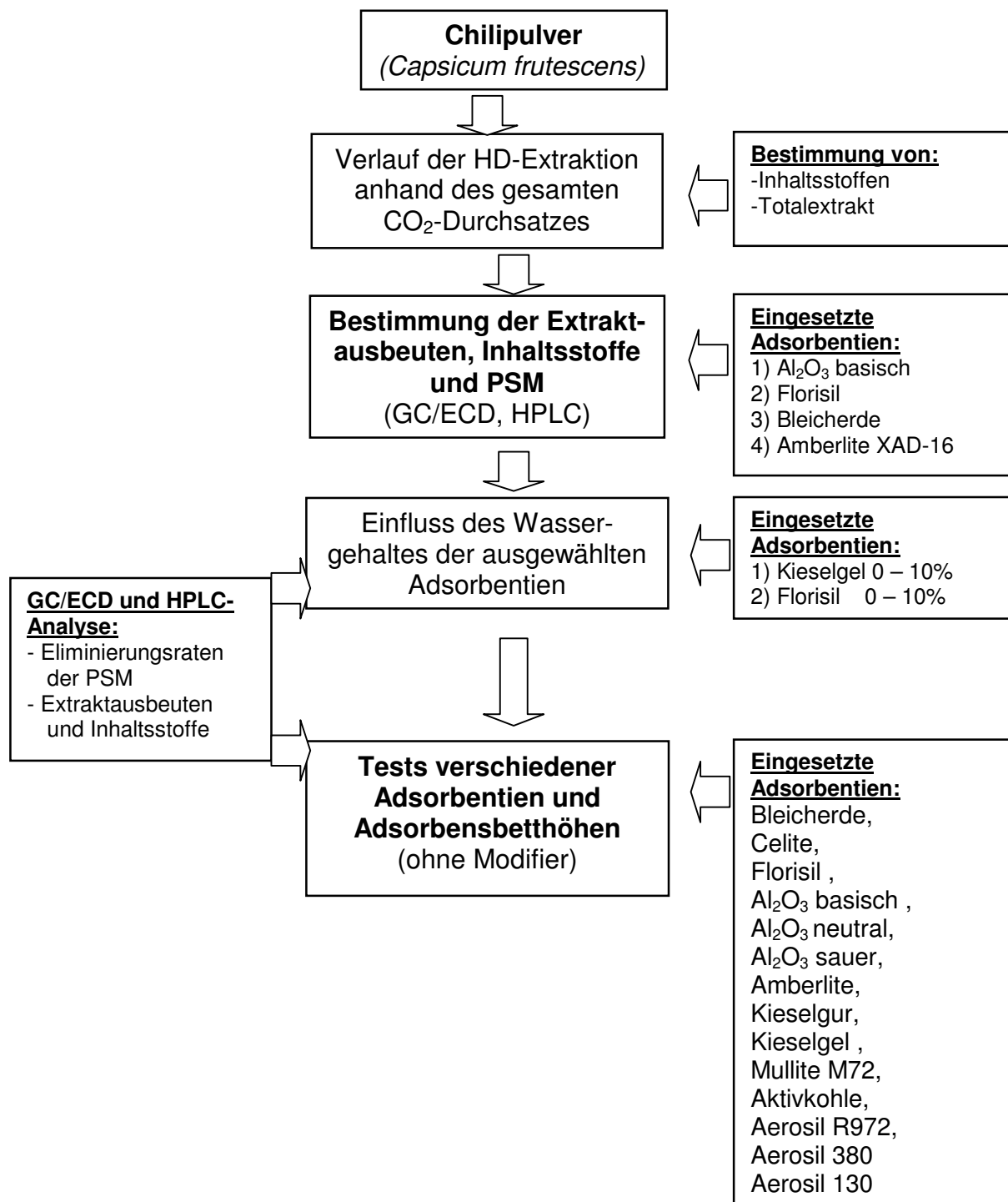
**Bezug: Modellmatrix ohne Modifier, 0 % Adsorbens.**

	<b>Betthöhe (bezogen auf Matrixmasse % w.w.)</b>				
	0 %	25 %	50 %	75 %	100 %
<b>Aldrin</b>					
ohne Modifier	$1 \pm 0,13$	$0,59 \pm 0,08$	$0,57 \pm 0,06$	$0,53 \pm 0,04$	$0,54 \pm 0,05$
Wasser	$0,96 \pm 0,13$	$0,4 \pm 0,06$	$0,43 \pm 0,05$	$0,48 \pm 0,03$	$0,46 \pm 0,03$
EtOH	$0,77 \pm 0,11$	$0,65 \pm 0,09$	$0,57 \pm 0,07$	$0,68 \pm 0,05$	$0,77 \pm 0,05$
<b>Phosalon</b>					
ohne Modifier	$1 \pm 0,14$	$0,37 \pm 0,05$	$0,28 \pm 0,03$	$0,02 \pm 0$	$0,01 \pm 0$
Wasser	$1,51 \pm 0,2$	$0,39 \pm 0,06$	$0,3 \pm 0,04$	$0,04 \pm 0$	$0,01 \pm 0$
EtOH	$1,06 \pm 0,17$	$0,72 \pm 0,12$	$0,5 \pm 0,07$	$0,39 \pm 0,03$	$0,27 \pm 0,02$
Ergebnisse für Malathion, Chlorpyrifos, Endosulfan, 4,4'-DDE, Ethion, Dicofol, PCB-180, Cypermethrin s. Anhang.					

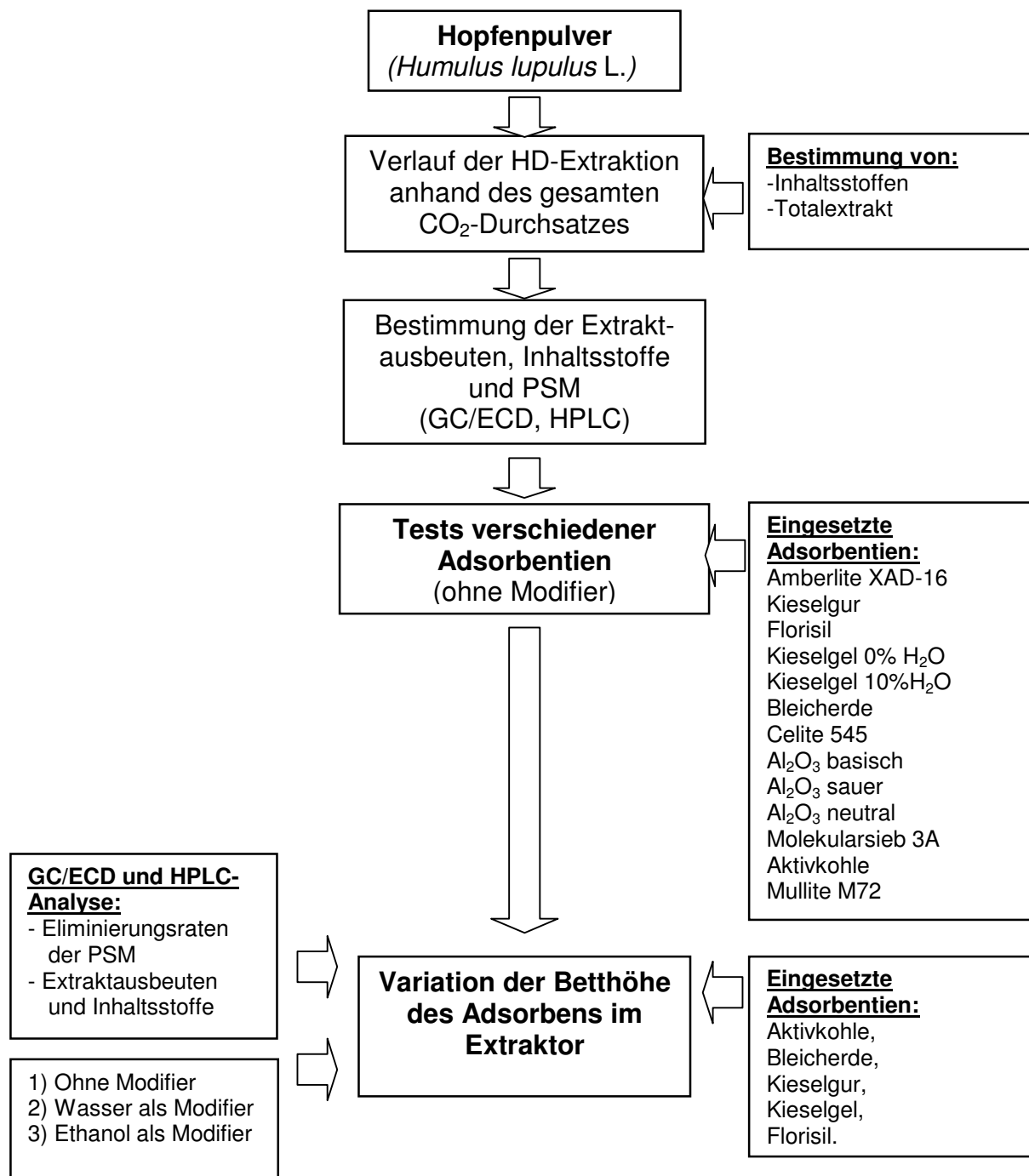
### **4.3 Teil 3: Diskriminierung von Pflanzenschutzmitteln in zwei ausgewählten pflanzlichen Matrices durch kombinierte Anwendung von HD-Extraktion und Chromatographie**

Nachdem nun in der vorliegenden Arbeit mit Hilfe von mehreren Vorversuchsreihen die kinetischen und thermodynamischen Daten, die immer anlagenspezifisch sind und daher mit praktischen Modellmatrices entwickelt werden müssen, ermittelt worden waren, wurde Extraktionsgut pflanzlicher Herkunft mit Adsorptionsmitteln (aktiven Oberflächen) wie  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (basisch, sauer, neutral) oder Cellulose überschichtet und mit überkritischem  $\text{CO}_2$  extrahiert. Mit Hilfe dieses *online*-Verfahrens konnten nun die verschiedenen Inhaltsstoffe grob chromatographiert werden. Dabei sollte also getestet werden, ob sich durch Variation der Oberflächeneigenschaften und der physikalisch-chemischen Parameter der HD-Extraktion PSM-Rückstände im Extrakt effektiv beseitigen lassen, ohne die Ausbeute an wertvollen Extraktbestandteilen wesentlich zu beeinträchtigen.

Nachdem der HD-Extrakt einer dotierten Modellmatrix durch Einsatz von Adsorptionsmitteln erfolgreich von seinen Kontaminanten befreit worden war, sollte dieses entwickelte Verfahren zunächst mit den pflanzlichen Rohstoffmatrices erprobt werden, weil es sicherlich weiteren Einflussparametern unterliegt, z. B. der Polarität und Art der Inhaltsstoffe oder deren Bindungsmechanismen an die pflanzliche Matrix. Hierzu wurde pflanzliches Material ausgewählt, das entweder die Qualitätskontrolle wegen Rückstandsmengen weit über der Zulassungsgrenze nicht bestanden hatte (Chili) oder kurz vor der Ernte im Anbaugebiet gezielt mit einer Überdosis bestimmter PSM behandelt worden war (Hopfen). Die Abbildungen 55 und 56 zeigen die Fließschemata zur HD-Extraktion dieser belasteten Matrices, Chili- und Hopfenpulver.



**Abb. 55:** Fließschema zur HD-Extraktion eines belasteten Chilipulvers - Verfahren zur Optimierung der Eliminierungsraten von Pflanzenschutzmitteln (PSM) bei möglichst hohen Extraktausbeuten.



**Abb. 56:** Fließschema zur HD-Extraktion eines belasteten Hopfenpulvers - Verfahren zur Optimierung der Eliminierungsraten von Pflanzenschutzmitteln (PSM) bei möglichst hohen Extraktausbeuten.

### 4.3.1 HD-Extraktionen von *Capsicum frutescens* - Chili

### 4.3.2 Abhängigkeit der Extraktionsausbeute von Extraktionszeit und CO<sub>2</sub>-Durchsatz

Für diese und weitere Versuchsreihen wurde hochbelastetes Chilipulver aus Indien ausgewählt und unter Industriebedingungen extrahiert (Extraktor: 350 bar, 60 °C; Separator: 45 bar, 25 °C). Diese Parameter sind extrapolierbar und wurden für die Versuchsreihen im Verhältnis von 1 : 1 übernommen. Da Durchflussmenge und -geschwindigkeit des fluiden CO<sub>2</sub> anlagentechnisch bedingt differieren können, wurden diese Parameter besonders sorgfältig eingestellt und kontinuierlich überwacht, um die unter industriellen Bedingungen maximal erzielbaren Ausbeuten an Wirkstoffen im HD-Extrakt zu gewinnen.

50 g Chili-Rohmaterial wurde mit drei verschiedenen Durchflüssen (100, 150 und 200 l CO<sub>2</sub>/h) extrahiert. In Zeitabständen von 30 min wurde der Extrakt im Abscheider in einen Auffangbehälter abgelassen und nach 2 h gewogen. Aus der Summe der Einzelextrakte wurde die Extraktausbeute ermittelt. Die Abbildung 57 zeigt diese Totalextraktausbeute bei der Extraktion von Chilipulver in Abhängigkeit von der Extraktionszeit.

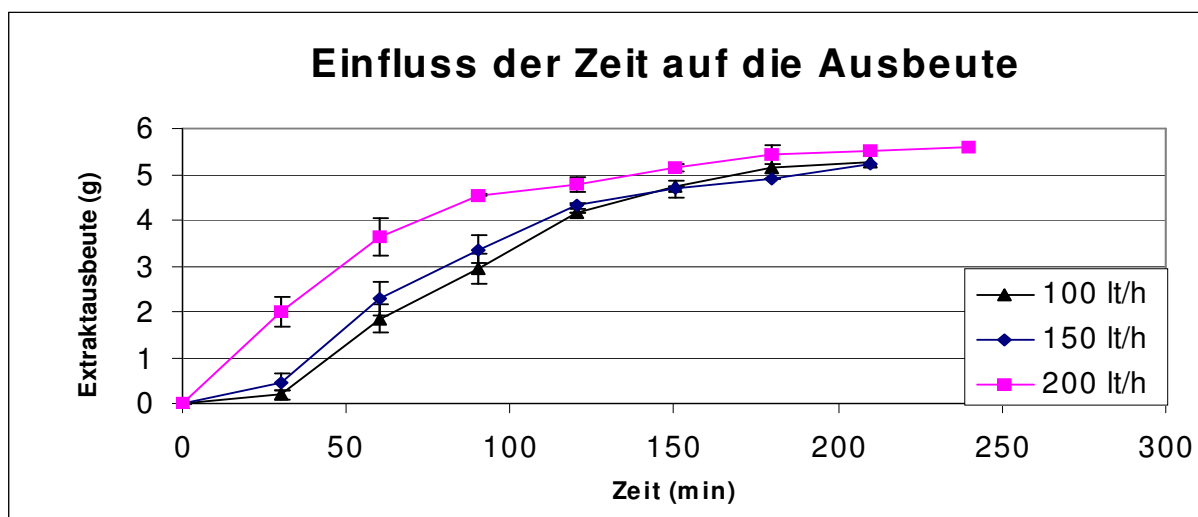
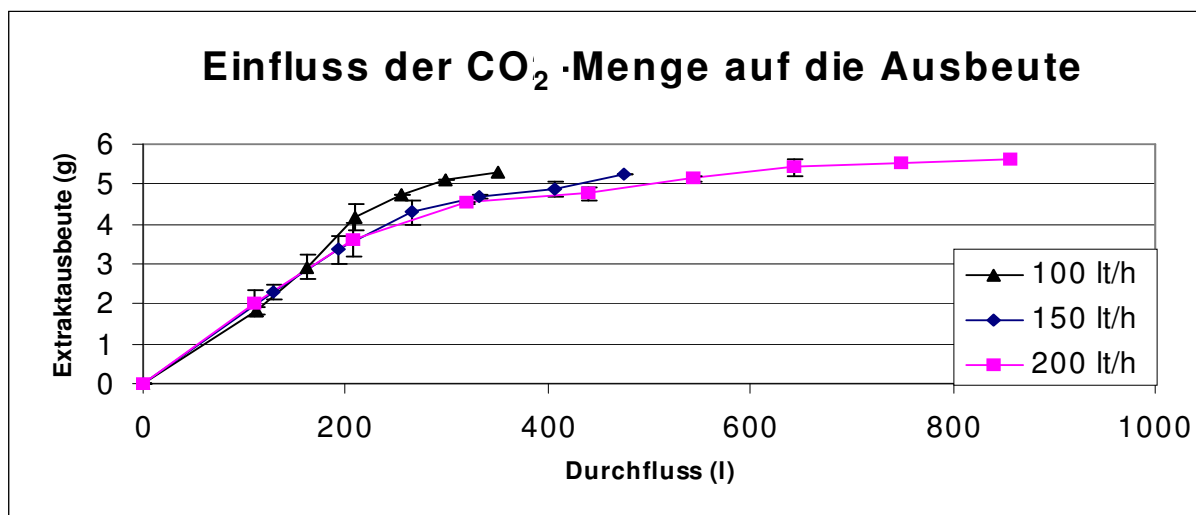


Abb. 57: Extraktausbeute bei der HD-Extraktion von Chilipulver und CO<sub>2</sub>-Durchflüssen von 100, 150, und 200 l/h (Gesamtausbeute: alle 30 min).

Je höher der Durchfluss an überkritischem CO<sub>2</sub> war, desto kürzer wurde die Extraktionszeit zur Erzielung einer maximalen Extraktausbeute. Da die für diese Versuche eingesetzte HD-Anlage im Labormaßstab trotz sorgfältiger Überwachung häufig Durchflussschwankungen zeigte, ist die Ausbeute mit der in Zeitintervallen von 30 min durchgesetzten CO<sub>2</sub>-Menge ins Verhältnis

gesetzt worden. Bei den verschiedenen Durchflussraten wurde jeweils ein ähnlicher Endwert an Extrakt ausbeute erreicht. Die Stofftransportrate änderte sich aber deutlich bei 200 l CO<sub>2</sub>/h.

In der Abbildung 58 ist der große Einfluss des CO<sub>2</sub>-Volumenstroms auf den Extraktionsverlauf, d.h. vor allem auf das Erzielen reproduzierbarer Ergebnisse, zu erkennen. Bei Durchflüssen von 150 und 200 l/h zeigt der Kurvenverlauf der Extrakt ausbeute keine starke Krümmung. Der erste Teil der Kurve ähnelt einer geraden Linie (konstante Steigerung der Extraktionsrate). Nach einem Knickpunkt nähert sich die Ausbeute einem Grenzwert, der maximalen Extraktionsausbeute. Bei niedrigem Durchfluss (100 l/h) war die Extrakt ausbeute bezogen auf die gesamte durchgesetzte CO<sub>2</sub>-Menge jedoch höher, und das Plateau der maximalen Extraktionsausbeute wurde schneller erreicht. Dieses Verhalten lässt sich vor allem durch die längere Verweil-/Kontaktzeit im Extraktor erklären: Das CO<sub>2</sub> dringt tiefer in die pflanzlichen Zellen ein und es kann deshalb mehr Extrakt gewonnen werden.



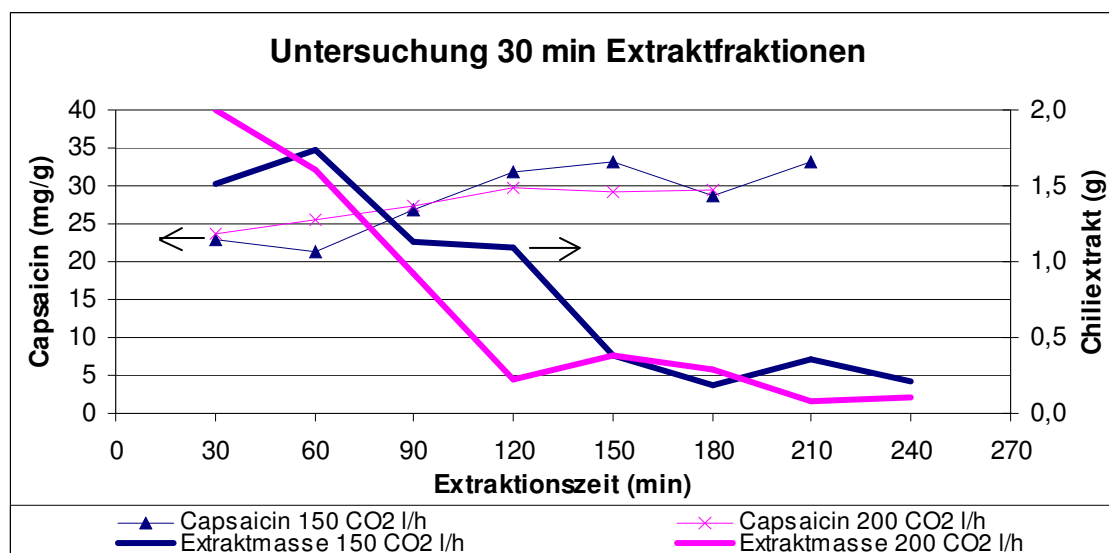
**Abb. 58:** Extrakt ausbeute bei der HD-Extraktion von Chilipulver und CO<sub>2</sub>-Durchflüssen von 100, 150 und 200 l/h (Gesamt ausbeute: alle 30 min in Abhängigkeit vom Durchfluss).

Abbildung 58 zeigt auch, dass die Extrakt ausbeute bis zu einem Gesamt-CO<sub>2</sub>-Fluss von 170 l völlig unabhängig von der Durchflussrate ist. Hatte dagegen die durchgesetzte Gesamtmenge an CO<sub>2</sub> diesen Grenzwert erreicht, erhöhte sich die Extraktmasse bei sinkender Durchflussrate. Obwohl die Ausbeuten bei 100 l/h um mehr als 10% höher lagen (Abb. 58), nahm die Extraktion bis zum Erreichen dieses Wertes sehr viel Zeit in Anspruch. Deshalb wurde mit dieser Durchflussrate nicht weiter gearbeitet.

### 4.3.3 Bestimmung der Capsaicinmengen in den Extraktfraktionen

Unter den Bedingungen der vorherigen Versuchsserie wurden nun bei 150 und 200 l/h CO<sub>2</sub> alle 30 min Chiliextraktfraktionen gezogen sowie die Extraktausbeuten und der Capsaicin-gehalt der einzelnen Fraktionen mittels HPLC-Analyse gemessen.

In der Abbildung 59 sind die Extraktausbeuten der Einzelfraktionen (breite Linien, rechte Y-Achse) und der Capsaicin-gehalt jeder einzelnen Fraktion dargestellt. In den später gewonnenen Fraktionen wurde ein höherer Capsaicin-gehalt gefunden. Andererseits wurde die absolute Extrakt- bzw. Capsaicinausbeute mit zunehmender Extraktionszeit immer geringer. Bei der Extraktion der einzelnen Fraktionen wurde auf einen jeweils konstanten CO<sub>2</sub>-Durchfluss geachtet, um verfälschende Ergebnisschwankungen auszuschließen. Die Ergebnisse sind auf die Extraktionszeit bezogen (d.h. 60 min bedeuten jeweils 150 oder 200 l CO<sub>2</sub>-Durchsatz). Der Capsaicin-gehalt im aufgefangenen Extrakt stieg bei 200 l CO<sub>2</sub>/h ständig an. Nach etwa 120 min blieb aber dieser Wert, wie die Trendlinie zeigt, etwa konstant. Bei einem CO<sub>2</sub>-Fluss von 150 l/h wurden die höchsten Capsaicin-gehalte erst nach 120 - 210 min erreicht. Dies weist eindeutig auf eine unter der Versuchsbedingungen verzögerte Extraktion des Wirkstoffes Capsaicin gegenüber anderen im Chilipulver enthaltenen Inhaltsstoffen hin.

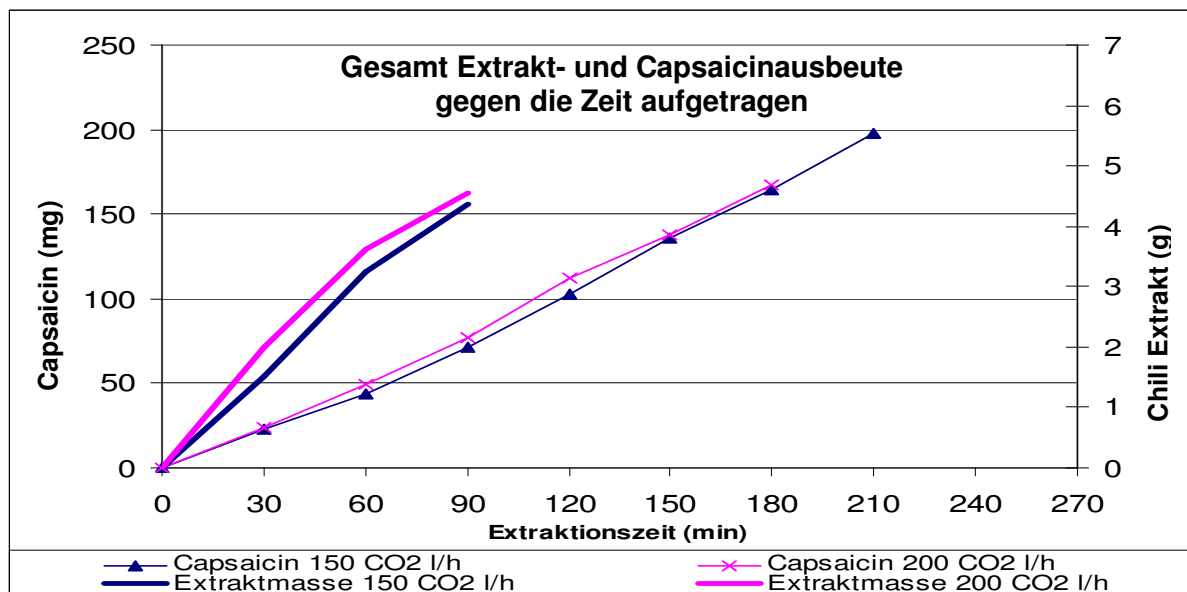


**Abb. 59:** Gefundene Mengen an HD-Extrakt und Wirkstoff (Capsaicin) in 30 min-Fraktionen.

Die Abbildung 60 veranschaulicht die Extraktausbeuten und Capsaicin-gehalte bei CO<sub>2</sub>-Flüssen von 150 und 200 l/h in aufaddierter Form und gegen die Extraktionszeit aufgetragen. Die



Kurven der Extraktausbeute und des Capsaicingehaltes verlaufen dabei parallel, wobei die bei 200 l/h, wie erwartet, über der von 150 l/h liegt.



**Abb. 60:** Kumulative Extrakt- und Capsaicinausbeuten bei CO<sub>2</sub>-Flüssen von 150 und 200 l/h in Abhängigkeit von der Extraktionszeit.

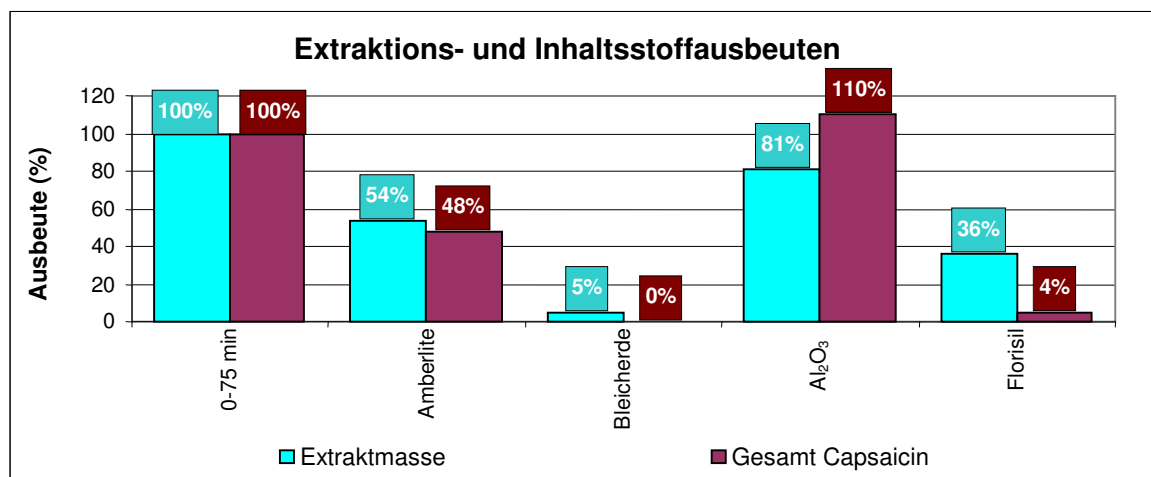
Auch hier spielten bei der Erhöhung der Inhaltsstoffausbeute längere Verweilzeit und die daraus resultierende längere Kontaktzeit der Matrix mit dem fluiden CO<sub>2</sub> eine entscheidende Rolle. Zusätzlich war aber zu beachten, dass Capsaicin- und Extraktausbeute linear mit der Zeit anstiegen. Aus diesen Ergebnissen ließ sich schließen, dass bei einem Durchfluss von 200 l/h ca. 80 % der Capsaicin- bzw. Extraktausbeute nach 75 min erreicht waren. Wegen der dafür nötigen kürzeren Extraktionszeit wurden daher diese Parameter für die kommenden Versuche ausgewählt.

#### 4.3.3.1 Zusatz der vier ausgewählten Adsorbentien – Inhaltsstoffe und Ausbeuten

Die bei Variation der physikalisch-chemischen Parameter (s. Kap. 4.2) zur Eliminierung von PSM-Rückständen geeignet befundenen Adsorptionsmittel Amberlite XAD-16, Florisil, Bleicherde und Aluminiumoxid basisch wurden in einer Menge von 40 ml zugesetzt und die dabei erzielbaren Wirkstoff(Capsaicin)ausbeuten ermittelt.

In Abb. 61 werden die Ergebnisse dieser Versuche dargestellt. Die linken Säulen (hell) zeigen die prozentual erzielbaren Extraktionsausbeuten bezogen auf den Referenzversuch

„Extraktgesamtmenge bei einer Extraktionsdauer von 75 min ohne Zusatz von Adsorbens bei 200 l/h CO<sub>2</sub>“ als Bezugsbasis (100%). Zum Vergleich sind als zweite Säule die Ausbeuten für die zwischen 75 und 180 min angefallene Extraktfraktion eingefügt. Die dunkel gefärbten Säulen (rechte Säulen) zeigen die prozentual erzielbaren Capsaicinausbeuten (Referenzversuch = 100 %). Bei Amberlite, Florisil und Bleicherde gingen 46, 64 und 95 % der Extraktmasse verloren; die gewonnenen Extrakte waren ärmer an Capsaicin als der Kontrollextrakt. Daher sind diese Adsorbentien für Chiliextraktionen unter dem Aspekt der Wirkstoffausbeute nicht geeignet. Zur Gesamtbeurteilung musste aber zusätzlich der Aspekt der Rückstandseliminierung einbezogen werden. Bei Einsatz von Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch blieb der Verlust an Extraktmenge unter 20 %. Trotz dieses Verlustes an Extraktgesamtmenge blieb die extrahierte Wirkstoff-/Capsaicinmenge unverändert.



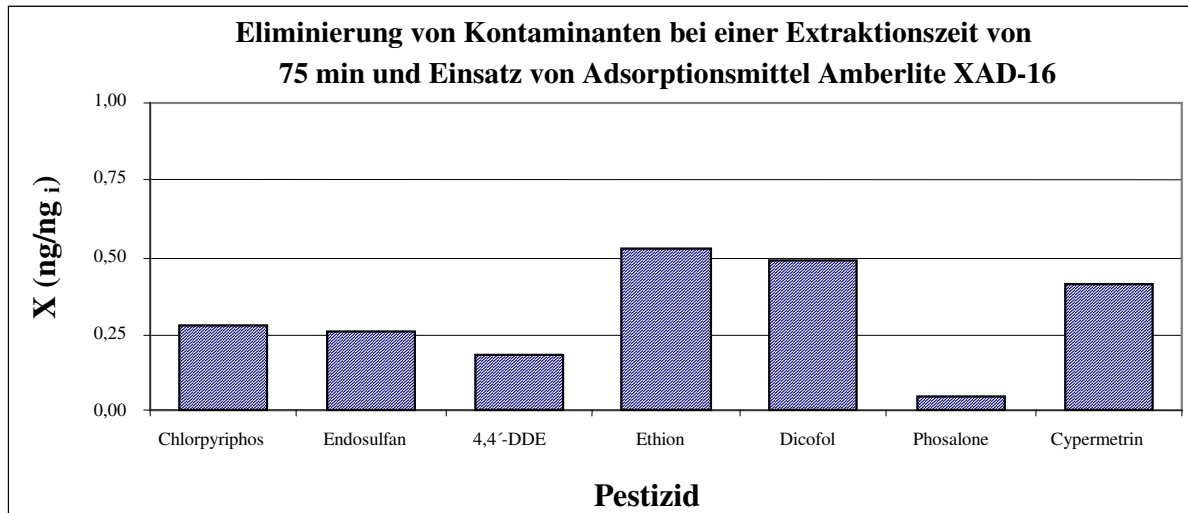
**Abb. 61:** Vergleich der Extrakt- und Capsaicinausbeute in HD-Extrakten von Chilipulver bei Zusatz verschiedener Adsorptionmittel.

Die in den vorherigen Versuchen gewonnenen Extraktfraktionen wurden auf ihren Gehalt an PSM mittels GC/ECD-Analyse untersucht. Die in der Tabelle 44 aufgeführten Ergebnisse repräsentieren die relative PSM-Ausbeute (in ng bezogen auf 50 g), geteilt durch den Referenzwert ohne Zusatz von Adsorbens (s. Gleichung 15):

$$X = \frac{\left( \frac{\text{ng Pestizid}}{50\text{g Ausgangsmaterial}} \right)}{\left( \frac{\text{ng Pestizid}}{50\text{g Ausgangsmaterial Referenzextrakt}} \right)} \left[ \frac{\text{ng}}{\text{ng}_i} \right] \quad \text{Gleichung 15}$$

Die HD-Extraktionen unter Zusatz von Amberlite XAD-16 oder Bleicherde zeigten, dass viele PSM im ersten Fall und fast alle im zweiten aus dem Extrakt eliminiert werden (Tab. 44). Ein

Vergleich dieses Ergebnisses mit dem aus Abb. 61 führt zu der Schlussfolgerung, dass die Anwendung dieses Verfahrens vor allem eine Kostenfrage ist. Der Einsatz von Amberlite XAD-16 (Abb. 62) scheint aber insgesamt wirtschaftlicher zu sein, da die Extraktausbeuten höher liegen.



**Abb. 62:** Relative Pflanzenschutzmittelkonzentrationen im HD-Extrakt von Chili nach 75 min Extraktionsdauer bei Anwendung von Amberlite XAD-16 als Adsorptionsmittel.

**Tab. 44:** Kontaminantenausbeute (%) bei Adsorbentienzusatz nach einer Extraktionszeit von 75 min (Referenz: 75 min Extraktionszeit, 200 l/h, ohne Adsorbens).

	Amberlite XAD-16 [%]	Bleicherde [%]	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> basisch [%]	Florisil [%]
<b>Malathion</b>	45 ± 13	14 ± 4	25 ± 7	37 ± 11
<b>Aldrin</b>	50 ± 7	9 ± 1	98 ± 14	61 ± 9
<b>Chlorpyrifos</b>	28 ± 3	13 ± 1	428 ± 47	173 ± 19
<b>Endosulfan</b>	26 ± 3	5 ± 0	71 ± 10	33 ± 4
<b>4,4'-DDE</b>	18 ± 1	7 ± 0	124 ± 13	67 ± 7
<b>Ethion</b>	53 ± 7	9 ± 1	94 ± 14	71 ± 10
<b>Dicofol</b>	49 ± 9	11 ± 2	89 ± 17	68 ± 13
<b>PCB-180</b>	31 ± 2	18 ± 1	82 ± 7	58 ± 5
<b>Phosalon</b>	5 ± 0	0 ± 0	3 ± 0	2 ± 0
<b>Cypermethrin</b>	41 ± 7	9 ± 1	87 ± 16	77 ± 14

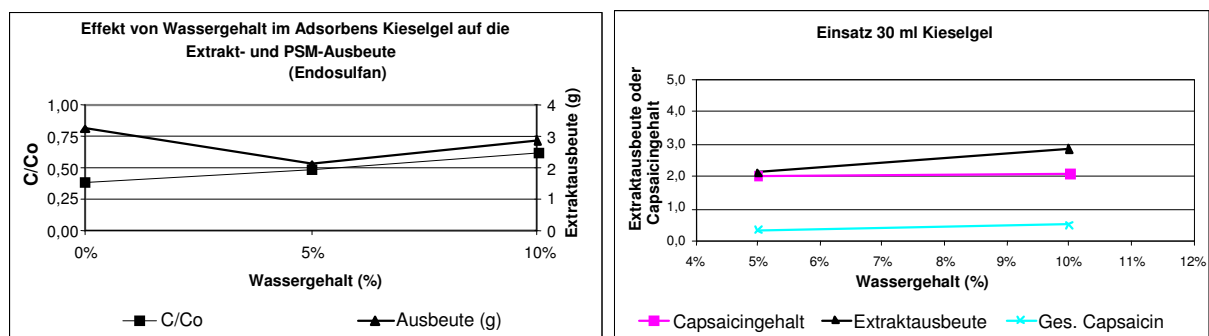
Das massgebliche Ergebnis der Versuche mit Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch als Eliminierungsmittel (Tab. 44) unter Praxisaspekten war, dass zwar die Qualität des HD-Extraktes erhalten blieb, jedoch die Eliminierungskapazität begrenzt ist. Der Einsatz von Florisil verringerte die Rückstandsmengen im HD-Extrakt um ca. 40 %, hielt aber auch 91 % der Wirkstoffe zurück, d. h. im

Extrakt war kaum Capsaicin nachzuweisen. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Bøwadt et al. (1995 [33]) und Leothay (1997 [27]). Diese Autoren fanden auch, dass die Extraktionsergebnisse bei Anwendung einer dotierten Matrix mit denen realer Proben nicht unmittelbar vergleichbar sind. In realen Proben bestehen stärkere Bindungen der Kontaminanten in den Mikroporen und Zellen des pflanzlichen Materials, wobei zusätzlich Konkurrenzeffekte mit anderen vorhandenen Inhaltsstoffen auftreten.

#### 4.3.3.2 Einfluss des Wassergehaltes bei Zusatz von Kieselgel und Florisil

Kieselgel und Florisil wurden nach der Vorbehandlung zusätzlich mit 5 und 10 % Wasser befeuchtet, um zu testen, ob sich die Belegung von Mikro- oder Makroporen mit Wasser auf die PSM-Eliminierung sowie die Totalextrakt- und Capsaicinausbeute auswirkt. Die Belegung aktiver Zentren erhöht natürlich auch die Polarität dieses Adsorptionsmittels.

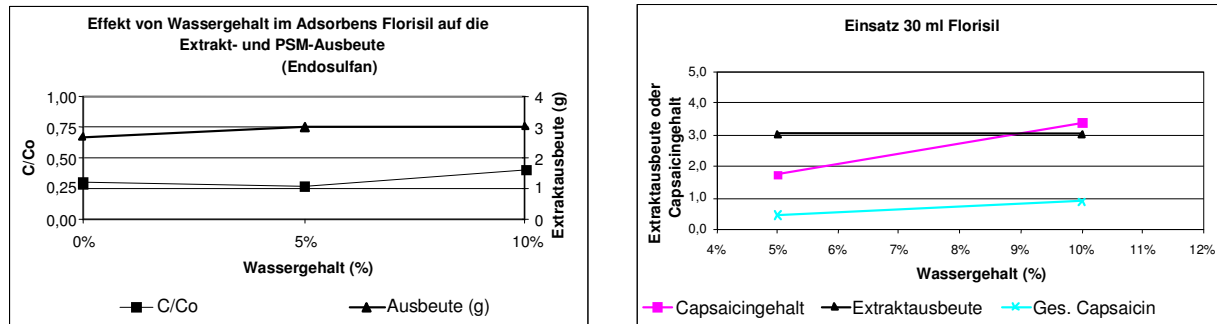
In der Abb. 63 sind die Ergebnisse bei Verwendung von Kieselgel und in der Abb. 64 von Florisil für Endosulfan (als repräsentatives Beispiel für alle Kontaminanten) dargestellt. In beiden Fällen wurde bei Erhöhung des Wassergehaltes mehr Endosulfan im HD-Extrakt gefunden, aber auch mehr von dem unpolaren Wirkstoff Capsaicin ( $\text{Log } K_{o/w} = 4$ ).



**Abb. 63:** Effekt des Wassergehaltes von Kieselgel auf Extraktausbeute und die Eliminierungsrate von Pflanzenschutzmitteln am Beispiel von Endosulfan (links) sowie auf Capsaicingehalt, Extraktausbeute und Gesamtcapsaicin (rechts).

Die Polarität von Endosulfan ist mit  $\text{Log } K_{o/w} = 3.83$  charakterisiert und das fluide  $\text{CO}_2$  verhält sich ähnlich wie Hexan ( $\text{Log } K_{o/w} = 3.9$ ). Das Adsorbens sollte zwar bei Wasserzugabe polarer werden, doch wird offenbar infolge der Belegung aktiver Zentren durch das Wasser die spezifische Oberfläche des Adsorbens und somit dessen Adsorptionskapazität für die PSM

verringert. Ferner ist bei dem Extraktionsverfahren mit *online*-Adsorption zu bedenken, dass die Belegung durch Wasser auch in Form eines Wasserfilms vorhandene Makroporen besetzen könnte, zumal grössere im Extrakt vorliegende Moleküle nach Art eines Molekülauschlussverfahrens stärker an den Oberflächen adsorbiert werden.



**Abb. 64:** Effekt des Wassergehaltes von Florisil auf die Extraktausbeute und Eliminierungsrate von Pflanzenschutzmitteln am Beispiel von Endosulfan (links) sowie auf Capsaicingehalt, Extraktausbeute und Gesamtcapsaicin (rechts).

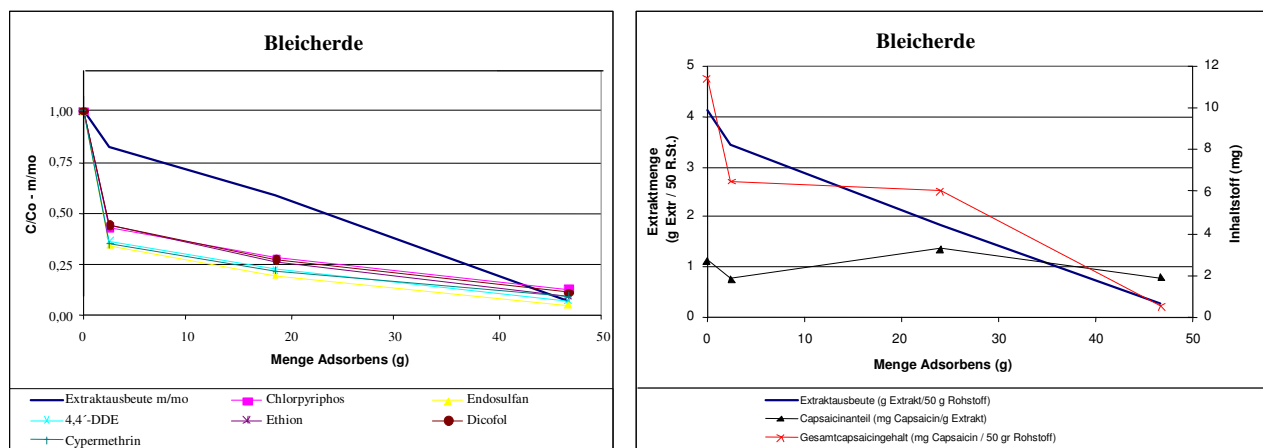
#### 4.3.3.3 Adsorptionsraten von Pflanzenschutzmitteln an den 14 bei der HD-Extraktion von belastetem Chilipulver eingesetzten Adsorptionsmitteln

Wie schon bei den Versuchen mit einer Modellmatrix gezeigt (s. Kap. 4.2), wurden hier HD-Extraktionen mit *online*-Eliminierung der in dem Chili-Extrakt enthaltenen Rückstände unter Anwendung einer Reihe von Adsorptionsmitteln durchgeführt. Eingesetzt wurden dabei Bleicherde, Celite, Florisil, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> neutral, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sauer, Amberlite, Kieselgur, Kieselgel mit 0 % Wasser, Mullite M72, Aktivkohle, Aerosil R972, Aerosil 380 und Aerosil 130.

Die Menge an Adsorbens wurde variiert und sowohl Totalextrakt- und Capsaicinausbeute als auch PSM-Eliminierung wurden im HD-Extrakt gemessen. In den Abb. 65 – 67 sind die Ergebnisse einiger ausgewählter Adsorbentien veranschaulicht. Die Abszisse in diesen Abbildungen zeigt jeweils die eingesetzte Menge im Adsorbensbett. Die Ordinate in den linken Diagrammen gibt die relative Minderung der Extraktausbeute [ $m/m_0$ ] bzw. des PSM-gehaltes [ $C/C_0$ ] an. In den rechten Diagrammen sind zwei Ordinaten dargestellt. Die linke Y-Achse zeigt die absolute Extraktmenge bezogen auf 50 g pflanzlichen Rohstoff und die rechte Y-Achse die gefundene Menge an Wirkstoff Capsaicin. Hier werden zwei Kenngrößen

dargestellt: der Capsaicinanteil ist die nachgewiesene Menge in mg von Nordihydrocapsaicin, Capsaicin und Dihydrocapsaicin und der Capsaicingehalt die Summe aller drei Wirkstoffe, jeweils pro g HD-Extrakt. Als Gesamtcapsaicin wird der Quotient des Gehaltes und der Extraktausbeute bezeichnet, also die gesamte nachgewiesene Menge an Capsaicin, die aus 50 g Rohstoff gewonnen wurde.

Ein gutes Beispiel für ein in der Praxis wirtschaftlich nicht vertretbares Verfahren stellt der HD-Extraktionsversuch mit Bleicherde dar (Abb. 65): Etwa 90 % aller PSM wurden zwar eliminiert, jedoch war der Verlust an Totalextrakt viel zu hoch. Bei geringem Zusatz an Adsorbens (2,5 g) war die Eliminierung der PSM deutlich höher als der Extraktverlust. Dieses Phänomen könnte durch kompetitive Kräfte zwischen Extrakt und PSM erklärt werden, also mit dem zusätzlichen Einfluss der mechanischen Blockierung des Extrakt Durchganges durch unterschiedliche Schichthöhen des zugesetzten Adsorptionsmaterials. Wie in der Abb. 47 auf S. 104 gezeigt wird, wurde die PSM-Menge durch Einsatz von Bleicherde stark reduziert.



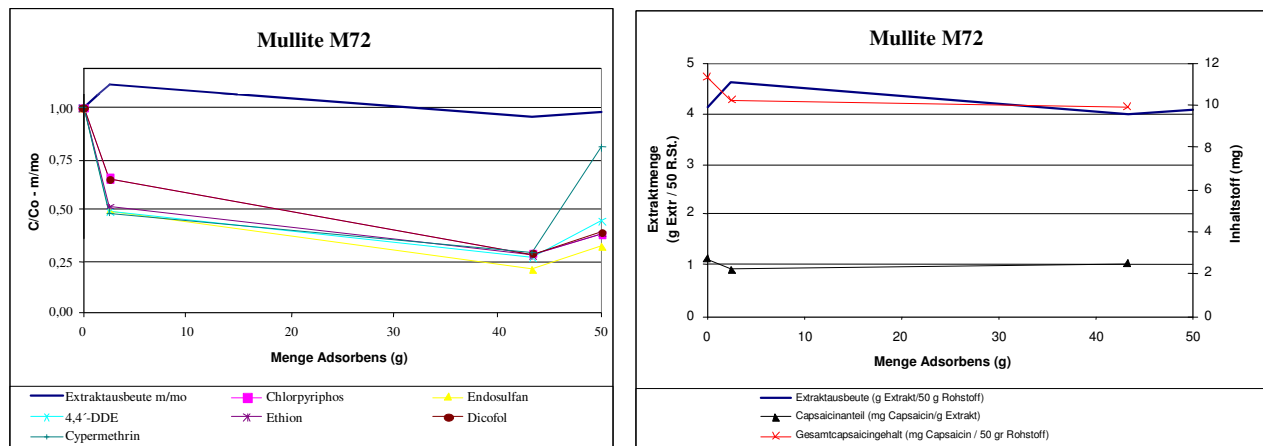
**Abb. 65: Kombinierte Anwendung von Chromatographie und HD-Extraktion bei Chilipulver mit dem Adsorbens Bleicherde unter Variation der Zusatzmenge bzw. Betthöhe.**

Hieraus ist zu schließen, dass eine selektive Adsorption möglich und auf Chili übertragbar ist, ohne die Extrakteigenschaften negativ zu beeinflussen. Die Ergebnisse in der Abb. 65 zeigen dagegen, dass sowohl PSM als auch HD-Extraktmasse an Bleicherde adsorbiert wurden.

Ein ähnliches Verhalten ließen  $\text{Al}_2\text{O}_3$  neutral, Kieselgel, Aktivkohle und Amberlite XAD-16 erkennen (s. Anhang). Im Fall von Amberlite XAD-16 war bereits bei einer geringen Zusatzmenge tendenziell zu erkennen, dass sowohl die Totalextraktausbeute als auch die Eliminierungsraten der PSM im HD-Extrakt zu niedrig waren. Eine höhere Zusatzmenge an

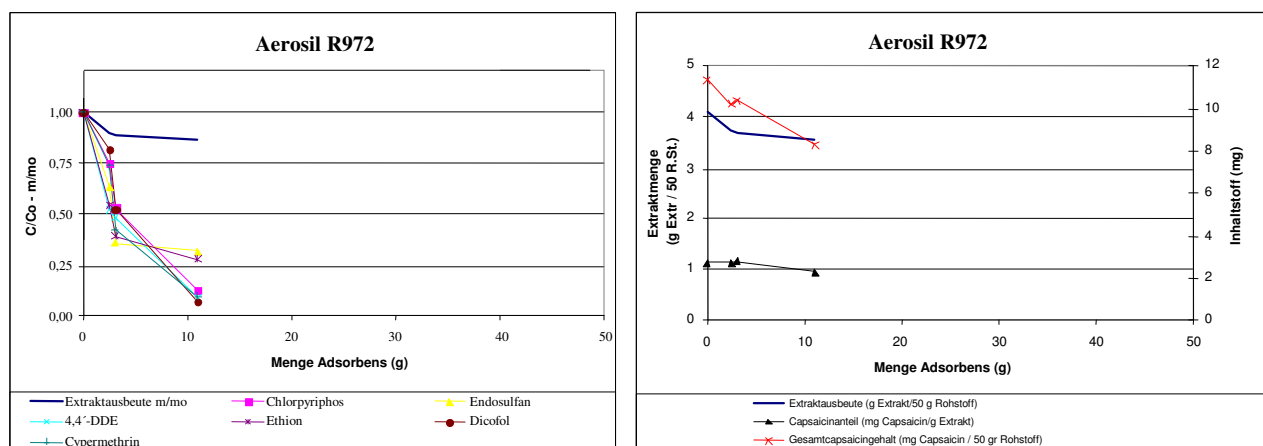
Amberlite war aber anlagentechnisch nicht mehr möglich. Aus den vorgenannten Gründen erfüllte dieses Adsorbens die Anforderungen der vorliegenden Arbeit nicht.

Ausgezeichnete Ergebnisse konnten mit Kieselgur, Mullite M72 und allen Aerosilen (Nr. 130, Nr. 380 und Nr. R972) erzielt werden. Diese Adsorbentien eliminierten hohe Anteile an PSM aus dem Extrakt bei nahezu unveränderter Extraktmenge. In Abb. 66 lässt sich am Beispiel von Mullite M72 erkennen, dass die Extraktausbeute konstant blieb, bis zu 60 % PSM eliminiert wurden und ca. 90 % des Ausgangscapsaicins im HD-Extrakt zu finden waren.



**Abb. 66:** Kombinierte Anwendung von Chromatographie und HD-Extraktion bei Chilipulver mit dem Adsorbens Mullite M72 unter Variation von Zusatzmenge bzw. Betthöhe.

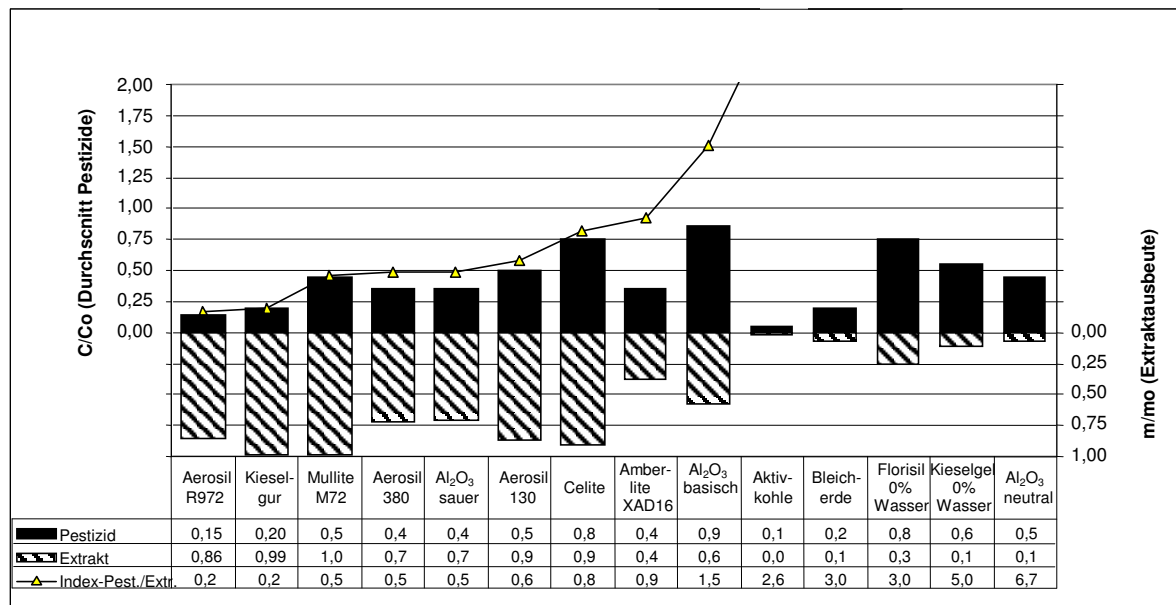
Mit 86 % Extrakt- und 85 % Capsaicinausbeute sowie 95 % PSM-Eliminierung wurde das beste Ergebnis mit Aerosil R972 (Abb. 67), gefolgt von Kieselgur und Mullite M72, erreicht.



**Abb. 67:** Kombinierte Anwendung von Chromatographie und HD-Extraktion bei Chilipulver mit dem Adsorbens Aerosil R 972 unter Variation von Zusatzmenge bzw. Betthöhe.

Der Einsatz von Florisil, Celite,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch und  $\text{Al}_2\text{O}_3$  sauer erbrachte keine verwertbaren und befriedigenden Ergebnisse (z. B.  $\text{Al}_2\text{O}_3$  sauer: 30 % Extraktverlust, durchschnittlich 40 % der PSM als Rückstand im Extrakt).

Als Entscheidungskriterium für ein zufriedenstellendes Ergebnis unter beiden Aspekten, Extraktausbeute und Eliminierung von PSM-Rückständen, wurde der Quotient aus PSM-Wiederfindungsrate und prozentualer Extraktausbeute ( $C/\text{Co}$ ) gewählt. Ein hoher Wert bedeutet, dass entweder die Extraktausbeute sehr gering oder die nachgewiesene PSM-Menge zu hoch war (Abb. 68; linke Y-Achse = Mittelwert aller PSM-Wiederfindungswerte, rechte Y-Achse = relative Extraktausbeute).



**Abb. 68:** Vergleich der Pflanzenschutzmittelwiederfindungsraten mit den Extraktausbeuten bei Chili anhand des Quotienten  $C/\text{Co}$ , angeordnet nach steigendem Indexwert.

PSM-Wiederfindungsraten: schwarz, linke Y-Achse;  
Extraktausbeute: schraffiert, rechte Y-Achse.

Die Linie in Abb. 68 stellt den Indexverlauf dar, der nach aufsteigenden Werten geordnet ist. Die besten Ergebnisse wurden mit einem Indexwert von 0,2 erzielt. Von Aerosil R 972 bis Amberlite XAD 16 wurden Index-Werte unter „1“ festgestellt, es wurden also mehr PSM als Extrakt eliminiert. Von  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch bis  $\text{Al}_2\text{O}_3$  neutral wurde mehr Extrakt als PSM eliminiert. Extremwerte erreichten Bleicherde, Florisil, Kieselgel und  $\text{Al}_2\text{O}_3$  neutral mit Index-Werten von 3,0, 5,0 und 6,7.



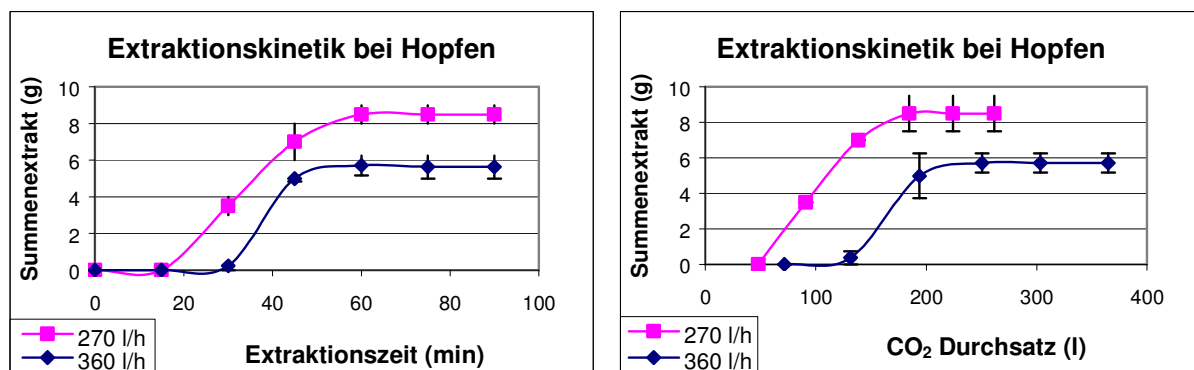
### 4.3.4 HD-Extraktionen von *Humulus lupulus* L. – Hopfen

#### 4.3.4.1 Abhängigkeit der Extraktionsausbeute von Extraktionszeit und CO<sub>2</sub>-Durchsatz

Zur Bestimmung der Extraktoraufnahmekapazität für das in dieser Arbeit verwendete Hopfenpulver wurde beim Einfüllen auf eine ähnliche Dichte wie bei der Hopfenpelletierung (0,5) verdichtet. Mit der Forderung, dass 80 % des Kolbens gefüllt sein sollen, ergab sich somit eine Füllmenge von 100 g Hopfenpulver.

Zur Bestimmung der optimalen Extraktionsdauer wurden dann 100 g Hopfenpulver extrahiert, wobei der Kolben alle 15 min gewogen wurde. Der Versuch wurde solange durchgeführt, bis es zu keiner Gewichtsänderung mehr kam (Doppelbestimmung). Zwei CO<sub>2</sub>-Durchflussraten wurden dabei untersucht: 270 l/h und 360 l/h.

Nach ca. 200 l CO<sub>2</sub>-Gesamtdurchsatz näherte sich in beiden Fällen die Extraktionsausbeute asymptotisch einem Maximum (Abb. 69), wobei das Plateau von der Flussrate abhing. Je höher die Flussrate war, desto schneller wurde das Maximum erreicht, z. B. bei einer Flussrate von ca. 360 l/h nach 45 min. Gleichzeitig sank jedoch die Ausbeute, was möglicherweise auf die geringere Verweilzeit des CO<sub>2</sub> im Kolben zurückzuführen ist. Deshalb wurde der Durchfluss auf einen mittleren Wert (310 l/h) mit einer Extraktionszeit von 45 min festgelegt.



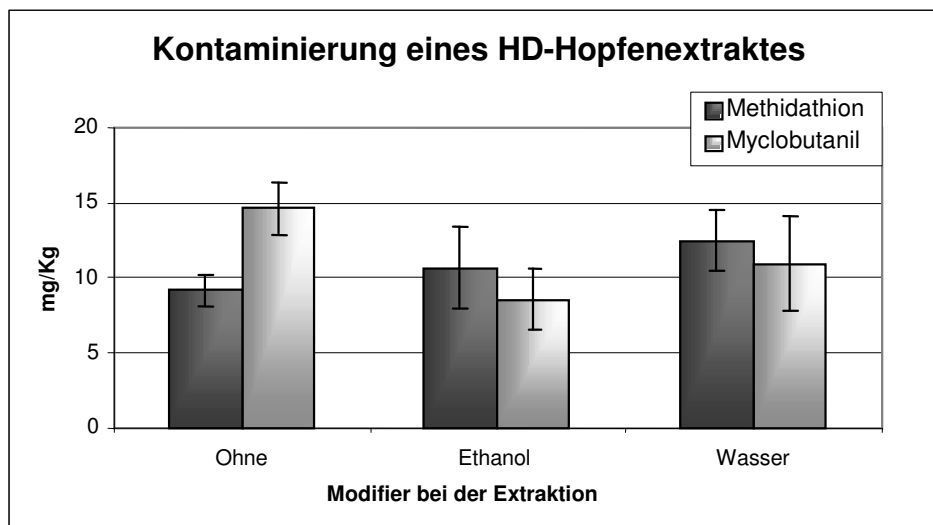
**Abb. 69:** Extraktionsverlauf bei der HD-Extraktion von Hopfenpulver .  
links: abhängig von der Extraktionszeit; rechts: abhängig vom CO<sub>2</sub>-Durchsatz.

#### 4.3.4.2 Bestimmung der Pflanzenschutzmittelmengen im HD-Extrakt von Hopfen bei Modifierzusatz

Bei der HD-Extraktion von belastetem Hopfen wurden zwei Lösungsvermittler (Ethanol und Wasser) eingesetzt, um dadurch die CO<sub>2</sub>-Polarität zu verändern (bzw. das verdichtete Gas

polarer zu machen). Diese Ergebnisse wurden mit einem Extrakt ohne Modifizierung verglichen. In der Abbildung 66 wird der absolute Gehalt an Methidathion und Myclobutanil im Extrakt gezeigt. Bei den Versuchen mit Ethanol als Modifier war die Konsistenz des HD-Extraktes „flüssiger“ als im Fall „Wasser als Modifier“, und Ethanol konnte nicht vollständig aus dem Extrakt entfernt werden, wie sich am Geruch erkennen ließ. Um den beabsichtigten Vergleich zu ermöglichen, wurden die Extrakte unter schonenden Bedingungen (30 °C, Vakuum) von den Ethanol- bzw. Wasserrestmengen befreit. Im Diagramm sind auch die Konfidenzintervalle für eine Konfidenzzahl von  $\gamma = 90\%$  dargestellt.

Im Fall von Methidathion ( $\text{Log } K_{o/w} = 2,2$ ) war eine zunehmende Kontaminierungstendenz im HD-Extrakt zu beobachten (Abb. 70). Die Versuche mit Ethanol zeigten das größte Konfidenzintervall, was auf den Ethanolgehalt im Extrakt zurückzuführen war. Myclobutanil ( $\text{Log } K_{o/w} = 2,94$ ) ist unpolarer als Methidathion und löst sich deswegen besser im überkritischen  $\text{CO}_2$ . Die Zugabe eines Modifiers verminderte die Anreicherung dieses Stoffes im Extrakt.



**Abb. 70:** Vergleich der Eliminierungsraten von Myclobutanil und Methidathion bei Anwendung von Ethanol und Wasser als Modifier während der HD-Extraktion von Hopfen.

#### 4.3.4.3 Adsorptionsraten von Pflanzenschutzmitteln an den 12 bei der HD-Extraktion von belastetem Hopfenpulver eingesetzten Adsorptionsmitteln

Beim Vergleich dieser zwölf Adsorptionsmittel wurden für die im Hopfen enthaltenen PSM im HD-Extrakt Wiederfindungsraten ( $C/C_0$ ) unter 50 % gemessen, was für ein relativ gutes

Rückhaltevermögen aller Adsorbentien spricht. Die einzelnen Ergebnisse für die eingesetzten Adsorptionsmittel sind in Tab. 45 aufgelistet.

Im Fall von Cyhalothrin (Tab. 45) lagen die Eliminierungsraten im Bereich 15-49 %. Zwei Ausnahmen bildeten Aktivkohle und Bleicherde, die 95 und 58 % der PSM zurückhielten. Die Untersuchungen auf den Rückstandsgehalt an Methidathion ergaben bei sieben Anwendungsfällen (Aktivkohle, Bleicherde, Florisil, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch, Kieselgel mit 0 % Wassergehalt und Kieselgel mit 10 % Wassergehalt) Werte unter 50 % im HD-Extrakt. Celite, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> neutral und Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sauer sowie Amberlite XAD-16 eliminierten etwa 40 % Cyhalothrin. Beim Vergleich der Wiederfindungsraten von Myclobutanil (Tab. 45) konnte bei Anwendung aller getesteten Adsorbentien eine starke Abnahme der im Extrakt nachgewiesenen Menge festgestellt werden und bei Florisil und Kieselgel sogar eine vollständige Eliminierung. Nur Amberlite zeigte fast keine Wechselwirkungen mit diesem PSM, so dass nur 12 % zurückgehalten wurden.

Adsorptionsmittel und Molekularsieb A3 mit Wiederfindungsraten von PSM > 50 % im HD-Extrakt wurden als ungeeignet verworfen. Die übrigen fünf Adsorptionsmittel mit den niedrigsten Wiederfindungsraten (Aktivkohle, Bleicherde, Kieselgur, wasserfreies Kieselgel, Florisil) wurden in der nächsten Versuchsreihe in unterschiedlichen Mengen zugesetzt. Modellmatrix und Adsorptionsmittel wurden vorbehandelt (vgl. Chili, Kap. 4.3.1). Zu Beginn jeder Versuchsreihe wurde eine Nullextraktion ohne Adsorptionsmittel durchgeführt. Danach konnten die Extraktionen mit steigender Menge an Adsorptionsmittel durchgeführt werden, wie in Tabelle 22 (s. S. 69, Teil d, ab Versuch Nr. 34) im Detail dargestellt wird. Nach jeder Versuchsreihe wurde die Anlage speziell und gründlich gereinigt, um Memory-Effekte zu vermeiden.

**Tab. 45: Wiederfindungsraten von drei Pflanzenschutzmitteln bei der Extraktion von Hopfenpulver unter Zusatz verschiedener Adsorptionsmittel.**

Adsorptionsmittel	Cyhalothrin [%]	Methidathion [%]	Myclobutanil [%]I	Mittelwert [%]	K.I. ( $\gamma = 95$ ) [%]	Auswertung (*)
Amberlite XAD-16	63	77	81	74	±14	N.G.
Kieselgur	68	51	34	51	±25	G. My
Florisil	68	29	0	32	±50	G.
Kieselgel 0% H <sub>2</sub> O	52	11	0	21	±40	G.
Kieselgel 10% H <sub>2</sub> O	63	23	66	51	±35	G. Mth
Bleicherde	42	14	34	30	±21	G.

Fortsetzung Tab. 45

Celite 545	85	75	45	68	±30	N.G.
Aluminiumoxid basisch	58	33	51	47	±19	G. Mth
Aluminiumoxid sauer	61	58	55	58	±4	N.G.
Aluminiumoxid neutral	79	70	42	64	±28	N.G.
Molekularsieb 3A	51	34	0	28	±38	G.
Aktivkohle	8	9	20	12	±10	G.
Mullite M72	68	60	38	55	±23	N.G.

(\*) N.G. = nicht geeignet; G. = geeignet; G. My = geeignet nur für Myclobutanil; G. Mth = geeignet nur für Methidathion; K. I. = Konfidenzintervall.

#### 4.3.4.4 Variierung der Parameter Adsorbensbetthöhe und Modifier - Einfluss auf Ausbeute, Inhaltsstoffmenge und Pflanzenschutzmittelgehalt im HD-Extrakt

Die Extraktionsausbeuten in Abhängigkeit von der zugesetzten Adsorptionsmittelmenge, jeweils mit Wasser bzw. Ethanol als Modifier, sind in der Tab. 46 dargestellt. Die Extraktmenge nahm mit steigender Adsorptionsmittelmenge ab (z. T. durch Adsorbens gebunden, Gewichtszunahme ca. 75 %). Bei 20–40 g Adsorptionsmittelzusatz waren die Extraktverluste noch relativ gering. Die Berechnung mit Hilfe des Prinzips der geringsten Quadrate ergab keinen deutlichen Trend. Auch war kein deutlicher Trend bei Zugabe von Modifiern zu erkennen. Trotzdem ergaben sich in der Regel höhere Wiederfindungsraten, wenn die Extraktion ohne Modifier durchgeführt wurde.

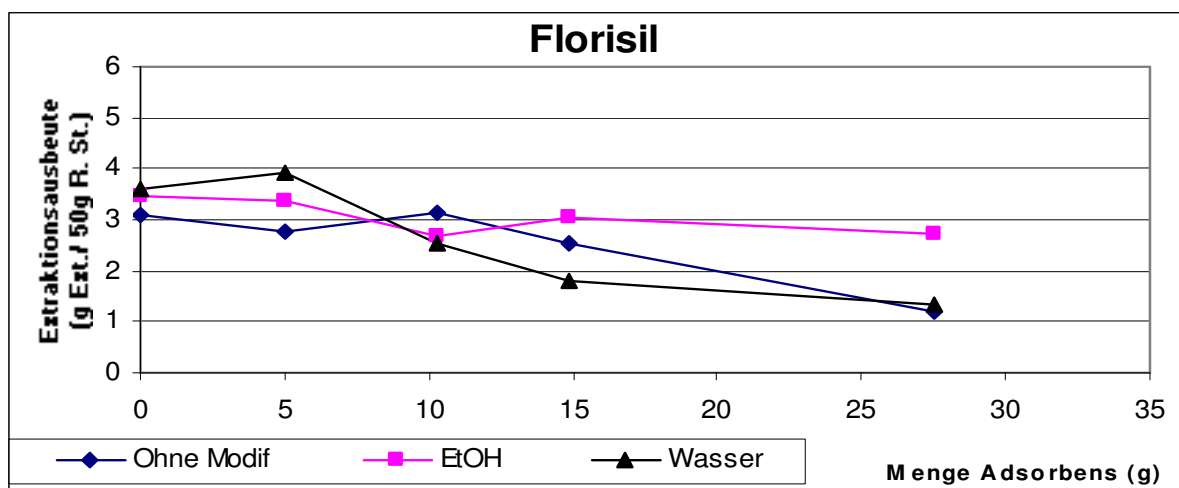
**Tab. 46:** Extraktionsausbeuten (g) und Gehalt an  $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren (mg) im HD-Extrakt bei unterschiedlichen Adsorbensbetthöhen (Aktivkohle, Bleicherde, Kieselgur, Kieselgel, Florisil). Die Ergebnisse sind auf 50 g Hopfenrohstoff bezogen.

	Extraktausbeute (g Extrakt / 50 g Rohstoff)					Inhaltsstoff = <u>mg <math>\alpha</math>- und <math>\beta</math>-Säuren</u> 50 g Rohstoff				
	0,0 g	3,1 g	8,2 g	13,7 g	27,2 g	0,0 g	3,1 g	8,2 g	13,7 g	27,2 g
<b>Aktivkohle</b>										
Ohne Modifier	3,61	1,97	2,57	2,16	0,79	228,8	126,8	166,6	128,1	49,0
Ethanol	2,54	2,71	2,46	2,47	1,25	86,5	84,5	69,2	67,3	31,7
Wasser	3,20	3,16	2,05	1,59	1,13	189,0	189,6	117,8	92,2	67,0

Fortsetzung Tab. 46

<b>Bleicherde</b>	<b>0,0 g</b>	<b>4,8 g</b>	<b>11,5 g</b>	<b>16,6 g</b>	<b>32,4 g</b>	<b>0,0 g</b>	<b>4,8 g</b>	<b>11,5 g</b>	<b>16,6 g</b>	<b>32,4 g</b>
Ohne Modifier	4,02	2,99	1,90	2,35	2,30	253,7	194,1	123,4	137,0	135,0
Ethanol	3,45	2,83	2,54	2,53	2,58	117,1	87,1	73,7	83,7	77,1
Wasser	4,07	2,55	3,29	2,07	1,14	230,7	148,7	123,6	127,4	68,7
<b>Kieselgur</b>	<b>0,0 g</b>	<b>1,0 g</b>	<b>2,4 g</b>	<b>5,0 g</b>	<b>9,3 g</b>	<b>0,0 g</b>	<b>1,0 g</b>	<b>2,4 g</b>	<b>5,0 g</b>	<b>9,3 g</b>
Ohne Modifier	4,31	2,83	3,70	3,51	2,82	271,0	225,0	224,6	219,1	170,5
Ethanol	2,58	2,86	2,78	2,63	2,29	71,6	67,3	71,8	62,2	59,8
Wasser	2,83	3,04	3,17	2,90	3,65	158,8	168,2	190,7	157,7	192,4
<b>Kieselgel</b>	<b>0,0 g</b>	<b>4,4 g</b>	<b>9,1 g</b>	<b>12,6 g</b>	<b>24,0 g</b>	<b>0,0 g</b>	<b>4,4 g</b>	<b>9,1 g</b>	<b>12,6 g</b>	<b>24,0 g</b>
Ohne Modifier	4,15	3,09	3,70	3,43	1,12	217,0	172,1	194,7	198,6	70,9
Ethanol	3,07	2,87	3,26	2,69	1,19	80,3	72,5	93,1	72,4	37,1
Wasser	2,85	2,98	1,84	1,60	1,29	175,3	196,7	121,3	89,2	84,0
<b>Florisil</b>	<b>0,0 g</b>	<b>5,0 g</b>	<b>10,3 g</b>	<b>14,9 g</b>	<b>27,5 g</b>	<b>0,0 g</b>	<b>5,0 g</b>	<b>10,3 g</b>	<b>14,9 g</b>	<b>27,5 g</b>
Ohne Modifier	3,08	2,78	3,14	2,53	1,20	187,9	134,4	177,6	119,7	67,0
Ethanol	3,45	3,36	2,69	3,07	2,71	85,1	72,8	62,2	82,5	38,6
Wasser	3,61	3,94	2,54	1,82	1,36	197,5	210,6	144,4	129,7	116,5

Die höchsten Ausbeuten wurden beim Einsatz von Wasser als Modifier und die geringsten bei Anwendung von Ethanol erzielt. Die entsprechenden Kurven zeigten einen flachen Verlauf, so dass bei hohen Mengen an Adsorbens ähnliche und manchmal sogar höhere Ausbeuten als ohne Modifierzusatz erreicht wurden (z .B. Florisil, Abb. 71).

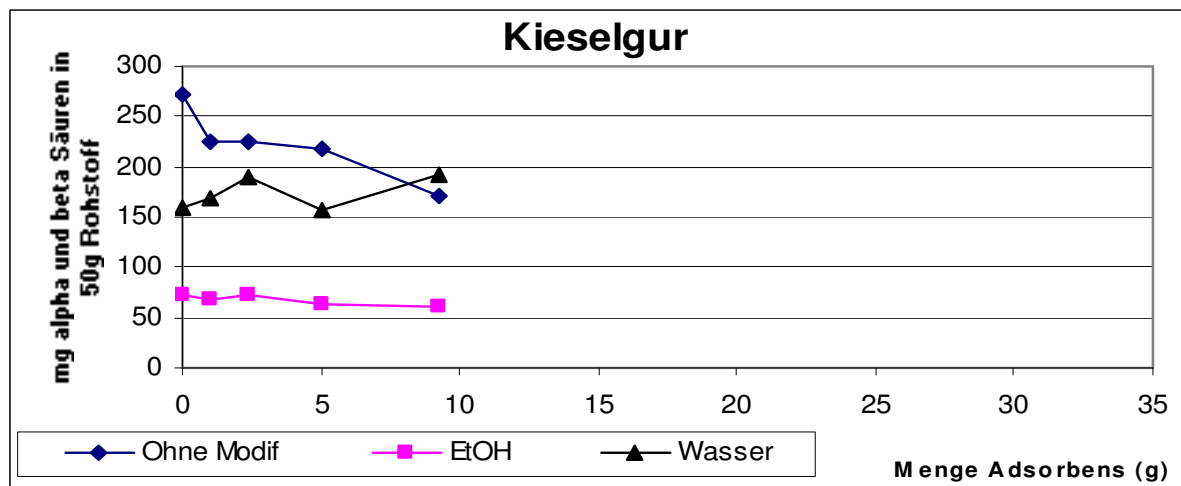


**Abb. 71:** Extraktionsausbeuten bei Hopfen mit Florisil in Abhängigkeit von der Menge an zugesetztem Adsorbens.

Die Qualität des Extraktes ist als g Hopfenbitterstoffe/g Extrakt definiert. Dieser Quotient war in allen Fällen relativ konstant. In der Tab. 46 sind die Inhaltsstoffausbeuten (d. h. Bitterstoffgehalt bezogen auf 50 g Rohstoff) bei Einsatz unterschiedlicher Mengen an Adsorbens mit

bzw. ohne Zugabe eines Modifiers zusammengefasst. Bei Anwendung von Ethanol als Modifier war die extrahierte Bitterstoffausbeute stets am geringsten. Tendenziell waren die Inhaltsstoffausbeuten aber höher als ohne Modifierzusatz (z. B. Kieselgur, Abb. 72).

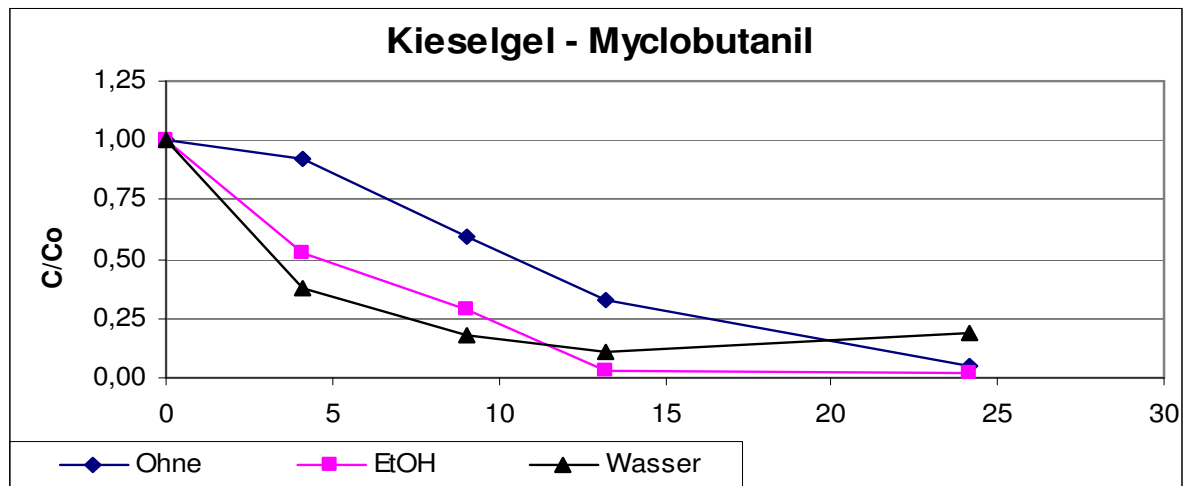
Bei Verwendung von Ethanol als Modifier lagen demnach die Ausbeuten (ca. 100 mg an  $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren) generell niedrig, und die Abnahme mit steigender Menge an zugesetztem Adsorptionsmittel war eher gering. Da der Hopfenextrakt normalerweise auch mit Ethanol gewonnen wird, ist nicht anzunehmen, dass sich die Bitterstoffe in Anwesenheit von Ethanol weniger gut in  $\text{CO}_2$  lösen. Diese Ergebnisse lassen sich schlecht erklären. Ohne Modifier bzw. mit Wasser als Modifier fallen die Gehalte an  $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren bei allen eingesetzten Adsorptionsmitteln generell, jedoch nicht linear, ab.



**Abb. 72:** Gehalt an  $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren im HD-Extrakt (mg/50 g Rohhopfen) in Abhängigkeit von der Menge an zugesetztem Adsorptionsmittel (Kieselgur).

Die Abnahme von Myclobutanil im HD-Extrakt von Hopfen mit zunehmender Menge an Adsorptionsmitteln lässt sich aus der Tabelle 47 entnehmen. Mit Ethanol als Modifier ergaben sich die geringsten Restmengen ( $\leq 25\%$ , bei Kieselgel und Florisil). Bereits bei geringer Erhöhung der Adsorbensmenge war eine signifikante Abnahme zu verzeichnen (z. B. bei Bleicherde und Kieselgel). Höhere Zusatzmengen wirkten sich nicht mehr stark aus und die Rückstandsmenge im Extrakt erhöhte sich teilweise sogar leicht. Mit Wasser nahm die Rückstandsmenge erst bei höheren Mengen an Adsorbens stärker ab, und bei geringen Mengen an Adsorbens war sogar in einigen Fällen eine Erhöhung zu beobachten. Mit Wasser als Modifier lag die Streuung der Einzelergebnisse am höchsten.

Eine eindeutige Tendenz ist bei allen Versuchsreihen nicht zu erkennen. Sie ähnelt aber gleichwohl am ehesten der Art „ $1/(X+1)$ “. Wenn eine Entscheidung nur anhand der PSM-Gehalte im Extrakt getroffen werden sollte, wären die Adsorptionsmittel Bleicherde und Kieselgel (Abb. 73) am effektivsten. Aber letztendlich sind Extrakt- bzw. Bitterstoffgehalt für den erfolgreichen Einsatz eines handelsorientierten Verfahrens ausschlaggebend.



**Abb. 73:** Änderung der Myclobutanilwerte in Abhängigkeit von der Menge an zugesetztem Kieselgel (Angabe in % des Mittelwertes ohne Adsorptionsmittel – Blindversuch).

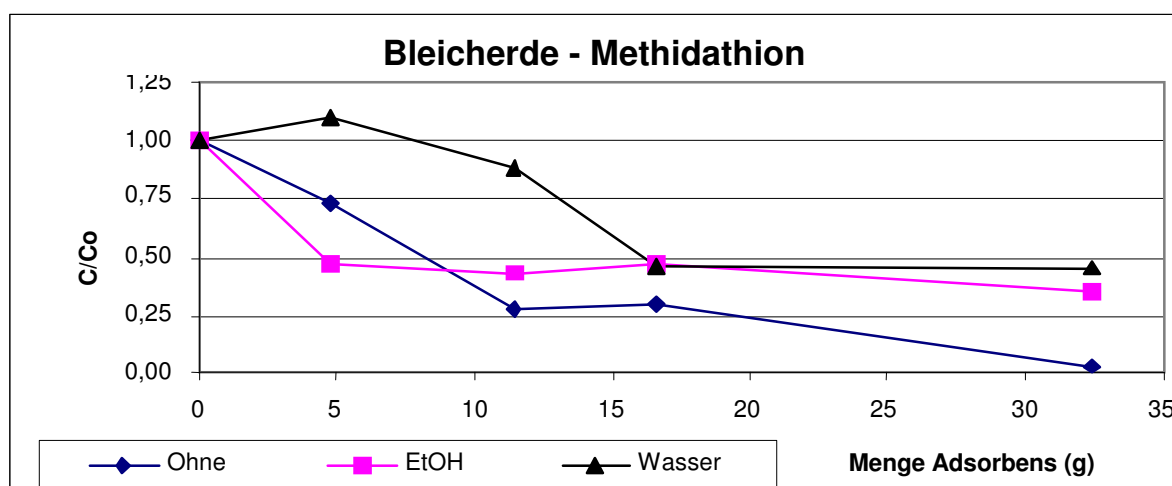
**Tab. 47:** Relative Konzentrationen von Myclobutanil und Methidathion im HD-Extrakt von Hopfen in Abhängigkeit vom Adsorbens, dessen eingesetzter Menge und der Zugabe an Modifier (bezogen auf den Blindversuch ohne Adsorbens).

	Myclobutanil					Methidathion				
	0,0 g	3,1 g	8,2 g	13,7 g	27,2 g	0,0 g	3,1 g	8,2 g	13,7 g	27,2 g
<b>Aktivkohle</b>										
Ohne Modifier	1,00	1,19	0,98	0,77	0,93	1,00	0,82	1,02	0,88	0,67
Ethanol	1,00	0,80	0,71	0,66	0,59	1,00	0,71	0,55	0,45	0,37
Wasser	1,00	1,23	0,82	0,40	0,64	1,00	1,15	1,05	0,95	0,74
<b>Bleicherde</b>										
Ohne Modifier	1,00	0,63	0,44	0,50	0,16	1,00	0,73	0,28	0,30	0,03
Ethanol	1,00	0,31	0,24	0,26	0,28	1,00	0,47	0,44	0,48	0,35
Wasser	1,00	0,50	0,04	0,16	0,21	1,00	1,10	0,89	0,46	0,45
<b>Kieselgur</b>										
Ohne Modifier	1,00	0,91	0,99	1,12	1,18	1,00	0,86	0,89	0,83	1,13
Ethanol	1,00	0,81	0,80	0,91	0,77	1,00	0,72	0,73	0,77	0,76
Wasser	1,00	1,13	1,25	1,17	1,09	1,00	1,16	1,11	1,16	1,00
<b>Kieselgel</b>										
Ohne Modifier	1,00	0,92	0,60	0,32	0,05	1,00	1,01	0,82	0,53	0,24
Ethanol	1,00	0,52	0,29	0,03	0,02	1,00	0,58	0,56	0,63	0,67
Wasser	1,00	0,37	0,18	0,11	0,19	1,00	1,14	0,88	0,77	0,42

Fortsetzung Tab. 47

Florisil	0,0 g	5,0 g	10,3 g	15,4 g	27,2 g	0,0 g	5,0 g	10,3 g	15,4 g	27,2 g
Ohne Modifier	1,00	0,64	0,83	0,72	0,61	1,00	0,73	0,89	0,48	0,08
Ethanol	1,00	0,69	0,61	0,62	0,11	1,00	0,60	0,68	0,52	0,44
Wasser	1,00	1,01	0,68	0,66	0,29	1,00	1,05	1,17	0,90	0,53

Für Methidation wurden ähnliche Ergebnisse wie für Myclobutanil erzielt (Tab. 47). Beispielsweise zeigte sich hier bei Einsatz von Wasser als Modifier zunächst ein leichter Anstieg (Abb. 74, Bleicherde) und darauf ein signifikanter Abfall der Kurve fast bis zu 100 % Eliminierung, während „ohne Modifier“ ein Verlauf parallel zu dem bei „Wasser als Modifier“ resultierte. Die Eliminierung bei Anwendung von Ethanol war hier geringer als bei Myclobutanil, die Streuung dagegen höher. Dennoch ist eine abnehmende Tendenz zu beobachten, wie z.B. Bleicherde, Kieselgel und Florisil zeigen. Eine starke Eliminierung von Methidation konnte bei Zusatz der letztgenannten Adsorbentien „ohne Modifier“ beobachtet werden.



**Abb. 74:** Änderung der Methidationwerte in Abhängigkeit von der Menge an zugesetzter Bleicherde (Angabe in % des Mittelwertes ohne Adsorptionsmittel – Blindversuch).

Da zu vermuten war, dass sich Anteile des Modifiers im Extrakt gelöst hatten – bei manchen Versuchen mit Wasser war eine leichte Tröpfchenbildung zu erkennen –, wurde zusätzlich der Quotient aus den Gehalten an PSM und Hopfeninhaltsstoffen gebildet, um die Ergebnisse besser vergleichen zu können und um „nicht systematische Fehler“ bei der Analytik zu vermeiden. Im Fall eines Modifier-Restes in dem für die Analytik eingewogenen Extrakt würde diese Messfehlerart dank folgendem Index entfallen:



$$\text{Index} = \frac{\frac{\text{MassePestizide}}{\text{MasseExtrakt} + \text{MasseModifizierrest}}}{\frac{\text{MasseInhaltsstoff}}{\text{MasseExtrakt} + \text{MasseModifizierrest}}} = \frac{\text{MassePestizide}}{\text{MasseInhaltsstoff}} \quad \text{Gleichung 16}$$

Gleichung 16 ergibt einen Wert für das innere Verhältnis in der Probe und ist deswegen frei von der oben beschriebenen Störung. Ein sinkender Indexwert bedeutet somit, dass die Proben PSM-freier wurden und/oder dass der Verlust an Inhaltsstoffen geringer als der an PSM war, beides durchaus erwünschte Effekte. Mit Hilfe dieses Indexes ließ sich tatsächlich auch die Streuung der Werte zum Teil relativieren. Die Tab. 48 zeigt die daraus resultierenden Werte. Die Angaben beziehen sich, wie oben, auf den Mittelwert ohne Adsorbens und ohne Modifier.

Für Myclobutanil zeigten die Versuche mit Bleicherde und Kieselgel einen konstanten Abwärtstrend. Bei Bleicherde mit Modifier Wasser ist der Index etwa 0,1 ab einer Zusatzmenge von 13 g Adsorbens; dies allerdings bei einem Verlust von ca. 50 % der Inhaltsstoffe.

**Tab. 48: Änderung des Quotienten aus Gehalt an Pflanzenschutzmitteln und Hopfeninhaltsstoffen in Abhängigkeit von der eingesetzten Adsorbensmenge (Gleichung 16).**

	Index – Myclobutanil					Index – Methidathion				
	0,0 g	3,1 g	8,2 g	13,7 g	27,2 g	0,0 g	3,1 g	8,2 g	13,7 g	27,2 g
<b>Aktivkohle</b>										
Ohne Modifier	1,0	1,1	0,9	0,8	0,9	1,0	0,8	1,0	0,9	0,7
Ethanol	1,2	0,8	0,8	0,8	0,8	2,1	1,4	1,2	1,0	0,9
Wasser	0,8	0,9	0,6	0,3	0,5	1,1	1,2	1,1	1,0	0,8
<b>Bleicherde</b>	<b>0,0 g</b>	<b>4,8 g</b>	<b>11,5 g</b>	<b>16,6 g</b>	<b>32,4 g</b>	<b>0,0 g</b>	<b>4,8 g</b>	<b>11,5 g</b>	<b>16,6 g</b>	<b>32,4 g</b>
Ohne Modifier	1,0	0,6	0,4	0,5	0,2	1,0	0,7	0,3	0,3	0,0
Ethanol	1,2	0,4	0,3	0,3	0,3	2,1	0,9	0,9	0,9	0,7
Wasser	0,8	0,4	0,0	0,1	0,2	1,1	1,1	0,9	0,5	0,5
<b>Kieselgur</b>	<b>0,0 g</b>	<b>1,0 g</b>	<b>2,4 g</b>	<b>5,0 g</b>	<b>9,3 g</b>	<b>0,0 g</b>	<b>1,0 g</b>	<b>2,4 g</b>	<b>5,0 g</b>	<b>9,3 g</b>
Ohne Modifier	1,0	0,9	1,0	1,1	1,2	1,0	0,8	0,9	0,8	1,1
Ethanol	1,2	1,2	1,1	1,4	1,0	2,1	1,8	1,7	2,0	1,8
Wasser	0,8	0,9	0,9	1,0	0,9	1,1	1,1	1,1	1,3	1,1
<b>Kieselgel</b>	<b>0,0 g</b>	<b>4,4 g</b>	<b>9,1 g</b>	<b>12,6 g</b>	<b>24,0 g</b>	<b>0,0 g</b>	<b>4,4 g</b>	<b>9,1 g</b>	<b>12,6 g</b>	<b>24,0 g</b>
Ohne Modifier	1,0	1,0	0,7	0,3	0,0	1,0	1,1	0,9	0,6	0,2
Ethanol	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	2,1	1,4	1,2	1,4	1,3
Wasser	0,8	0,3	0,1	0,1	0,1	1,1	1,0	0,8	0,8	0,4
<b>Florisil</b>	<b>0,0 g</b>	<b>5,0 g</b>	<b>10,3 g</b>	<b>14,9 g</b>	<b>27,5 g</b>	<b>0,0 g</b>	<b>5,0 g</b>	<b>10,3 g</b>	<b>14,9 g</b>	<b>27,5 g</b>
Ohne Modifier	1,0	0,8	0,9	0,9	0,7	1,0	0,9	0,9	0,6	0,1
Ethanol	1,2	1,1	0,9	1,3	0,3	2,1	1,7	1,8	1,2	1,9
Wasser	0,8	0,9	0,5	0,4	0,2	1,1	1,2	1,2	0,8	0,4

Bei Kieselgel betrug der Indexwert 0,1–0,2 für Myclobutanil bei weniger als 50 % Extraktverlusten, ab dem Einsatz von 4 g Adsorbens und mit Zusatz von Wasser als Modifier. Ohne Modifier zeigte Kieselgel auch relativ gute Ergebnisse, z. B. 0,3 als Indexwert für Myclobutanil bei 10–20 % Extraktverlust und sogar nur 0,25 bei Methidathion.

Mit Florisil als Adsorbentienzusatz, mit und ohne Modifier Wasser, sind die Ergebnisse ebenfalls gut. Dies unterstreichen die Indexwerte von Myclobutanil (Index = 0,4 und Extraktabnahme 40 %) und Methidathion (Index = 0,8 und Extraktabnahme 36 %).

Die Tabelle 49 zeigt einen Vergleich der Ergebnisse beim Zusatz der einzelnen Adsorbentien in Extraktionsversuchen ohne Modifier sowie mit Wasser und Ethanol als Modifier. Die Werte werden hier alle auf den Wert 1 parameterisiert, um die Verläufe gegenüberstellen zu können. So wird der Vergleich der einzelnen HD-Extraktionsvarianten wesentlich anschaulicher. Im Fall ohne Modifier fielen die Indexwerte bei Bleicherde und Kieselgel stark ab, auch bei Methidathion konnte eine Reduktion des Indexwertes für Florisil beobachtet werden.

Beim Einsatz von Wasser als Modifier sind wiederum die Versuche mit Kieselgel und Bleicherde dargestellt, die die höchste Effektivität aufwiesen.

Im Fall Ethanol werden alle Versuche verglichen, in denen es als Modifier zugesetzt wurde. Dabei konnten mit Bleicherde gute Ergebnisse ermittelt werden.

Vergleicht man die mit Hilfe des vorher beschriebenen Quotienten korrigierten und damit unmittelbar zu vergleichenden Ergebnisse der HD-Extraktion mit den unterschiedlichen Adsorbentien, lässt sich feststellen, dass ohne Modifizierzusatz in CO<sub>2</sub>-Extrakten des belasteten Hopfenpulvers die stärkste Abnahme des Myclobutanilgehaltes mit Kieselgel zu erreichen war, während sich Methidathion unter diesen Bedingungen am nachhaltigsten mit Bleicherde entfernen ließ. Am zweitbesten eignete sich Bleicherde für Myclobutanil und Florisil für Methidathion, während die schlechtesten Ergebnisse in beiden Fällen mit Kieselgur (ohne Modifier) erreicht wurden. Mit Ethanol als Modifier ist die Eliminierung bei beiden PSM und mit Wasser als Modifier bei Methidathion weniger effektiv. Lediglich für Myclobutanil wurde mit Wasser im Bereich mittlerer Zusatzmengen (5–17 g) an Adsorptionsmittel ein ähnlich günstiger Wert erzielt wie ohne Modifier. Auch in diesem Fall schnitt Kieselgur am schlechtesten ab, während Bleicherde und Kieselgel die relativ besten Ergebnisse lieferten. Im Fall von Methidathion waren dies Bleicherde und Aktivkohle (mit Ethanol) bzw. Florisil, Kieselgel und Bleicherde (mit Wasser).

## 5 DISKUSSION

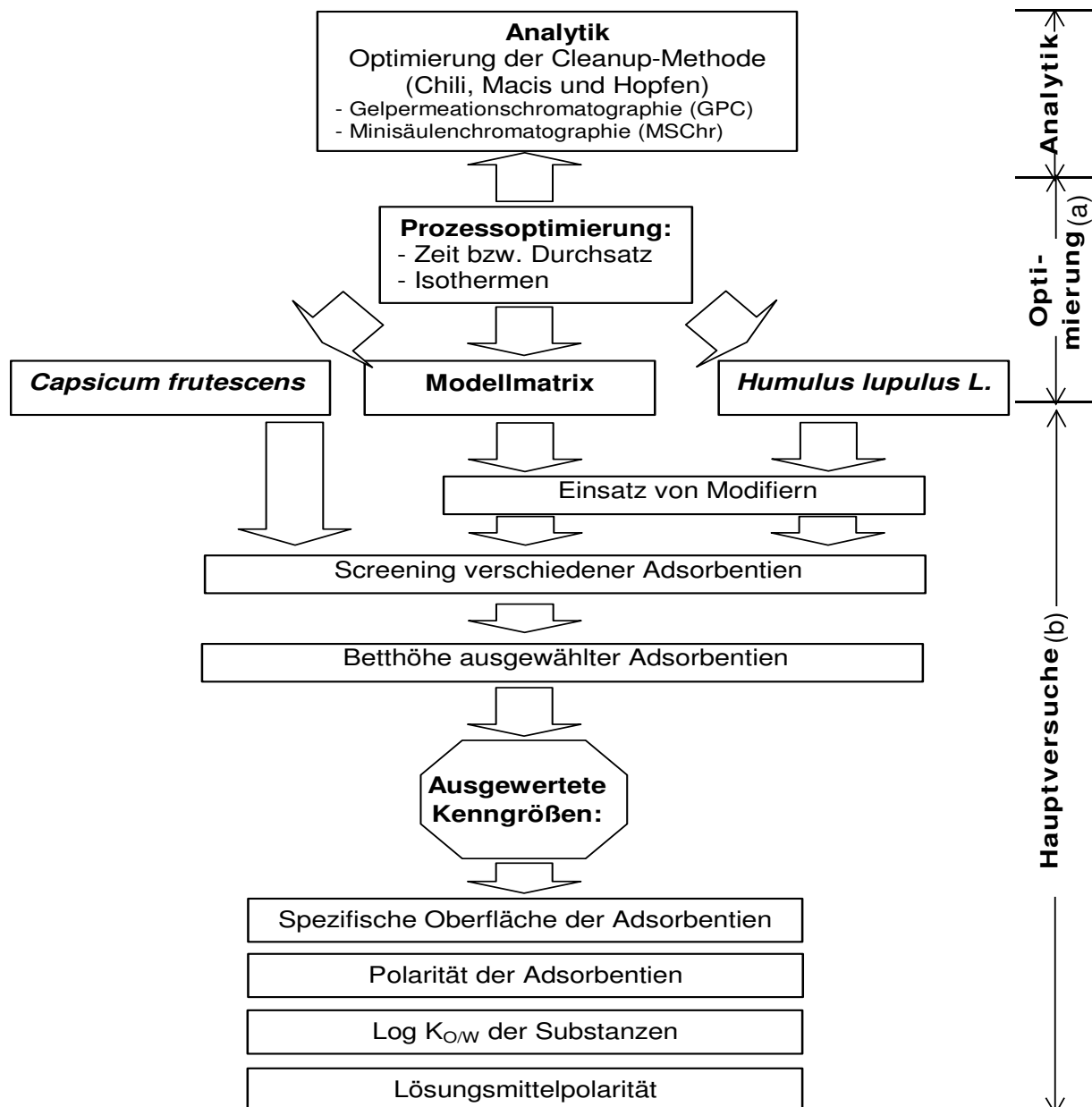
Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich mit der Optimierung der Hochdruckextraktion (HD-Extraktion) von mit Pflanzenschutzmitteln (PSM) belasteten Rohstoffmatrices. Die angestrebten Teilziele, die Extraktionsausbeute der erwünschten Natur-/Wirkstoffe zu erhöhen und die im HD-Extrakt dabei angereicherten, aber unerwünschten PSM weitgehend zu eliminieren, waren damit eindeutig vorgegeben. Um diese Zielsetzung zu erreichen und das im allgemeinen als schonend und nachhaltig bekannte Hochdruck-Extraktionsverfahren zumindest konkurrenzfähig zu den bisher angewandten konventionellen Verfahren wie Lösungsmittel- und Wasserdampfdestillation zu gestalten, wurden einerseits geeignete, möglichst selektive Adsorptionsmittel und andererseits Wasser und Ethanol als Modifier zwischen Extraktor und Separator der HD-Anlage zusätzlich *online* eingesetzt.

Die folgende Diskussion orientiert sich am logischen Ablauf der zur Lösung dieser oben erläuterten Fragestellungen notwendigen einzelnen Arbeitsschritte, die sich zunächst grob in Vorversuche und Hauptversuchsreihen einteilen lassen:

- (1) Extraktionsvorversuche mit einer homogenen, dotierten (künstlich mit PSM belasteten) Modellmatrix
- (2) Hauptversuchsreihen mit zwei praxisrelevanten kontaminierten Naturstoffen, *Capsicum frutescens* und *Humulus lupulus* L., auf Basis der Ergebnisse aus den Vorversuchen.

Beide Versuchgruppen wurden jeweils in zwei Teilschritten durchgeführt (Abb. 75):

- (a) Vorversuche zur Prozessoptimierung, insbesondere der Extraktionskinetik (Extraktionszeit, CO<sub>2</sub>-Durchsatz) und Extraktionsisothermen
- (b) Hauptversuchsreihe, bestehend aus dem eigentlichen Screening, der Variation der Betthöhen zugesetzter ausgewählter Adsorbentien im Extraktor sowie dem Zusatz der beiden Modifier Ethanol und Wasser.



**Abb. 75: Schematischer Aufbau der Diskussion.**

Die Ergebnisse aus Teilschritt b (Hauptversuche) wurden anhand folgender Kenngrößen unter den Aspekten PSM-Eliminierung und vorhandene Extraktqualität korreliert und mit Hilfe von GC/ECD- und HPLC-Analyse verglichen:

- (b.1) Spezifische Oberfläche des Adsorbens,
- (b.2) Polarität des Adsorbens,
- (b.3) Log  $K_{O/W}$  der Substanzen,
- (b.4) Polarität der Modifier.

Zu Beginn der experimentellen Arbeiten stellte sich allerdings heraus, dass die standardisierte DFG S19-Methode, die vor allem zur Aufreinigung der gewonnenen HD-Extrakte vor der rückstandsanalytischen GC/ECD-Bestimmung eingesetzt wurde, für die z. T. stark fetthaltigen Naturstoffmatrices (Chili und Macis; Versuchsreihe Macis deswegen vorzeitig beendet) und HD-Extrakte nicht geeignet war und deshalb modifiziert werden musste. Vor allem Verunreinigungen der zur Kontrollanalytik benutzten GC-Systeme erlaubten deswegen keinen hohen Probendurchsatz und erschwerten die quantitative Auswertung. Diese ursprünglich nicht vorgesehene, aber notwendige Anpassung der DFG S19-Methode wurde daher als erstes Arbeitsziel (0) durchgeführt.

## 5.1 Analytik

Die DFG S19-Methode besteht aus drei Teilschritten: Gelpermeationschromatographie, Säulenchromatographie und Gaschromatographie. Der erste Teilschritt, die Gelpermeationschromatographie (GPC), ist für die Abtrennung höhermolekularer Substanzen, z. B. Lipide, von den zu analysierenden PSM im Prinzip sehr gut geeignet. Nach der Durchführung dieses ersten Auftrennungs- bzw. Cleanup-Schrittes mit Hilfe der GPC zeigten die GC/ECD-Chromatogramme der HD-Extrakte allerdings noch zahlreiche Überlappungen zwischen den Peakbereichen von Extraktinhaltsstoffen aus Chili, Macis und Hopfen und den quantitativ zu bestimmenden PSM, weil geringe Mengen der Inhaltsstoffe immer wieder in das GPC-Eluat gelangten und zwangsläufig zu unvollständig getrennten Peaks oder Maskierungen von Peaks durch Coelutionen führten. Die reproduzierbare quantitative Bestimmung der eingesetzten Referenz-PSM war daher nicht gewährleistet.

Dieses Problem, das von Fall zu Fall nur maßgeschneidert durch Modifizieren der DFG S19-Methode gelöst werden kann, ist wahrlich nicht neu. Di Muccio et al. (1999 [203]) berichteten z. B. bereits von zu bestimmenden Pyrethroiden, deren Fraktion früher als normal bei der GPC eluierte und deswegen signifikant mit der Elutionsfraktion der vorhandenen Fette überlappte. Die Molekulargewichte der zu bestimmenden Pyrethroide lagen in diesem Fall zwischen 318 und 430 g/mol, also inmitten der Molekulargewichtsbereiche der Inhaltsstoffe und etherischen Öle aus der pflanzlichen Matrix.

**Tab. 49: GPC-Elutionsbereiche wichtiger Inhaltsstoffgruppen von Chili, Macis und Hopfen sowie deren Molekulargewichte [200], [37].**

Rohstoff	Chili	Macis	Hopfen
Peakspitze	bei 112 ml	1. Hügel bei 127 ml 2. Hügel bei 180 ml	bei 132 ml
Peakbreite	Insgesamt 65 ml	1. Hügel bei 80 ml 2. Hügel bei 60 ml	Insgesamt 100 ml
Lypophile Inhaltsstoffe der frischen Pflanze	1) Capsaicin 2) Carotinoide 3) Etherische Öle	1) Fettiges Öl 2) --- 3) Etherische Öle	1) $\alpha$ - und $\beta$ -Säuren 2) --- 3) Etherische Öle
Anteil in der frischen Pflanze	1) 0,57-1,45 % 2) 0,12-0,35 % 3) 0,17-1,25 %	1) 20 % 2) --- 3) 4-15 %	1) 12-21 % 2) --- 3) 0,3-1 %
Molekulargewichte (g/mol)	1) 305,42 2) 614 3) 192-284	1) hoch 2) --- 3) um 136	1) 348-362 2) --- 3) um 200
GPC-Elutionsbereich (1 g HD-Extrakt aufgereinigt)	75-140 ml	75-175 ml	75-142,5 ml
<b>Pflanzenschutzmittel-Pool</b>			
Sammeln der Eluatfraktionen für die Analyse	ab 140 ml	Ab 175	Ab 142,5
Überlappungsbereich der eluierenden Inhaltsstofffraktionen (ml)	5 ml	1. Hügel: 27 ml 2. Hügel: komplett	42 ml

Bei den in der vorliegenden Arbeit eingesetzten, mit PSM belasteten pflanzlichen Matrices drangen Inhaltsstoffe mit niedrigen Molekulargewichten (z. B. Capsaicin, 306 g/mol;  $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren, 348-362 g/mol) in das Gel ebenso ein wie die als Störsubstanzen abzutrennenden höhermolekularen Substanzen. Beide zeigten also ein ähnliches Verhalten, das zu den Überlappungen und Coelutionen beim GPC-Cleanup führte.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnten die entsprechenden Parameter und Elutionsbereiche für Chili- und Hopfenproben, nicht aber für Macis-Proben, so verbessert werden, dass die Abtrennung der Matrixfraktion von den zu analysierenden PSM-Fractionen nahezu optimal gelang (Tab. 49).

Gleichwohl traten bei der GC/ECD-Analyse der GPC-gereinigten Proben die vorher beschriebenen Störungen vereinzelt auf, so dass die Minisäulenchromatographie (MSChr) als zweites Verfahren zur weiteren Aufreinigung einbezogen werden musste. Specht und Tillkes (1980 [201]) stellten fest, dass bei der GPC hydrophobe und auch hydrophile Stoffe eluieren können. Mittels der MSChr konnten jedoch polare PSM zurückgehalten werden. Letztendlich beobachteten diese Autoren, dass alle untersuchten PSM in den Teilfraktionen Toluol und

Toluol : Aceton (95 : 5) eluierten, was mit der Polarität und der Wechselwirkung dieser PSM mit den stationären Phasen zusammenhängen dürfte. Bei Einschaltung dieses zweiten Reinigungsschrittes konnten in der vorliegenden Arbeit HD-Rohextrakte von Hopfen mit Florisil und von Chili (weniger Macis) mit Kieselgel störsubstanzenfrei gemacht werden. Auch Tekel und Hatrík (1996 [202]) berichten, dass Florisilsäulen für die Abtrennung von Lipiden aus pflanzlichen Extrakten mit sehr guten quantitativen Ergebnissen angewendet werden können. Die Autoren erwähnten auch die Verwendung von Kieselgel zu diesem Zweck, das allerdings quantitativ weniger effektiv als Florisil eingesetzt werden konnte. Stattdessen war Kieselgel zur Gewinnung von Fraktionen unterschiedlicher Polarität besser geeignet.

Da in der Säulenchromatographie (SC) unpolare bis polare Lösungsmittel verwendet werden können, wurde in der vorliegenden Arbeit auf die stark unpolaren Elutionsmittel (Hexan bzw. Hexan : Toluol (0:60) und auch die polaren (Aceton bzw. Toluol : Aceton [80 : 20]) völlig verzichtet, damit stark unpolare und stark polare Artefakte nicht eluiert wurden und in der Säulenpackung hängen blieben. Durch eine Erhöhung von 1 auf 2 g Packungsmaterial konnte die Kapazität der Säule derartig gesteigert werden, dass etwa doppelt so viel lipidhaltige Verunreinigungen zurückgehalten wurden. Ergebnis war eine nahezu völlig verunreinigungsfreie Probe – also z. B. störsubstanzenfreie GC/ECD-Chromatogramme – für Chili und Hopfen mit Wiederfindungsraten von 73 % für Dicofol bis 119 % für Ethion bei Konfidenzintervallen (K.I.) von 7 % für Bifendrin bis 30 % für Malathion bei der statistischen Absicherung der Methode ( $\gamma = 95 \%$ ).

Nach Erreichen von Arbeitsziel (0) stand also eine modifizierte, sehr saubere rückstandsanalytische Methode im Vergleich zur alten Norm-Methode zur Verfügung. Über 500 Proben wurden so ohne Wechsel der GC-Trennsäule analysiert. Diese erarbeitete spezifische Methode war demnach speziell für die Aufreinigung von Chili- und Hopfen-Hochdruckextrakten geeignet, und darüber hinaus auch noch kostengünstig.

## 5.2 Einfluss einzelner Prozessparameter auf die Hochdruckextraktion

### 5.2.1 Auswirkung des CO<sub>2</sub>-Flusses auf die Prozessoptimierung: Zeit vs. Durchsatz. Versuche mit den Modellmatrices Chili und Hopfen

#### Prozessoptimierung

Die eigentlich erste Teilaufgabe dieser Arbeit, die Prozessoptimierung, wurde mit der Bestimmung kinetischer Extraktionsparameter begonnen, z. B. den Extraktionsausbeuten aus einer dotierten Modellmatrix. Diese Parameter wurden anhand der Extraktionszeit bzw. des CO<sub>2</sub>-Durchsatzes während des Extraktionsablaufes näher untersucht.

Zunächst wurde Cellulose aus vier möglichen Matrices (Cellulose, Seesand, Kieselgur und Stärke) als Trägermaterial nach einer Reihe von Testextraktionen ausgewählt. Diese Trägermatrix wurde mit einem PSM-Mix dotiert und HD-extrahiert. Im HD-Extrakt wurden Ausbeuten von 95–113 %  $\pm$  15 % (alle K.I. wurden mit  $\gamma = 95$  % ermittelt) an dotierten PSM gefunden. Cellulose zeigte somit die höchsten Ausbeuten aller PSM im HD-Extrakt, z. B. fünfmal höher als die von Seesand (30 %  $\pm$  10 %) und wies die geringste Verunreinigungsrate im Vergleich mit den anderen eingesetzten Materialien auf. Die großen Schwankungen ( $\pm$  15 %) der Wiederfindungsraten (95–113 %) ließen jedoch zunächst Zweifel an der erarbeiteten Methode aufkommen.

In der Arbeit von Nemoto et al. (1997 [59]) wurden bei der HD-Extraktion von PSM-dotierten Bodenproben beispielsweise Wiederfindungsraten von 70–101 % als akzeptabel bezeichnet, während Koinecke et al. (1997 [58]) Wiederfindungsraten von 81–109 % als gutgelungene HD-Extraktionen bezeichneten.

Eine wesentliche Ursache für die grosse Streubreite der Wiederfindungsraten bei HD-Extraktionen ist wahrscheinlich im Auffangen der Extraktprobe zu suchen. Mehrere Arbeiten befassten sich mit dieser Thematik und kamen stets zu der Schlussfolgerung, dass dabei immer mit Schwankungen zu rechnen ist. Hawthorne et al. (1993 [55]) konnten auch Standardabweichungen von 13 % im Abscheideschritt der HD-Extraktion nachweisen. Dieses Phänomen führten sie auf die hohe Geschwindigkeit des entspannten CO<sub>2</sub> bei fast jeder HD-Extraktion oder die angewandte Auffangflüssigkeit zurück. In diesem Zusammenhang beobachteten Koinecke et al. (1997 [58]), dass sich Ethylacetat in Mischung mit Cyclohexan als Lösungsmittel zum Auffangen von PSM im Separator gut eignete. Diese Lösungsmittel-



mischung konnte auch in der vorliegenden Arbeit mit ausgezeichneten Ergebnissen als Auffanglösung für die Extraktion angewendet werden. Auch Reimer und Suarez (1995) [96]) berichten, dass 85 % der Streuwerte von Umweltkontaminanten bei der HD-Extraktion matrixabhängig sind. Die aufgeführten Literaturzitate bestätigen alle, dass die Reproduzierbarkeit der in der vorliegenden Arbeit angewandten Extraktionsmethode durchaus im Bereich derjenigen anderer Forschungsarbeiten auf diesem Gebiet liegt.

Daher konnte nun die Extraktionskinetik für die Extraktion von PSM aus dotierter Cellulose (Modellmatrix) und die zwei praxisrelevanten Anwendungsfälle, PSM-belastete Proben von *Capsicum frutescens* und *Humulus lupulus* L., ermittelt werden. Die dritte Versuchsreihe mit Macis wurde wegen nicht lösbarer Reproduzierbarkeitsprobleme abgebrochen. Zunächst musste entschieden werden, ob der Extraktionsverlauf der beiden anderen Versuchsreihen anhand der Zeit oder anhand des CO<sub>2</sub>-Durchsatzes (bei konstanter Durchflussrate) durchzuführen sei. Deshalb wurden während der HD-Extraktionen alle 15 min Extraktfraktionen aufgefangen, gekühlt eingelagert und später analysiert. Schon nach einem Gesamtdurchsatz von 75 l CO<sub>2</sub> wurde eine fast vollständige Extraktion der dotierten Kontaminanten (PSM + PCB-180) erreicht (die Extraktionsausbeuten ergaben asymptotisch angenäherte Werte von 85–95 % ± 4 %). Die Extraktionen wurden schließlich aufgrund der Ergebnisse zahlreicher Vorversuche mit einer CO<sub>2</sub>-Durchflussrate von 153 l/h und 45 min Zeitdauer durchgeführt.

Lediglich Malathion bildete unter diesen Bedingungen eine Ausnahme in dem PSM-Referenzmix, weil es wegen seiner langsamen Kinetik erst nach 120 min Extraktionszeit zu 75 % im HD-Extrakt wiedergefunden wurde. Dieses Ergebnis war aber zu erwarten, da Malathion mit einem Log K<sub>OW</sub> = 2,89 das polarste PSM im Mix und deswegen am schlechtesten im überkritischen CO<sub>2</sub> löslich war.

Um Fehler aus zu kurzen Extraktionszeiten zu vermeiden, wurde in der vorliegenden Arbeit stets mit einem Sicherheitsfaktor von 1,5 gearbeitet, d. h. es wurde mit einem Durchsatz von 115 l CO<sub>2</sub> gearbeitet, obwohl die Extraktionskurve nach 75 l CO<sub>2</sub>-Durchsatz bereits deutlich abflachte. Da anlagen- und prozessbedingte Änderungen in der Durchflussrate nicht vermeidbar waren und eine Messung des Extraktionsverlaufes zunächst auf Basis der Extraktionszeit zu signifikanten Schwankungen in den mittleren Wiederfindungsraten führte, wurde in den weiteren Versuchen der Extraktionsverlauf mit Hilfe einer zusätzlichen, PC-gesteuerten Mess- und Registriereinrichtung anhand des gesamten CO<sub>2</sub>-Durchsatzes ermittelt.

Berglöf (1997 [42]) hob ebenfalls die Bedeutung der Ermittlung des Extraktionsverlaufes anhand des CO<sub>2</sub>-Durchflusses und nicht anhand der Extraktionszeit hervor. Brunner (1994 [196]) verwendete diese Kenngröße ebenfalls als Maß für den Prozessverlauf.

In diesem Teilschritt konnte also ein CO<sub>2</sub>-Durchsatz festgelegt werden, bei dem die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse unter vorgegebenen, anlagenspezifischen Eigenschaften optimiert worden war. Diese Ergebnisse werden künftigen Arbeiten in diesem Themenbereich bei der Skalierung bzw. Anpassung an verschiedene anlagenbedingte Konditionen zugute kommen.

### **Extrapolation auf die HD-Extraktion belasteter Pflanzenproben**

Im nächsten Teilschritt der Arbeit wurden die an dotierten Modellmatrices gewonnenen Befunde auf die HD-Extraktion realer pflanzlicher Rohstoffe übertragen. Dazu wurden mit PSM belastete, naturgewachsene Chili- und Hopfenproben ausgewählt.

#### *Chili*

Bei Chili wurden Versuche mit drei verschiedenen CO<sub>2</sub>-Durchflussraten durchgeführt: 100, 150 und 200 l/h. Der Extraktionsverlauf konnte anhand des wirkenden Stoffübertragungsmechanismus in drei Teilschritte eingeteilt werden:

- |     |                           |                                  |
|-----|---------------------------|----------------------------------|
| (1) | 0–170 l CO <sub>2</sub>   | Auswaschphase (linearer Anstieg) |
| (2) | 170–200 l CO <sub>2</sub> | Diffusionsphase                  |
| (3) | ab 200 l CO <sub>2</sub>  | Erschöpfungsphase.               |

In der Auswaschphase stieg die Ausbeute (17,4 mg/l Extrakt), bezogen auf den CO<sub>2</sub>-Durchsatz, fast linear an. Anschließend, ab 170 l, begann die Diffusionsphase den Stofftransport zu kontrollieren. Dabei handelt es sich um einen dynamischen Prozess, da sich die Konzentration in der Zelle mit der Zeit verändert. Im weiteren Verlauf der Extraktion, der Erschöpfungsphase ab 200 l, konnte nurmehr ein geringer Anstieg der Extraktionsausbeute bis zu einem Wert von 1,68 mg/l beobachtet werden, da bei den zu geringen Verweilzeiten eine Sättigung des Lösungsmittels und somit die Entstehung eines Gleichgewichtes nicht mehr möglich war.

Wie bei der Darstellung der Ausbeute gegen die Zeit in der vorliegenden Arbeit, konnten Langenfeld et al. (1992 [73]) bei der HD-Extraktion von Limonen und Nerol aus Zitronenschalen beobachten, dass die Extraktionskurve einen Knickpunkt zeigte. Die Phase

vor diesem Punkt, die Auswaschphase, wurde dadurch charakterisiert, dass freigebundene Stoffe im Fluid gelöst wurden und aus diesem Grund ein linearer Anstieg der Extraktionskurve zu beobachten war. Nach dem Knickpunkt musste das Fluid in die Zelle eindringen, so dass die Extraktionskinetik von einem zweiten Phänomen beherrscht wurde, der Diffusion des Fluides in die Matrix, (graphisch ein linearer Anstieg der Extraktionskurve mit geringerer Steigung als in der ersten Phase). Die Extraktionskurve tendierte darauf langsam zu einem zur x-Achse asymptotischen Verlauf, wodurch sich die sogenannte Erschöpfungsphase, verbunden mit einer abnehmenden Inhaltsstoffkonzentration in der Matrix, ausdrückt.

Hawthorne et al. [55] stellten ein ähnliches Verhalten fest und erläuterten, dass die Extraktionsrate in hochkonzentrierten Proben durch Löslichkeitbegrenzungen im Fluid und nicht durch die Durchflussrate limitiert wird (Auswaschphase) – daher rührt der lineare Charakter der Extraktionskurve. Die Diffusionsphase wurde dagegen durch die Verteilungskinetik zwischen Feststoffoberfläche und Fluid bestimmt und zeigte deshalb eine flachere Extraktionskurve.

Bei Änderung der CO<sub>2</sub>-Durchflussrate konnte in der vorliegenden Arbeit beobachtet werden, dass eine Erhöhung mit einer Erhöhung der Extraktausbeute verbunden war.

Der Inhaltsstoffgehalt, z. B. im Chiliextrakt – die Konzentration von Capsaicin stieg von 22 mg/g Extrakt in der ersten aufgefundenen Extraktfraktion bis zu 35 mg/g in der letzten an – deutete daraufhin, dass auch andere Inhaltsstoffe, die im überkritischen CO<sub>2</sub> besser löslich sind, zuerst extrahiert wurden, etwa die hoch lipophilen Carotinoide wie Capsanthin oder  $\beta$ -Carotin (Acker et al. 1970 [200]).

Von den getesteten CO<sub>2</sub>-Durchflussraten, die in der Extraktionspraxis anlagenbedingt die Extraktausbeute maßgeblich beeinflussen, wurde für die Hauptversuche die höchste ausgewählt (200 l/h). Sie entsprach einem CO<sub>2</sub>-Durchsatz von insgesamt 250 l nach 75 min Extraktionsdauer und erbrachte eine Extraktausbeute von 8,2 % (nahe an der maximal erzielbaren Gesamtausbeute).

### *Hopfen*

Bei der HD-Extraktion von Hopfen als Rohstoff wurden zwei Durchflussraten getestet: 270 und 360 l/h. Bei den sehr hohen Durchflussraten konnte keine Verbesserung des Prozesses erzielt werden, ähnlich wie von Hawthorne et al. (1993 [55]) beschrieben wurde. Bei der höchsten Durchflussrate von 360 l/h konnte in den ersten 100 l CO<sub>2</sub> überhaupt kein Extrakt

gewonnen werden, was sich durch die geringe Verweil-/Kontaktzeit im System Inhaltstoff/Lösungsmittel erklären lässt.

Bei der Extraktion mit unterschiedlichen Durchflüssen fanden McNally et al. (1968 [65]), dass bei Erhöhung des Volumenstroms ein Maximum zu erreichen war. Darauf sank die Extraktionsausbeute wieder. Dies wird auch durch Ergebnisse von Nemoto et al. (1997 [59]) gestützt, die in ihren Untersuchungen feststellten, dass bei geringeren Durchflussraten die Kontaktzeit zwischen Matrix und Fluid höher und das entspannte Volumen niedriger waren, was sich beides in besseren Wiederfindungsraten niederschlug. Jedoch rieten Langenfeld et al. (1992 [73]) von der Kombination zu langer Extraktionszeiten mit zu niedrigen Durchflussraten ab, weil sich beim Entspannen des fluiden CO<sub>2</sub> auf den niedrigen Separatordruck der Volumenstrom deutlich erhöht und deshalb die Gefahr besteht, dass flüchtige Substanzen aus dem HD-Extrakt durch „Purgen“ ausgetrieben werden und mit dem entspannten CO<sub>2</sub> verloren gehen.

Die anhand der Ergebnisse dieser Arbeit ausgewählte Durchflussrate von 310 l/h für Hopfen zeigte eine bessere Extraktionskinetik und eine um 3,5 % höhere Ausbeute als die Durchflussrate von 360 l/h. Das Extraktionsplateau (Abflachen der Extraktionskurve) wurde hier nach 233 l CO<sub>2</sub>-Gesamtdurchsatz bei einer Extraktausbeute von 3,8 % ± 0,5 % (Totalextrakt bezogen auf eingesetzte Rohstoffmenge) erreicht.

Die optimalen CO<sub>2</sub>-Durchsätze mit den zugehörigen Durchflussraten (in Klammern) für die Modellmatrix sowie die Chili- und Hopfen-Proben lagen jeweils bei 115 l (153 l/h), 250 l (200 l/h) und 233 l (310 l/h). Damit waren die für die HD-Extraktionsversuche nur von der benutzten Extraktionsanlage abhängigen Skalierungsparameter ermittelt.

### **Isothermen – Modellmatrix**

Nach dem Gibbs'schen Phasengesetz bestimmen Druck und Temperatur die Dichte bzw. den Zustand des überkritischen Gases; hierdurch wird auch die Löslichkeit einer Substanz in diesem Fluid beeinflusst. Hierzu wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit Modellversuche mit dotierter Cellulose als Extraktionsgut durchgeführt, mit Extraktionsdrücken von 100 bis 350 bar und -temperaturen von 40 bis 60 °C. In allen Fällen konnte bei konstantem Druck oder konstanter Temperatur eine zunehmende Extraktionsausbeute beobachtet werden. Die höchsten Wiederfindungsraten wurden bei Extraktionen aus der Modellmatrix Cellulose mit

350 bar und 60 °C im Extraktor, einer CO<sub>2</sub>-Durchflussrate von 153 l/h und 45 min Extraktionszeit erzielt. Das dabei ermittelte Maximum wurde bei allen weiteren Versuchen stets als Referenzergebnis/Bezugswert betrachtet.

Die Befunde von Koinecke (1999 [197]) stimmen mit den Ergebnissen in der vorliegenden Arbeit überein. Wenn die Wiederfindungsraten gegen die CO<sub>2</sub>-Dichte aufgetragen wurden, traten entlang der Isothermen ebenfalls steigende Werte auf. Seidel und Lindner (1994 [85]) hatten bei mit Hexachlorbenzol dotierten Proben Temperatur, Druck und Modifier variiert und dabei höhere Wiederfindungsraten bei Erhöhung des Druckes oder der Temperatur beobachtet. Bei Zusatz eines Adsorbens (z. B. Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch) zeigten die Isothermen in der vorliegenden Arbeit einen in der Tendenz ähnlichen Kurvenverlauf wie ohne Adsorptionsmittel. Der Kurvenverlauf war jedoch z. T. durch einen unregelmäßigen, nicht-linearen und insgesamt deutlich flacheren Anstieg gekennzeichnet. Dies ist gleichbedeutend mit geringeren Ausbeuten an PSM in den gewonnenen HD-Extrakten. Janda et al. (1993 [76]) erklärten den in dieser Arbeit gefundenen unregelmäßigen Anstieg mit der Löslichkeit der PSM anhand der CO<sub>2</sub>-Dichte und mit in bestimmten Druckbereichen existierenden Kräften, die diese Substanzen aus dem Lösungsmittel (Fluid) regelrecht herauspressen.

Das Verhalten der Wiederfindungsraten von PSM konnte innerhalb eines relativ breiten Dichtespektrums beobachtet werden. Der erwartete hohe Dichtewert, ab dem die Wiederfindungsraten sinken, konnte, anlagenbedingt, für die untersuchten Stoffe allerdings nicht eingestellt werden. Die höchsten Wiederfindungsraten wurden in der vorliegenden Arbeit bei einem Druck von 350 bar und einer Temperatur von 60° C erzielt, wobei die Extraktionswirksamkeit bei Erhöhung dieser Werte anstieg.

Mit diesen Befunden war der Teilschritt „Prozessoptimierung“ im Rahmen dieser Arbeit somit abgeschlossen.

## **5.3 Hauptversuche – Hochdruckextraktion**

### **5.3.1 Screening unterschiedlicher Adsorbentien - Modellmatrix**

In der ersten Versuchsserie der Hauptversuche wurden die Veränderungen des PSM-Gehaltes in den Extrakten unter Zusatz unterschiedlicher Adsorbentien bei der HD-Extraktion analysiert. Als Dotiermatrix wurde weiterhin Cellulose verwendet. Die höchsten

Eliminierungsraten wurden bei Anwendung von Aktivkohle, Bleicherde, Amberlite XAD-16, Aluminiumoxid basisch und Florisil (durchschnittlich  $87\pm 3$ ,  $74\pm 18$ ,  $55\pm 16$ ,  $55\pm 29$  und  $47\pm 23$  %) erzielt. Aus diesem Grund wurden die weiteren Versuche zur Verbesserung dieser Raten mit diesen Adsorbentien durchgeführt (z. B. Extraktion unter Einsatz unterschiedlicher Mengen dieser Substanzen).

Insgesamt wurden 17 Adsorbentien, ohne und mit Modifizierzusatz, getestet und die Ergebnisse anhand der folgenden relevanten Kenngrößen korreliert:

- (1) Spezifische Oberfläche des Adsorbens,
- (2) Polarität des Adsorbens,
- (3) Log  $K_{O/W}$  der Pflanzenschutzmittel und Kontaminanten
- (4) Polarität des Modifiers.

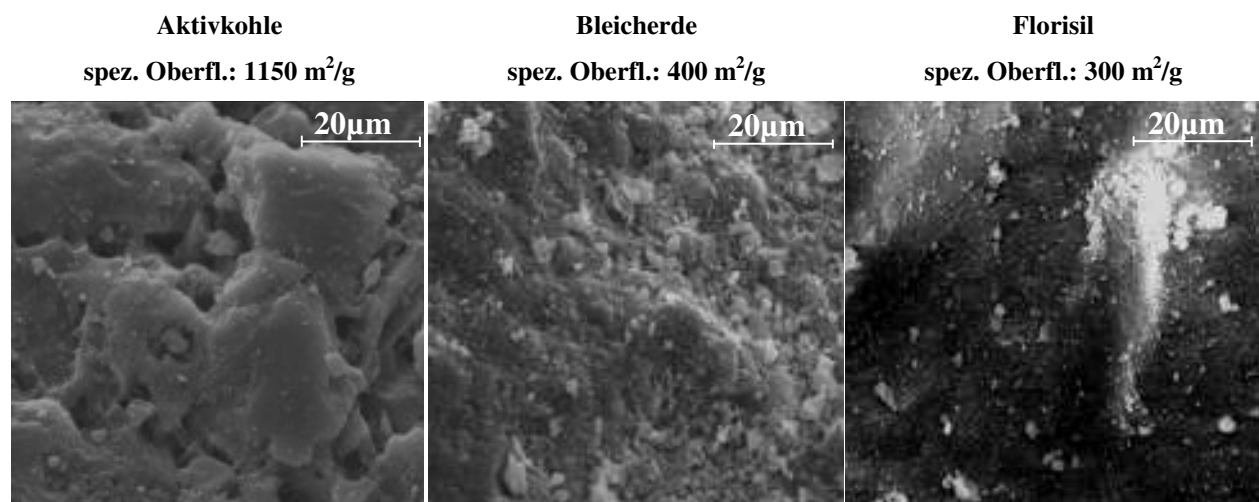
### **Spezifische Oberfläche (1) und Polarität des Adsorbens (2)**

Wie aufgrund von Literaturdaten [133] erwartet, konnte nach einer linearen Regression der spezifischen Oberflächen der einzelnen Adsorbentien und der gemessenen Extraktionswiederfindungsraten der untersuchten Kontaminanten (PSM + PCB-180) ein Anstieg (Bestimmtheitsmaß  $R^2 = 0,68$ ) der Adsorption dieser Rückstände mit einer Erhöhung der inneren Oberfläche (z. B. ca. 1150, 400, 750, 350, und 300  $m^2/g$  für Aktivkohle, Bleicherde, Amberlite XAD-16, Aluminiumoxid basisch und Florisil) festgestellt werden. Bei Substanzen mit sehr geringen spezifischen Oberflächen, wie z. B. Kieselgur (1,5  $m^2/g$ ) oder Glasperlen (2  $m^2/g$ ) war keine Eliminierung zu beobachten. Im Fall der unpolaren Aktivkohle waren die gemessenen hohen Ergebnisse zu erwarten. Die meisten, relativ unpolaren Kontaminanten wurden an dieser Oberfläche gebunden. Ferreira-Dias et al. (2001 [191]) testeten auch die Adsorption von Carotinoiden, Fettsäuren und Chlorophyll an Amberlite XAD-16, Aktivkohle und Bleicherde und kamen zu mit der vorliegenden Arbeit vergleichbaren Ergebnissen.

Eine Ausnahme stellte Bleicherde dar, deren spezifische Oberfläche im Vergleich zu dem beobachteten Haftungsvermögen relativ gering war. Bleicherde ist ein Aluminiumsilikat mit eher polaren Eigenschaften, das aus äußeren Silikatschichten und einer darin eingebundenen Aluminiumionenschicht besteht, wodurch sich jedoch die guten Adsorptionseigenschaften nicht ausreichend erklären lassen. Abbildung 76 zeigt die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen von Aktivkohle, Bleicherde und Florisil. Die Oberfläche von Bleicherde erscheint

deutlich rauer als die von Florisil mit einer ähnlichen spezifischen Oberfläche, was die bessere Adsorption an diesem Stoff erklärt.

Im Fall von anderen unpolaren Adsorbentien (z. B. Molekularsieb) bewirkte der unpolare Charakter immer eine leichte Verbesserung der Adsorption bei etwa gleichen spezifischen Oberflächen, wie der Vergleich zwischen Kieselgel (polar, spez. Oberfl. =  $500 \text{ m}^2/\text{g}$ ) und Florisil (unpolar, spez. Oberfl. =  $300 \text{ m}^2/\text{g}$ ) mit mittleren Eliminierungsraten von jeweils  $45 \pm 19 \%$  und  $47 \pm 23 \%$  verdeutlicht. Dieses Verhalten wurde auch von Bøwadt et al. (1994 [72]) bestätigt, die bei der Extraktion von PCB-180 bessere Adsorptionseigenschaften bei Florisil als bei Kieselgel ermittelten, obwohl Florisil eine geringere spezifische Oberfläche besaß.



**Abb. 76:** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von Aktivkohle, Bleicherde und Florisil (Vergrößerung 1 : 1000; spez. Oberfl. = spezifische Oberfläche)

Bis heute richteten die Arbeitsgruppen bei allen HD-Extraktionen PSM-belasteter Matrices das Augenmerk in erster Linie auf das sich anschließende *Cleanup*-Verfahren zur Analytik der Extrakte. Nur wenige Autoren beschäftigten sich eingehend mit der bereits während der Extraktion zu erzielenden Aufreinigung der HD-Extrakte, d. h. der Gewinnung eines PSM-freien HD-Extraktes. Alle diese Arbeiten mit Zusatz von Adsorptionsmitteln wurden mehr oder weniger empirisch durchgeführt.

Die in der vorliegenden Arbeit dargestellten Ergebnisse zeigen hingegen, dass z. B. die spezifische Oberfläche eines zugesetzten Adsorbens mit ihrer Fähigkeit, PSM zurückzuhalten, eine sehr wichtige Rolle bei Extraktionen mit überkritischem  $\text{CO}_2$  aus einer Modellmatrix spielt. Diese Kenngröße ist hier sogar entscheidender als die Polarität des Adsorbens und sollte in Zukunft als massgebliches Kriterium bei der Auswahl eines Adsorptionsmittels für diese Zwecke gelten.

### **Log $K_{O/W}$ der Kontaminanten – Pflanzenschutzmittel und PCB-180 (3)**

Die Bewertung des Einflusses der Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten der einzelnen Pflanzenschutzmittel auf ihr Bindungsvermögen an den Oberflächen der Adsorbentien durch lineare Regression in der vorliegenden Arbeit zeigte, dass fast in allen Fällen die Polarität der einzelnen Kontaminanten ebenfalls eine entscheidende Rolle spielte. Bei spezifischen Oberflächen der Adsorbentien über  $100 \text{ m}^2/\text{g}$  stieg die Bindung von Kontaminanten an der Oberfläche mit Zunahme ihrer Lipophilität, obwohl es sich hier überwiegend um Adsorbentien mit Eigenschaften handelte, die in der Literatur eher als polarer bezeichnet werden. Aluminiumoxid basisch und Bleicherde zeigten die höchste Sensibilität gegenüber dem Log  $K_{O/W}$ -Wert (jeweils Steigungen von 0,61 und 0,8 mit Korrelationskoeffizienten von 0,78 und 0,60). Auch diese wichtige Kenngröße wurde bis heute in rückstandsanalytischen Arbeiten unter Einbeziehung der HD-Extraktion von PSM aus Modellmatrices kaum diskutiert. Bei Adsorbentien mit sehr geringen spezifischen Oberflächen, wie Kieselgur, Glasperlen oder Seesand, wurde kaum eine Änderung der Adsorption aufgrund der Polarität der Stoffe festgestellt.

### **Polarität des Modifiers (4)**

Die Zugabe eines polaren Modifiers, Ethanol oder Wasser (lebensmittelrechtlich zulässig), zum überkritischen Gas bewirkte in den meisten Fällen eine Reduzierung der Wiederfindungsraten der unpolaren Kontaminanten (PCB-180, Chlorpyrifos, Ethion,  $\alpha$ - +  $\beta$ -Endosulfan) und deckte sich mit Ergebnissen, die oft in der Literatur zu finden sind (Probst, 1994 [198], Koinecke, 1999 [197]). Beim Testen der 17 Adsorbentien mit Modifizierzusatz verringerten sich die mittleren Wiederfindungsraten lediglich in zwei Fällen nicht, bei Bleicherde und Molekularsieb.

Beim Vergleich der Versuche mit Zusatz von Ethanol und dem polarereren Wasser als Modifier waren die mittleren Wiederfindungsraten der PSM im HD-Extrakt bei Wasserzusatz fast immer geringer. Andere Arbeiten zu diesem Thema stimmten mit den hier vorliegenden Befunden überein, zum Beispiel sanken bei Zugabe von 2 % Ethanol in den Untersuchungen von Bøwadt et al. (1994 [72]) bei der Durchführung einer HD-Extraktion von PSM mit anschließender Adsorption die Wiederfindungsraten bei Einsatz von Kieselgel stärker als bei Florisil.



Dass in einigen Fällen die Zugabe von Modifiern anstelle einer Verringerung eine Erhöhung der Wiederfindungsraten unpolarer Verbindungen verursacht, wie z.B. bei Zusatz von Bleicherde und Molekularsieb in der vorliegenden Arbeit; lässt sich, wie in den folgenden Abschnitten näher erläutert, erklären.

In Versuchen ohne Anwendung von Adsorptionsmitteln bewirkt die Zugabe eines polaren Modifiers eine Zunahme des hydrophilen Charakters im überkritischen CO<sub>2</sub>, so dass hydrophobe Substanzen schlechter extrahiert werden. In der vorliegenden Arbeit konnte dieses Verhalten beim Einsatz von Ethanol gut beobachtet werden (Wiederfindungsraten der PSM im Mittel um 9 % geringer als ohne Modifizierzusatz). Da Wasser aber polarer als Ethanol ist, sollte in diesem Fall die Wiederfindungsrate eigentlich noch geringer sein. Entgegen dieser Vermutung lag sie aber in einigen Experimenten um bis zu 23 % höher.

Die Ursache hierfür scheint im Prinzip ein zu hoher prozentualer Zusatz an Modifier zu sein. Ab einem bestimmten Grenzwert des Modifieranteils im überkritischen Fluid werden die Wiederfindungsraten von unpolaren Stoffen daher nicht mehr verringert, sondern eher erhöht. Diesen Effekt beobachteten z. B. Seidel und Lindner (1994 [85]) bei der Anwendung von Methanol als Modifier. Sie fanden bei der HD-Extraktion von Proben mit ca. 2 % Wassergehalt ein Zugabeoptimum von ca. 3 % für Methanol. Ähnliche Erfahrungen werden von Lehotay et al. (1997 [189]) berichtet. Sie dotierten Cellulose mit Malathion, Phosalon, Ethion, Chlorpyrifos, Endosulfan, Aldrin, p,p'-DDE, Cypermethrin und anderen Stoffen und mischten diese dotierte Matrix kurz vor der HD-Extraktion mit Wasser. Bei Wasserzugaben bis zur Menge an als Dotiermatrix eingesetzter Cellulose beobachteten sie für die unpolaren PSM eine geringere Wiederfindungsrate, die bei weiterem Wasserzusatz anstieg.

Die oben beschriebenen Phänomene werden in der Literatur aus verschiedenen Perspektiven betrachtet, deren Gesamtheit die hier wirksamen Einflüsse widerspiegelt:

1. Perspektive: Das Adsorbat,
2. Perspektive: Das Adsorbens,
3. Perspektive: Wechselwirkung Adsorbat-Fluid,
4. Perspektive: Wechselwirkung Adsorbens-Adsorbat,
5. Perspektive: Wechselwirkung Dotiermatrix-Adsorbat-Fluid.

### *1. Perspektive: Das Adsorbat*

Lehotay und Eller (1995 [102]) ermittelten lediglich für schwerflüchtige Kontaminanten (z. B. PCB-180, 4,4'-DDE) eine bessere Wiederfindungsrate und erklärten dieses Verhalten damit, dass die Verbindungen an der Oberfläche des Adsorbens auftauen, ohne dass eine Wechselwirkung Oberfläche-Verbindung stattfindet (wie es eigentlich bei einer Adsorption sein sollte). Ihrer Erfahrung nach war vor allem bei niedrigen Durchflüssen die Wahrscheinlichkeit einer Kondensation höher. Dies traf für fast alle in der vorliegenden Arbeit verwendeten unpolaren Kontaminanten zu.

### *2. Perspektive: Das Adsorbens*

Lehotay et al. (1997 [78]) erklärten eine Erhöhung der Wiederfindungsraten bei der HD-Extraktion unter Einsatz von Wasser als Modifier mit der Aufweitung der Poren in der Matrix. Dieser Effekt erlaubt es dem Lösungsmittel CO<sub>2</sub>, die zu extrahierenden Stoffe besser zu erreichen, wodurch die Massenübertragung begünstigt wird. Andererseits konnten in der vorliegenden Arbeit durch Zugabe von Wasser oder Ethanol die aktiven Zentren der polaren Adsorbentien belegt und somit inaktiviert werden, offenbar verursacht einerseits durch eine Verringerung der vorhandenen Oberfläche und andererseits eine Änderung der Polarität (wenn alle polaren Stellen belegt sind, können nur die unpolaren verfügbar sein).

### *3. Perspektive: Wechselwirkung Adsorbat-Fluid*

Obwohl das Wasser bei der HD-Extraktion als Modifier nur zu 0,3 % in fluidem CO<sub>2</sub> löslich ist, wird die Polarität des Fluides erhöht und somit die Extraktion polarer PSM verbessert (Lehotay et al. [78]). Dennoch verteilen sich bei zu hohen Wassergehalten wasserlösliche Stoffe in der wässrigen Phase, so dass die Wiederfindung dieser Stoffe im Extrakt abnimmt.

### *4. Perspektive: Wechselwirkung Adsorbens-Adsorbat*

Andererseits fallen – wiederum nach Lehotay [78] – die nicht wasserlöslichen Stoffe aus der Matrixoberfläche aus. Dabei dient das Wasser gewissermaßen als Trennwand, so dass die zu lösenden Stoffe nicht in dem überkritischen Fluid wandern können, obwohl sie darin löslich sind.

### *5. Perspektive: Wechselwirkung Dotiermatrix-Adsorbat-Fluid*

Durch Kapillarität konnten in der vorliegenden Arbeit die Cellulosefasern der Dotiermatrix, ähnlich wie in der Papierchromatographie, mit Wasser als Modifier benetzt werden (1986

[190]). Chiou et al. (2001 [188]) erklärten dieses Benetzungsphänomen an mit Wasser befeuchteten, rückstandsbelasteten Pflanzen: Für jedes einzelne zu betrachtende Volumenelement erreicht ein PSM ein lokales Gleichgewicht mit den Elementen, die dieses Kontrollvolumen umgeben, d. h. übertragen auf die vorliegende Arbeit, die in der Matrix befindlichen PSM verteilen sich zwischen dem Cellulose-Modifier-Komplex und dem unpolaren überkritischen CO<sub>2</sub>. Somit kann erklärt werden, warum sich hydrophobe PSM besser aus einer Cellulose-Matrix extrahieren lassen, wenn, wie in der vorliegenden Arbeit, vor der Extraktion Wasser als Modifier zugegeben wird.

In Extraktionsanlagen wird der Modifier im Regelfall aber durch eine zusätzliche Pumpe am Eingang des Extraktors eingespeist und mit dem überkritischen CO<sub>2</sub> gemischt. Somit wird der Modifier kontinuierlich während des Extraktionsverlaufes zudosiert und im überkritischen CO<sub>2</sub> dispergiert, ohne dass es zur Ausbildung eines Gleichgewichtes zwischen Dotiermatrix und Modifier kommt. In der vorliegenden Arbeit war diese Form der Dosierung aber anlagentechnisch nicht möglich. Der Modifier wurde hier vor der Extraktion zugegeben und mit der Matrix homogen vermischt. Deswegen beeinflussten auch die oben näher erläuterten Phänomene das hier angewandte Extraktionsverfahren als zusätzliche Prozessparameter.

Als zusammenfassende Schlussfolgerung kann in der vorliegenden Arbeit, mit Ausnahme des oben beschriebenen Sachverhaltes bei Anwendung von Bleicherde und Molekularsieb, gezogen werden, dass in Gegenwart eines polaren Modifiers eine leichte Verringerung des PSM- bzw. Kontaminantengehaltes im HD-Extrakt zu beobachten ist. Dies erklärt sich dadurch, dass das überkritische CO<sub>2</sub> durch den Modifierzusatz polarer wird, verbunden mit einer Abnahme der Löslichkeit von weitgehend unpolaren Kontaminanten (Log K<sub>O/W</sub>-Werte >4). Ferner ist der Einsatz von Modifiern bei der HD-Extraktion nicht unbedingt erstrebenswert und erwünscht, weil der Extrakt in diesem Fall höhere Wasser- oder Ethanolgehalte aufweist, was einen zusätzlichen Abtrennungsschritt erfordert, durch den sich sowohl Produktionszeit als auch -kosten erhöhen. Schließlich trat dieser Effekt der Verringerung an unpolaren PSM im HD-Extrakt bei Zusatz polarer Modifier eher durch eine Verschlechterung der Löslichkeit der PSM im überkritischen CO<sub>2</sub> als durch eine Verbesserung der Adsorption an zugesetzten Adsorbentien auf. Im Fall von Extrakten aus PSM-belasteten Naturstoffen bedeutet dies, dass sich die Selektivität der Abtrennung unpolarer Inhaltsstoffe von den Rückständen durch Zusatz polarer Modifier (Wasser und Ethanol) nicht entscheidend verbessern lässt.

Die erste Versuchsserie der Hauptversuche, in der die Veränderungen des PSM-Gehaltes in den HD-Extrakten unter Zusatz unterschiedlicher Adsorbentien, ohne und mit Modifier, mit Hilfe einer PSM-dotierten Cellulosemodellmatrix analysiert wurden, erbrachte, zusammengefasst, folgende Ergebnisse:

Mit dem alleinigen Zusatz von Bleicherde, Amberlite,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch und Florisil konnten die dotierten PSM größtenteils während einer HD-Extraktion abgefangen werden und somit die PSM-freiesten Extrakte gewährleistet werden. Diese Adsorbentien wurden daher auch in der folgenden Hauptversuchsserie eingesetzt. Die spezifische Oberfläche der Adsorbentien und die Polarität der PSM sind quantitative Kenngrößen, die in der Extraktion aus Modellmatrices auf jeden Fall berücksichtigt werden sollten. Die Polarität des Adsorbens spielt dabei eher die geringere Rolle, und auch der Einsatz von Modifiern erniedrigt in den Versuchen mit der cellulosehaltigen Dotiermatrix die Wiederfindungsraten der Kontaminanten in den HD-Extrakten kaum, sondern erhöhte sie sogar in zwei Anwendungsbeispielen.

### **5.3.2 Betthöhe ausgewählter Adsorbentien - Modellmatrix**

Im Rahmen dieser Hauptversuchsreihe wurden die Betthöhen der in der vorigen Versuchsreihe erfolgreich eingesetzten Adsorbentien (Bleicherde, Florisil,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  und Amberlite XAD-16) im Extraktionsbehälter der HD-Anlage stufenweise erhöht. In allen Fällen war bei Zunahme der Adsorbensmenge eine Verringerung der relativen Gesamtausbeute zu beobachten. Trotzdem unterschieden sich dabei die Einzelausbeuten der dotierten PSM, bezogen auf die eingesetzte Adsorbensmenge.

#### **Spezifische Oberfläche (1) und Polarität der Adsorbens (2)**

Wurde die Menge an Adsorbens stark erhöht (auf bis zu 100 % der Matrixmenge), wurden die Kontaminanten bei zunehmender spezifischer Oberfläche am besten adsorbiert (Amberlite XAD-16: 89 %, Bleicherde: 71 %,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch: 51 %, Florisil: 52 %). Obwohl die spezifische Oberfläche von  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch bedingt höher als die von Florisil (350 und 300  $\text{m}^2/\text{g}$ ) ist, war die Adsorption an Florisil geringfügig höher. Dies bestätigt die vorher bereits angeführte zweitrangige Rolle der Polarität des Adsorbens.

#### **Log $K_{O/W}$ der Substanzen (3)**

Mit zunehmend hydrophobem Charakter der PSM konnte eine Senkung der Wiederfindungsrate beobachtet werden, die Stoffe wurden also besser adsorbiert – mit

Ausnahme von Amberlite XAD-16, einem nicht-ionischen, hydrophoben und quervernetzten Polymer, dessen adsorptive Eigenschaften auf seine besondere Struktur (kontinuierliche Polymerphase und kontinuierliche Porenphase; spezifische Oberfläche  $\geq 800 \text{ m}^2/\text{g}$ ; Porosität  $\geq 0,55 \text{ ml/ml}$ ) zurückzuführen sind. Da in der vorliegenden Arbeit alle adsorptiven Materialien vor der HD-Extraktion einmal HD-extrahiert wurden, um eventuell vorhandene Artefakte zu entfernen, treffen für Amberlite XAD-16 hier auch die Erfahrungen von Domingo et al. (2001 [192]) zu. Diese Autoren führten bei der HD-Extraktion mit anschließender Adsorption an  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , Kieselgel und Amberlite ebenfalls einen Vorreinigungsschritt der Adsorbentien mittels HD-Extraktion durch und beobachteten nach der HD-Reinigung Strukturveränderungen an Amberlite, was bei Kieselgel und  $\text{Al}_2\text{O}_3$  nicht der Fall war. Diese Strukturänderungen wurden durch eine Vergrößerung der Poren und der spezifischen Oberfläche hervorgerufen und von den Autoren durch Schäumungseffekte und anschließende Reorganisation der inneren Struktur sichtbar gemacht. Von dieser Arbeitsgruppe wurde auch eine Adsorption von fluidem  $\text{CO}_2$  an Amberlite beobachtet, was dem Adsorbens insgesamt einen noch unpolaren Charakter verleiht. All dies erklärt, warum in der vorliegenden Arbeit eine deutliche Abnahme der Adsorption polarer PSM (z. B. Malathion,  $\text{Log } K_{\text{O/W}} = 2,89$ ; Adsorptionsrate 36%) im Gegensatz zu der stark unpolaren Kontaminanten (z. B. PCB-180,  $\text{Log } K_{\text{O/W}} = 8,00$ ; Adsorptionsrate 95 %) an Amberlite XAD-16 beobachtet wurde (vgl. Anhang, Tab. 12 auf S. A-6). Auch bei  $\text{Al}_2\text{O}_3$  basisch konnte keine deutliche Steigerung der Wiederfindungsrate, bezogen auf die Polarität der Adsorbate, festgestellt werden.

#### **Polarität der Modifier (4)**

Bei geringen Mengen an Adsorbens ergab die Wasserzugabe eine höhere Wiederfindungsrate, doch mit zunehmender Betthöhe des Adsorbens wurde dieser Effekt wieder kompensiert. Wahrscheinlich beeinflussten zwei Phänomene diesen Effekt: die oben bereits erörterte Verteilung zwischen dem Cellulose-Wasser(Modifier)-Komplex (Chiou et al., 2001 [188]) und die Belegung der aktiven polaren Zentren des Adsorbens durch den Modifier Wasser. Diese Zentren sind nicht mehr verfügbar und steigern die Hydrophobizität des Adsorbens (Probst, 1994 [198]). Eine zunehmende Adsorbensbetthöhe bedeutete deshalb eine größere Chance, unpolare Stoffe aus dem Lösungsmittel zurückzuhalten. Knez und Novak (2001 [193]) beobachteten sehr gute Wasseradsorption an hochporösem Kieselgel und  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Berger erklärte diese Beobachtung dadurch (1997 [70]), dass ein Modifier schnell von der stationären Phase adsorbiert wird und dabei deren Eigenschaften und Polarität ändern kann.

Ein wichtiges Ergebnis aller bisherigen Versuchsreihen mit PSM-dotierter Modellmatrix unter Zusatz von Adsorbentien im Rahmen der vorliegenden Arbeit ist, dass zwischen den Wiederfindungsraten der dotierten PSM im HD-Extrakt und der eingesetzten Adsorbensmenge kein lineare Korrelation besteht. Wie sich deutlich im Fall von Amberlite XAD-16 beobachten liess, bewirkten oft kleine Mengen an Adsorbens eine höhere Abnahme des Kontaminantengehaltes im Extrakt. Da eben wenig Ergebnisse aus Einzelversuchen grundsätzlich nicht extrapolierbar sind, ist die möglichst detaillierte experimentelle Ermittlung solcher Extraktionskurven, die in der Literatur leider sehr selten zu finden ist, eine unabdingbare Voraussetzung zur Ableitung von Schlussfolgerungen.

### 5.3.3 Hauptversuche mit *Capsicum frutescens* – HD-Extrakte von Chili

In der dritten Hauptversuchsserie wurden die vier Adsorbentien Bleicherde, Amberlite XAD-16, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch und Florisil bei der HD-Extraktion von Chili zu 100 % zugesetzt, basierend auf den Ergebnissen mit der dotierten Modellmatrix. Bleicherde zeigte in diesem Fall die höchste Adsorption von PSM (91±5 %), adsorbierte aber auch ca. 99 % des wichtigsten Inhaltsstoffes Capsaicin (durch HPLC-Analyse nicht mehr nachweisbar). Ähnliche Ergebnisse wurden mit den anderen Adsorbentien gefunden. Zwar wurden die PSM teilweise entfernt, aber der Verlust an Extrakt war zu hoch, um das Verfahren wirtschaftlich in der Praxis einsetzen zu können. Dieses negative Ergebnis wurde in erster Linie den hohen spezifischen Oberflächen dieser Adsorbentien zugeschrieben. Mit einer *dotierten Modellmatrix* wurden jedoch, verglichen mit realen Proben, andere Resultate erzielt. Auch Hawthorne et al. (1993[55]) konnten bei einem solchen Vergleich deutliche Unterschiede feststellen. Dennoch liefert ein derartiges Modell laut Hawthorne eine prinzipielle Vorstellung vom Verhalten des jeweiligen Systems und sollte stets durchgeführt werden.

Bis jetzt wurde die Partikelgröße als Kenngröße nicht in die Untersuchungen einbezogen. Doch im Fall der hier neu als Adsorbentien einbezogenen, silikathaltigen Substanzen der Aerosil-Gruppe, die geringe Partikelgrößen und mittlere spezifische Oberflächen besitzen, stellte sich heraus, dass die Partikelgröße eine entscheidende Rolle bei der Eliminierung der PSM spielen kann. Durch diese strukturellen Eigenschaften kann sich das CO<sub>2</sub> besser im Adsorbensbett verteilen und präferierte Kanalbildungseffekte können vermieden werden. Bei dem in dieser Arbeit eingesetzten, PSM-belasteten Chilipulver besitzen die Capsaicinmoleküle

(Scharfstoffe) im Vergleich zu den PSM das geringste Molekulargewicht und sind ausserdem lipophiler bzw. unpolarer.

Bei der HD-Extraktion der pflanzlichen Matrix wurde das überschichtete Adsorbens im Extraktor mit Extraktstoffen gesättigt. Die einzelnen Substanzen mussten untereinander konkurrieren und der Einfluss der Wechselwirkung Adsorbens-Adsorbat nahm zu. Hawthorne et al. [55] beobachteten bei der HD-Extraktion aus pflanzlichem Material einen ähnlichen Effekt und begründeten ihn mit der sogenannten „konkurrierenden Adsorption“, bei der die Extrahierbarkeit manchmal von physikalischen Barrieren beeinflusst wird, z..B. einem Verstopfen der Mikroporen an den Oberflächen. Da die Verstopfungen auslösende Substanz im Verlauf der Extraktion zunächst beseitigt werden muss, damit das Lösungsmittel die gewünschten Inhaltsstoffe erreichen kann, entsteht eine Hemmung des erwünschten Extraktionseffektes.

Dieses Verhalten konnte in den Versuchen mit Kieselgel und Florisil bestätigt werden. Bei Abnahme des Wassergehaltes im Adsorbens sanken die PSM-Ausbeuten (Erhöhung der Adsorption dieser unpolaren Substanzen an dem Adsorbens), doch die extrahierte Inhaltsstoffmenge blieb nahezu unverändert. Bei der Extraktion mit einer realen Matrix stellten Gómez-Ariza et al. (2002 [199]) fest, dass Kieselgel unpolare Kontaminanten besser adsorbiert als Florisil.

Ein adsorptiv wirkendes Material in einem ähnlichen Polaritätsbereich wie die dotierten PSM, jedoch etwas unpolarer als die Wirkstoffe, ist Aerosil R 972 (spez. Oberfläche:  $130 \text{ m}^2/\text{g}$ ). Dieses Material wird aus Aerosil 130 mit identischer spezifischer Oberfläche, jedoch unterschiedlicher Polarität, hergestellt. Die irreversible Ersetzung der Silanolgruppen durch Methylgruppen verleiht Aerosil R972 seinen unpolaren Charakter.

Ein herausragendes Ergebnis der vorliegenden Arbeit war die Ausarbeitung eines HD-Extraktionsverfahrens für PSM-belastete Chiliprobe unter Zusatz von Aerosil R972 als Adsorbens. Damit konnte bei Erhaltung von über 85 % der Extraktausbeute (bezogen auf Extraktmenge ohne Zusatz von Aerosil R972) die PSM-Belastung im gewonnenen HD-Extrakt um ca. 90 % verringert werden. Dieses Verfahren ist zudem besonders umweltfreundlich, da dieses Adsorptionsmittel regeneriert werden kann. Weil mit diesem Verfahren nahezu PSM-

freie HD-Extrakte hergestellt werden können, erspart es dem Betreiber industrieller HD-Anlagen das Risiko des Rohstoffmangels bei Anlieferung belasteten Materials.

### 5.3.4 Hauptversuche mit *Humulus lupulus* L. – HD-Extrakte von Hopfen

PSM-belasteter Hopfen wurde deswegen als Extraktionsmatrix ausgewählt, weil hier mittel- bis unpolare Inhaltsstoffe von polareren PSM befreit werden sollten. Dies entspricht der Umkehrung der Ausgangssituation von belastetem Chilipulver vor der HD-Extraktion.

Im Fall von Hopfen waren also die Hauptkontaminanten eher polare Stoffe (Log  $K_{O/W}$  = 2,94 für Myclobutanil [117] und 2,20 für Methidathion [105]) und die Hopfeninhaltsstoffe, Lupulon und Humulon, besaßen Log  $K_{O/W}$ -Werte im Bereich von 2,81 bis 4,8). Die beiden letztgenannten Log  $K_{O/W}$ -Werte wurden nach der Methode von Marrero und Gani (2002 [194]) berechnet. Die gewonnenen HD-Extrakte ohne Zusatz von Adsorbentien zeigten starke Schwankungen in der Ausbeute ( $4,1 \pm 0,8$  g/50 g Rohhopfen), was in erster Linie auf die hohe Viskosität dieser HD-Extrakte zurückzuführen ist. Die Dimensionierung des Rohrleitungssystems („Piping“) und die Größe der HD-Laboranlage waren für diese Art der Extraktion weniger geeignet.

Erwartungsgemäß stiegen die Ausbeuten für Methidathion und Myclobutanil in der vorliegenden Arbeit mit Erhöhung der Polarität der Modifier. Bei Zugabe von Ethanol und Wasser als Modifier fanden auch Nemoto et al. (1997 [59]), dass polare PSM wie Myclobutanil besser extrahiert werden. Doch ohne Modifierzusatz wurde für Myclobutanil in der vorliegenden Arbeit eine noch höhere Ausbeute erreicht. Dies widerspricht den Erwartungen. Erklärungen dafür sind bei Ling (1999 [89]) und McNally et al. (1988 [65]) zu finden. Bezogen auf die Auswahl eines Modifiers erzielten die letztgenannten Autoren z. B. höhere Mengen an polaren Extraktinhaltsstoffen mit Ethanol als mit Methanol, obwohl letzteres polarer ist. Dies wurde dadurch erklärt, dass die Polarität des modifizierten überkritischen Fluides stets optimiert werden sollte, und zwar spezifisch für den jeweils darin zu lösenden Inhaltsstoff. Die erstgenannten Autoren stellten auch fest, dass bei realen Extraktionsmatrices bereits die vorhandene Innenfeuchtigkeit als Modifier ausreicht und die zusätzliche Zugabe eines polaren Lösungsmittels als Modifier eher einen umgekehrten Effekt bewirken kann.



Aktivkohle zeigte bei HD-Extraktionen von Hopfen geringe Eliminierungsraten beider PSM (Methidathion 33 % und Myclobutanil 7 %; vgl. Tab. 47), jedoch war auch die Inhaltsstoffausbeute äußerst niedrig (ca. 20 %, vgl. Tab. 46). Dieses Adsorbens wirkte hier auf den unpolaren Extrakt selektiv, jedoch nicht auf die polaren PSM. Auch Kieselgel und Florisil zeigten große Extraktverluste (Inhaltsstoffverluste > 60 %).

Die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren wurden stärker zurückgehalten, je größer die spezifische Oberfläche des Adsorbens war. Doch auch die Polarität des Adsorbens spielte bei der Extraktausbeute hier eine tragende Rolle. Bei Anwendung von unpolaren Adsorbentien wurden die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren stärker als bei Anwendung polarer Adsorbentien adsorbiert. Bei unpolaren Adsorbentien konnte ein regelrechter Sprung in der Regressionskurve beobachtet werden. Auch bei Anwendung von Ethanol als Modifier trat dieser Effekt besonders deutlich hervor. Die Zugabe polarer Modifier verursachte eine tendenzielle Verringerung der Wiederfindungsrate, doch dies war eher auf die Eigenschaft des überkritischen CO<sub>2</sub> als auf eine Veränderung der Eigenschaften des Adsorbens zurückzuführen. Je größer die spezifische Oberfläche des Adsorbens wurde, desto schlechter wurden andererseits beide PSM absorbiert. Die Zugabe von Modifiern (Wasser und Ethanol) verbesserte in den letztgenannten Fällen die Adsorption beider PSM, was wegen des polaren Charakters von Methidathion und Myclobutanil (im Vergleich zu den  $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren) zu erwarten war.

Die umfangreichen Arbeiten von Forster et al. (1989 [195]) erbrachten zu der vorliegenden Arbeit vergleichbare Ergebnisse, allerdings nur durch Einschaltung eines zusätzlichen Extraktionsschrittes. In der Arbeitsgruppe von Forster wurden z. B. HD-Extrakte von Hopfen sehr gut an Aktivkohle adsorbiert. Große Extraktverluste wurden auch bei Einsatz von Kieselgur und Kieselgel beobachtet, wenn die CO<sub>2</sub>-Extraktion unter vergleichbaren Bedingungen wie in der vorliegenden Arbeit durchgeführt wurde. Auch die Eliminierungsraten von PSM waren gering. Doch bei Veränderung der Extraktionsbedingungen (Druck, Temperatur) konnten die oben genannten Autoren PSM selektiv extrahieren und so einen schwach belasteten Extrakt erhalten, was jedoch nur durch einen zusätzlich notwendigen Extraktionsschritt gelang. Ein solches Verfahren wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht untersucht, weil die Zielvorgabe war, die Eliminierung von PSM *simultan* mit der Extraktion der Inhaltsstoffe ( $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren) zu erreichen.

Die besten Ergebnisse wurden bei Bleicherdezusatz erzielt. So wurden bei Extraktausbeuten von mehr als 55 % an  $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren mehr als 84 % Myclobutanil und 97 % Methidathion

eliminiert. Auch Kieselgel ergab sehr gute Eliminierungsraten von jeweils 95 und 75 % an Myclobutanil und Methidathion, doch der Verlust an erwünschten Inhaltsstoffen (Iso-alpha-Säuren) überstieg dabei 50 %. Die in der vorliegenden Arbeit erzielten Ergebnisse mit Bleicherde waren mit den Ergebnissen von Forster et al. (1989 [195]) vergleichbar, jedoch mit dem Unterschied, dass nur ein Extraktionsschritt benötigt wurde. Zudem ist das in dieser Arbeit neu entwickelte Verfahren effektiver und kostengünstiger, da keine Stillstandszeiten in der Produktion auftreten oder, zu deren Vermeidung, eine zusätzliche Extraktionsanlage benötigt wird.

## 5.4 Praktische Anwendung und Ausblick

Da viele Erzeugerländer, in denen spezielle pflanzliche Rohstoffe (Gewürze und Heilkräuter) angebaut werden, oft schon starke Rückstandsbelastungen in ihren Böden, Gewässern und in der Atmosphäre aufweisen und da PSM dort wegen häufigen Schädlingsbefalls nach wie vor in hohen Dosen eingesetzt werden, ist die Gefahr des Einkaufs einer mit PSM belasteten Rohstoffcharge sehr hoch.

Wenn eine stark mit PSM oder anderen Kontaminanten (z. B. PCBs) belastete Rohware von den Extraktionsfirmen in dem Industriesektor „Gewinnung von Naturstoff-, Farbstoff- und Gewürzextrakten mittels Hochdruckextraktion“ im deutschen und europäischen Raum aufgrund der dort geltenden lebensmittelrechtlichen Bestimmungen nicht angenommen werden kann, entsteht für den betroffenen Industriezweig in solchen Fällen mitunter das akute Problem des Rohstoffmangels. Genügende Mengen unbelasteter Rohware sind auf dem Weltmarkt dann durch einen alternativen Einkauf oder aufgrund der bestehenden Lieferverträge oft nicht verfügbar. Dies ist zwangsläufig mit hohen wirtschaftlichen Verlusten für diese Firmen verbunden, da sie dann keine entsprechenden HD-Produkte fertigen und auf den Markt bringen können. Die wichtigsten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, z. B. die Ausarbeitung des einstufigen HD-Extraktionsverfahrens für belastete Chiliprüben unter Zusatz von Aerosil R972 als Adsorbens (Verringerung der PSM-Belastung um ca. 90%) oder für belastete Hopfenproben (Eliminierung von mehr als 95 % Myclobutanil und 75 % Methidathion) könnten solchen Firmen einen wichtigen verfahrenstechnischen Vorteil verschaffen und ihre Konkurrenzfähigkeit durch die Gewährleistung einer kontinuierlichen Produktion

---

preisgünstiger unbelasteter Ware steigern. Der in der vorliegenden Arbeit entwickelte Extraktionsprozess für belastete Hopfenproben könnte z. B. auch für die Wellness-Industrie hochinteressant werden, da der Konsument mittlerweile sehr gesundheitsbewusst ist und auch Hopfenextrakte wegen ihrer heilenden Eigenschaften nachgefragt werden. Die Absicherung für den Kunden, dass diese Extrakte dank dieses entwickelten Verfahrens praktisch rückstandsfrei sind, sollte erhebliche Vorteile im Marketing erbringen.

## 6 ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, ein HD-Extraktionsverfahren unter den Bedingungen der bereits seit Jahren industriell durchgeführten CO<sub>2</sub>-Extraktionen zur Gewinnung von Wirk- und Wertstoffen aus pflanzlichen Rohstoffen so zu modifizieren, dass die im Rohmaterial enthaltenen Pflanzenschutzmittel und Kontaminanten während dieses Extraktionsverfahrens entfernt werden, ohne dabei Qualitätseinbußen des Extraktes hinzunehmen. Deswegen wurden einige Parameter als weitgehend konstant übernommen, beispielsweise die von der Gewürzindustrie angewandten Extraktionsparameter (Druck, Temperatur), das Behältervolumen und die Bulkdichte. Die experimentellen Untersuchungen zur Lösung dieser Aufgabe wurden in drei Teilabschnitten durchgeführt:

- (1) Entwicklung der analytischen Messmethoden (GC/ECD-Analyse, HPLC-Analyse) einschließlich der dafür notwendigen Probenaufarbeitung der HD-Extrakte zur Bestimmung von Rückständen und Wirkstoffen in den gewonnenen HD-Extrakten.
- (2) Entwicklung der Hochdruckextraktion mit Hilfe einer mit Pflanzenschutzmitteln (PSM) dotierten Modellmatrix unter zusätzlichem Einsatz von adsorptiven Materialien zur Eliminierung von PSM sowie von lebensmittelrechtlich unbedenklichen Modifiern (Ethanol und Wasser), um sowohl Wertstoffausbeuten als auch Eliminierungsraten der PSM zu verbessern.
- (3) Umsetzung der theoretisch erarbeiteten Extraktionskinetik bei der Hochdruckextraktion von zwei ausgewählten, stark mit PSM belasteten pflanzlichen Rohstoffen: Chili- und Hopfenpulver.

Im Teilabschnitt (1) wurde die Standardmethode (DFG S19-Methode) für die analytische GC/ECD-Bestimmung von Pflanzenschutzmittelrückständen in den im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen HD-Extrakten aus *Capsicum frutescens* und *Humulus lupulus* L. spezifisch optimiert. Das erzielte Ergebnis war eine saubere modifizierte Cleanup-Methode, die nach über 500 GC/ECD-Analysen keine merkliche Beeinträchtigung der Trennleistung der Kapillarsäule verursachte.

Im Teilabschnitt (2) konnten zwei Prozesskenngrößen ermittelt werden, welche die HD-Extraktionsverfahren aus einer dotierten Cellulose-Modellmatrix mit anschließender Adsorption entscheidend charakterisieren: die spezifische Oberfläche der dabei eingesetzten

Adsorbentien und die Polarität der Adsorbate (PSM). Die Polarität der Adsorbentien spielte dabei lediglich eine zweitrangige Rolle. Je größer die spezifische Oberfläche war, desto geringer wurden die Wiederfindungsraten der PSM. Je hydrophober die PSM waren, desto geringer fielen die Wiederfindungsraten aus. Die Zugabe eines polaren Modifiers (Ethanol und Wasser) verursachte ebenfalls eine Minderung der Wiederfindungsraten an PSM. Wurde die Menge an Adsorbens durch Überschichtung der dotierten Cellulose-Modellmatrix im Extraktor der HD-Anlage schrittweise erhöht, war bei geringer Zugabe von Adsorbens ein schneller Abfall der Wiederfindungsrate, jedoch bei hohen Zusatzmengen ein deutlich geringerer Abfall der Wiederfindungsrate zu beobachten.

Im Teilabschnitt (3) spielten offensichtlich kompetitive Effekte zwischen den unterschiedlichen Extraktinhaltsstoffen und den dotierten PSM eine tragende Rolle. Der Parameter „spezifische Oberfläche“ verlor hier gegenüber der Polarität des Adsorbens an Bedeutung. Die Stoffe konkurrierten um einen Platz im Adsorbens und die Ergebnisse aus Teil (2) ließen sich deshalb nicht auf reale, stark PSM-belastete Extraktionsmatrices in diesem Teilabschnitt übertragen. Im Rahmen der Extraktionsversuche mit *Capsicum frutescens* wurde eine neue Kenngröße als systembestimmend beobachtet, die Korngröße des Adsorbens. Geringe Korngrößen verbesserten die Verteilung des fluiden CO<sub>2</sub> und bewirkten eine Erhöhung der ungesättigten Kontaktfläche, was zu einer Verbesserung der PSM-Eliminierung führte.

Die besten Erfolge bei der HD-Extraktion von stark belastetem *Humulus lupulus* L. wurden bei der Eliminierung von Myclobutanil mit 10 % Zusatz an Bleicherde oder Kieselgel (bezogen auf die Extraktionsmatrixmenge) und 4,3 % Modifier (jeweils Ethanol oder Wasser, bezogen auf die CO<sub>2</sub>-Menge) erzielt sowie bei Methidathion mit 35 % Bleicherde (Modifier: Wasser) und 10 % Bleicherde (Modifier: Ethanol). Bereits eine geringe Zusatzmenge dieser Adsorptionsmittel bewirkte einen hohen Bitterstoff- und niedrigen PSM-Gehalt in den gewonnenen HD-Extrakten. Der Zusatz von Bleicherde ermöglichte demnach eine Reduzierung des Myclobutanilrückstandes um 84% und um 97 % bei Methidathion (bezogen auf die Rückstandsmengen beider PSM in HD-Kontrollextrakten ohne Bleicherdezusatz), und dies bei einer Ausbeute von mehr als 55 % an Wertstoffen ( $\alpha$ - und  $\beta$ -Säuren) im HD-Extrakt. Die dabei angewandten Extraktionsparameter waren: Extraktor, 35 °C und 280 bar; Separator, 30 °C und 45 bar; CO<sub>2</sub>-Durchfluss 307 l/h; Extraktionsdauer 45 Minuten sowie Matrixmenge 50 g.

Bei der Extraktion von *Capsicum frutescens* konnten ausgezeichnete Ergebnisse bei Zusatz von 15 g Kieselgur, 50 g Mullite M72 und allen als Adsorptionsmittel eingesetzten Aerosil-Sorten (Nr. 130, Nr. 380 und Nr. R972; Zusatz jeweils 5 g, 8,3 g und 11 g) erzielt werden. Mit allen konnte ein sehr großer Anteil der PSM aus dem Extrakt eliminiert werden. Besonders beim Einsatz von Aerosil R972 wurden 90 % aller PSM und Kontaminanten aus dem Extrakt entfernt. Der nahezu PSM-freie Extrakt enthielt über 85 % der Wertstoffausbeute normaler HD-Kontrollextrakte ohne Aerosilzusatz und stellt somit eine hochinteressante Möglichkeit für ein in der Industrie einsetzbares Verfahren dar. Die dabei angewandten Extraktionsparameter waren: Extraktor, 60 °C und 350 bar; Separator, 25 °C und 45 bar; CO<sub>2</sub>-Durchfluss 200 l/h; Extraktionsdauer 75 Minuten sowie Matrixmenge 50 g.

Bei zukünftigen Forschungsarbeiten in diesem Themenbereich „Entwicklung von HD-Extraktionsverfahren zur Eliminierung von PSM aus belasteten Rohstoffmatrices ohne Wertstoffverlust“ sollte die Skalierung der Ergebnisse, die mit den unterschiedlichen Geometrien verschiedener HD-Anlagen (Labor-, Pilot- und Industrieanlagen) erzielt werden können, systematisch getestet werden. Darüber hinaus ist eingehender zu untersuchen, inwieweit der Effekt der höheren Eliminierungsraten von PSM bei Zugabe von geringen Mengen bestimmter Adsorbentien und die Regenerierbarkeit dieser bei der HD-Extraktion eingesetzten Adsorbentien zur Entwicklung eines insgesamt möglichst wirtschaftlichen Extraktionsverfahrens beitragen können.

## 7 LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Kumari, B.; Madan, V. K.; Kumar, R.; Kathpal T.S., *Environmental Monitoring and Assessment* **74**, 2002, 263-270.
- [2] Stahl, E.; Quirin, K.-W.; Gerard D., *Verdichtete Gase zur Extraktion und Raffination*, Springer-Verlag, 1987.
- [3] Screenivasa Rao Amaraneni, *J. Sci. Food Agric.* **82**, 2002, 918-923.
- [4] Singh, B.; Gupta, A., *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **68**, 2002, 747-751.
- [5] Rajaraman, K.; Narayanan, C. S.; Mathew, A. G., *Food Industry Review* **3**, April/June 1984.
- [6] Koinecke, A.; Kreuzig, R.; Bahadir, M., *J. Chromatogr. A* **786**, 1997, 155-161.
- [7] [www.infoplease.com/countries.html](http://www.infoplease.com/countries.html)
- [8] van der Velde, E.G.; Dietvorst, M.; Swart, C.P.; Rambal, M.R.; Koostra, P.R., *J. Chromatogr. A* **683**, 1994, 167-174.
- [9] Janda, V.; Steenbeke, G.; Sandra, P., *J. Chromatogr.* **479**, 1989, 200-205.
- [10] Levy, J.M.; Dolata, L.A.; Ravey, R.M.; Storzynsky, E.; Holowezak, K.A., *J. High Resolut. Chromatogr.* **16**, 1993, 368-371.
- [11] Langenfeld, J.J.; Hawthorne, S.B.; Miller, D.J.; Pawliszyn, J., *Anal. Chem.* **66**, 1994, 909-916.
- [12] Fahmy, T.M.; Paulaitis, M.E.; Johnson, D.M.; McNally, M.E.P., *Anal. Chem.* **65**, 1993, 1462-1469.
- [13] Deutsche Forschungsgemeinschaft, DFG S19-Methode, Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln, Mitteilung VI der Senatskommission für Pflanzenschutz-, Pflanzenbehandlungs- und Vorratsschutzmitteln, Methodensammlung der Arbeitsgruppe Analytik, 1-11 Lieferung VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim. 1991
- [14] Amajuoyi, I., Elimination of pesticide residues during supercritical carbon dioxide extraction of spices, Dissertation, Technische Universität München, 2001.
- [15] Förg, A., Eliminierung von Pflanzenschutzmittelrückständen aus Lebensmitteln mittels Kombination von On-line-Chromatographie, Dissertation, Technische Universität München, 2002.
- [16] Förg, A.; Parlar H.; Weinreich B.; Grüner S.; Otto F., *CIT* **8**, 2001, 1072-1075.

- [17] Grüner S.; Otto F.; Weinreich B.; Spezialreport Adalbert-Raps- Stiftung Kulmbach, 2000.
- [18] Deutsche Forschungsgemeinschaft, Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln, 11. Lieferung, Methode S19, VCH Verlagsgesellschaft Weinheim, 1991.
- [19] Gottwald, W., GC für Anwender, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 1995.
- [20] Juhler, R. K., J. Chromatogr. A **786**, 1997, 144-143
- [21] Dellacassa, E., Journal of Essential Oil Research **11**, 1999, 464-469.
- [22] Filek, G.; Lindner W., Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung **202**, 1996, 19-23.
- [23] Okihashi, M., Journal of the food hygienic society of Japan **38**, 1996, 16-21.
- [24] Vreuls, J. J., J. Chromatogr. A **740**, 1996, 274-286.
- [25] Specht, W.; Tillkes, M., Gaschromatographische Bestimmung von Rückständen an Pflanzenbehandlungsmitteln nach Clean-up über Gelchromatographie und Mini-Kieselgel-Säulenchromatographie, 1. Mitteilung: Organochlor-Pflanzenbehandlungsmittel in Tabak und Tabakerzeugnissen, Beiträge zur Tabakforschung International **10** (1), 1979.
- [26] Specht, W.; Tillkes, M., Method for gas-chromatographic determination of crop protectant residues after cleanup by gel permeation chromatography and silica gel mini-column chromatography, 2<sup>nd</sup> Report: Determination of the fungicides bitertanol, fluotrimazol, fuberidazol, imazalil, triadimefon and triadimenol in plants and soil; Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer **33**, 1980.
- [27] Lehotay, S. J., J. Chromatogr. A **785**, 1997, 289-312.
- [28] Lehotay, S. J.; Lee, C. H., J. Chromatogr. A **785**, 1997, 313-327.
- [29] Kudian, A.L.; Starks, A.N., Journal of Food Science **67** (3), 2002, 956-962.
- [30] Meyer, V., Praxis der Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (Kapitel 20), in Analytische HPLC, 7. Auflage, Otto Salle Verlag, Frankfurt, 1992.
- [31] Taylor, L., Matrix Problems in Extraction Strategies (Kapitel 6), in Supercritical Fluid Extraction, 1. Ed, John Wiley & Sons, Inc., 1996.
- [32] Smith, R., "Supercritical fluids in separation science – the dreams, the reality and the future", Review, J. Chromatogr. A **856**, 1999, 83-115.
- [33] Bøwadt, S.; Hawthorne, S. B., J. Chromatogr. A **703**, 1995, 549-571.
- [34] Bishop, L. R., Hops (Section 7), Method 7.7, 2. Ed., in Analytica-EBC, European Brewery Convention, Elsevier Amsterdam, 1963.



- [35] Berglöf, T.; Jonsäll, G.; Markides, K. E., Selectivity in Supercritical Fluid Extraction (SFE): Recovery of Pesticides from Model Matrices. S. 8 Manuscript in: Berglöf T., Supercritical fluid Extraction (SFE) in Environmental Analysis: Total extraction and study of pesticide retention in soil, doctoral dissertation, Acta Universitatis Agriculturae Sueciae, 1997.
- [36] Stahl, E.; Quirin, K.W.; Gerard, D., Verdichtete Gase zur Extraktion und Raffination, Springer Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 1987.
- [37] Belitz, H.-D.; Grosch, W., Lehrbuch der Lebensmittelchemie, 4. Auflage, Springer Verlag, Heidelberg, 1992.
- [38] Sattler, K., Termische Trennverfahren, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 2. Auflage, 1995.
- [39] Wark, K., Termodinámica, 5a. Edición, Mc-Graw Hill, Mexico, 1991.
- [40] Tucker, S. C., Chemical Reviews **99** (2), 1999, 391-418.
- [41] Clifford, T., Fundamentals of Supercritical Fluids, 1. Edition, Oxford University Press, Inc., New York, 1999.
- [42] Berglöf, T., "Supercritical Fluid Extraction (SFE) in Environmental Analysis, Total extraction and study of pesticide retention in soil", Acta Universitatis Agriculturae Sueciae – Agraria 70, Doctoral thesis, Department of Environmental Assessment, Swedish University of Agricultural Sciences, 1997.
- [43] Buchwald, A., Simulation von Hochdruckextraktionsverfahren zur Entfernung organischer Verbindungen aus kontaminierten Böden, Dissertation, Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg, 2001.
- [44] Taylor, L., Supercritical Fluid Extraktion, 1. Auflage, Wiley-Interscience Publication, New York, 1996.
- [45] Hauthal, W., Chemosphere **43**, 2001, 123-135.
- [46] Luque de Castro, M. D.; Valcárcel, M.; Tena, M. T., Analytical Supercritical Fluid Extraction, Springer-Verlag, Heidleberg, 1994.
- [47] Anderson, M. B. O.; Demirbüker, M.; Blomberg, L., J. Chromatogr. A **785**, 1997, 337-343.
- [48] Chester, T. L.; Pinkston; J. D.; Raynie, D. E., Anal. Chem. **68** (12), 1996, 487R-514R.
- [49] Lehotay, S., J. Chromatogr. A **785**, 1997, 289-312.
- [50] Shahamat, U.; Khan, J. Agric. Food Chem **43**, 1995, 1718-1723.

- [51] Fiddler, W.; Pensabene, J. W.; Gates, R. A.; Donoghue, D. J., *J. Agric. Food Chem.* **47**, 1999, 206-211.
- [52] Janda, V.; Steenbeke, G.; Sandra, P., *J. Chromatogr.* **479**, 1989, 200-205.
- [53] Berdeaux, O. ; Alencastro, L. F.; Grandjean, D.; Tarradellas, J., *Intern. J. Environm. Anal. Chem.* **56**, 1994, 109-117.
- [54] Holleman, A. F.; Wiberg, E., *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, 81. -90. Auflage, Walter de Gruyter, Berlin, 1976.
- [55] Hawthorne, S. B.; Miller, D. J.; Burford, M. D.; Langenfeld, J. J.; Eckert-Tilotta, S.; Louie, P. K., *J. Chromatogr.* **642**, 1993, 301-317.
- [56] Hawthorne, S. B.; Yang, Y.; Miller, D., *Anal. Chem.* **66**, 1994, 2912.
- [57] Bøwadt, S.; Hawthorne, S. B., *J. Chromatogr. A* **703**, 1995, 549-571.
- [58] Koinecke, A.; Kreuzig, R.; Bahadir, M., *J. Chromatogr. A* **786**, 1997, 155-161.
- [59] Nemoto, S., Sasaki, K.; Toyoda, M., Saito, Y., *J. Chromatogr. Sci.* **35**, 1997, 467-477.
- [60] Ashraf-Khorassani, Taylor L. T., *Am. Lab.*, Dez 1995, 23-28.
- [61] Khan, S., *J. Agric. Food Chem.* **43** (6), 1995, 1718-1723.
- [62] Barnabas, I. J., Dean, J. R., *Analyst* **119**, 1994, 2381-2394.
- [63] *General Methods for Organochlorine and Organophosphorus Pflanzenschutzmitteln*, AOAC Methodensammlung, 1984.
- [64] *Deutsche Forschungsgemeinschaft; DFG S19-Methode, Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln*, Mitteilung VI der Senatskommission für Pflanzenschutz-, Pflanzenbehandlungs- und Vorratsschutzmitteln, Methodensammlung der Arbeitsgruppe "Analytik", 1.-11. Lieferung VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 1991.
- [65] McNally, M. E.; Wheeler J. R., *J. Chromatogr.* **447**, 1988, 53-63.
- [66] McNally, M. E, *Journal of AOAC* **79** (2), 1996, 380-387.
- [67] Van der Velde, E. G.; de Haan, W.; Liem, A. K. D., *J. Chromatogr* **626**, 1992, 135-143.
- [68] Howard, A. L.; Braue, C.; Taylor, L. T., *J. Chromatogr. Sci.* **31**, 1993, 323.
- [69] Hopper, M. L.; King, J. W., *J. AOAC* **74**, 1991, 661.
- [70] Berger, T. A., *J. Chromatogr. A* **785**, 1997, 3-33.
- [71] Noble, A., *J. Chromatogr.* **642**, 1993, 3-14.
- [72] Bøwadt, S.; Johansson, B.; Pelussio, F.; Larsen, B. R.; Rovida, C., *J. Chromatogr. A* **662**, 1994, 424-433.

- [73] Langenfeld, J. J.; Burford, M. D.; Hawthorne, S. B.; Miller, D. J., *J. Chromatogr.* **594**, 1992, 297-307.
- [74] Lee, H.; Peart, T.; Hong-You, R. L.; Gere, D., *J. Chromatogr. A* **653**, 1993, 83-91.
- [75] Paschke, T.; Hawthorne, S. B.; Miller, D. J., *J. Chromatogr.* **609**, 1992, 333-340.
- [76] Janda, V.; Bartle, K. D.; Clifford, A. A., *J. Chromatogr.* **642**, 1993, 289-299.
- [77] Clifford, A. A.; Burlord, M. D.; Hawthorne, S. B.; Langenfeld, J. J.; Miller, D. J., *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **91** (9), 1995, 1333-1338.
- [78] Lehotay, S. J., *J. Chromatogr. A* **785**, 1997, 289-312.
- [79] Smith, R. W., *J. Chromatogr. A* **856**, 1999, 83-115.
- [80] Lee, M. L.; Markides, K. E., *Analytical Supercritical Fluid Chromatography and Extraction, Chromatography conferences, Inc. Provo, Utah, 1990.*
- [81] Jouw, T. H.; Jentoft, R. E., *J. Chromatogr. Rev.* **68**, 1972, 303.
- [82] Luque de Castro, M. D.; Jiménez-Carmona, M. M., *Trends in Analytical Chemistry* **19** (4), 2000.
- [83] Hansen, K. J., Cravens, E., Sievers, R. E., Hansen, B. N., *Anal. Chem.* **67**, 1995, 3541-3549.
- [84] Langenfeld, J. J.; Burford, M. D.; Hawthorne, S. B.; Miller, D. J., *J. Chromatogr. A* **594**, 1992, 297-307.
- [85] Seidel, V.; Lindner, W., *Intern. J. Environ. Anal Chem.* **59**, 1994, 1-13.
- [86] Rein, J.; Cork, C. M.; Furton, K. G., *J. Chromatogr.* **545**, 1991, 149.
- [87] Furton, K. G.; Lin, Q., *J. Chromatogr. Sci.* **31**, 1993, 201.
- [88] Lino, C. M.; Noronha da Silveira, M. I., *J. Chromatogr. A* **769**, 1997, 275-283.
- [89] Ling, Y. C.; Teng, H. C.; Cartwright, C., *J. Chromatogr. A* **835**, 1999, 145-157.
- [90] Hopper, M. L., *J. Chromatogr. A* **840**, 1999, 93-105.
- [91] Hopper, M. L., *J. AOAC* **80** (3), 1997, 639-646.
- [92] King, J. W.; Johnson, J. H.; Taylor, S. L.; Orton, W. L.; Hopper, M. L., *The Journal of Supercritical Fluids* **8**, 1995, 167-175.
- [93] Burford, M. D.; Hawthorne, S. B.; Miller, D. J.; Braggins, T., *J. Chromatogr.* **609**, 1992, 321-332.
- [94] Burford, M. D.; Hawthorne, S. B.; Miller, D. J.; Braggins, T., *J. Chromatogr. A* **685**, 1994, 79-94.
- [95] Langenfeld, J. J.; Hawthorne, S. B.; Miller, D. J.; Pawliszyn, J., *Anal. Chem.* **66**, 1994, 909-916.
- [96] Reimer, G.; Suarez, A. J., *J. Chromatogr.* **699**, 1995, 253-263.

- [97] Miao, Z.; Yang, M.; Pawliszyn, J. J., *J. Chromatogr. Sci.* **33**, 1995, 493-499.
- [98] Alzaga, R.; Bayona, J. M.; Barcelo, D., *J. Agric. Food. Chem.*, **43**, 1995, 395-400.
- [99] Eller, K. I.; Lehotay, S. J., *Analyst* **122**, 1997, 429-435.
- [100] Valverde-García, A.; Fernández-Alba, A. R.; Contreras, M.; Agüera, A., *J. Agric. Food Chem.* **44**, 1996, 1780-1784.
- [101] Lehotay, S. J.; Aharonson, N.; Pfeil, E.; Ibrahim, M., *A. J. AOAC* **78** (3), 1995, 831-840.
- [102] Lehotay, S. J.; Eller, K. I., *J. AOAC* **78** (3), 1995, 821-830.
- [103] Snyder, J. L.; Grob, R. L.; McNally, M. E.; Oostdyk, T. S., *J. Chromatogr. Sci.* **31**, 1993, 183-191.
- [104] Thier, H. P.; Frehse, H., *Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1986.
- [105] Verschueren, K., *Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals*, fourth Edition, Vol 1, Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, 2001.
- [106] Bahadir, M.; Parlar, H.; Spiteller, M., *Springer Umweltlexikon*, Springer Verlag; Berlin, Heidelberg, New York, 1994.
- [107] *Industrieverband Agrar e. V., Wirkstoffe in Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln*, Physikalisch-chemisch und toxikologische Daten, 2. Auflage, 1990.
- [108] Schrader, G., *Die Entwicklung neuer insektizider Phosphorsäure-Ester*; 3. Auflage, Verlag Chemie GmbH; Weinheim, 1963.
- [109] Wegler, R., *Chemie der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel*, Band 1, Springer Verlag, Berlin, 1970.
- [110] Wegler, R., *Chemie der Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmittel*, Band 2, Springer Verlag, Berlin, 1970.
- [111] Lu, F. C., *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **21**, 1995, 352-364.
- [112] Sherma, J., *Anal. Chem.* **63**, 1991, 118R-130R.
- [113] Schattenberg, H. J.; Hsu, J. P., *J. AOAC* **75** (5), 1992, 925-933.
- [114] Witte, I.; Jähne, R.; Weinert, R.; Köbrich, K.; Jacobi, H., *Gefährdung der Gesundheit durch Pflanzenschutzmittel, ein Handbuch über Kurz- und Langzeitwirkungen*, Fischer Taschenbuch Verlag, Frankfurt am Main, 1988.
- [115] Boehncke, A.; Siebers, J.; Nolting, H.-G., *Verbleib von Pflanzenschutzmitteln in der Umwelt: Exposition, Bioakkumulation, Abbau*, Teil B, Umweltbundesamt, Forschungsbericht 89-126 05 008/02, Berlin, 1989.

- [116] Weber, C.; Balzer, W., Pflanzenschutzmittel in Nahrungsmitteln: Besonders gefährlich für Kinder, Stiftung Ökologie & Landbau, Sonderausgabe Nr. 32, 1991.
- [117] Tomlin, C. D. S., The Pesticide Manual, 12<sup>th</sup> Ed., British Crop Protection Council, 2000.
- [118] Hornsby, A. G.; Wauchope, R. D.; Herner, A. E., Pesticide Properties in the Environment, Springer-Verlag, Heidelberg, 1996.
- [119] <http://esc.syrres.com/interkow/webprop.exe?CAS=72-55-9> (SRC PhysProp Database 7.12.2001)
- [120] Koch, R., Umweltchemikalien. Physikalisch-chemische Daten, Toxizitäten, Grenz- und Richtwerte, Umweltverhalten, Dritte Auflage, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 1995.
- [121] Bliefert, C., Umweltchemie, 3. Auflage, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 2002.
- [122] European Communities, Council directive 90/642/EEC of 27 November 1990 on the fixing of/ maximum levels for pesticide residues in and on certain products of plant origin, including fruit and vegetables, Official Journal of the European Communities **L350**, 1990, 71-79.
- [123] European Communities, Council directive 97/71/EEC of 15 December 1997 amending the Annexes to Council Directives 86/362/EEC , 86/363/EEC and 90/642/EEC on the fixing of maximum levels for pesticide residues in and on cereals, foodstuffs of animal origin and certain products of plant origin, including fruit and vegetables respectively, Official Journal of the European Communities **L347**, 1990, 42-44.
- [124] European Union, Commission recommendation 1999/333/EC of 3 March 1999 concerning a co-oriented Community monitoring programme for 1999 to ensure compliance with maximum levels of pesticide residues in and on cereals and certain products of plant origin, including fruit and vegetables, Official Journal of the European Communities **L128**, 1999, 25-55.
- [125] FAO/WHO, CCPR, Guidelines on Pesticide Residue Trials to Provide Data for the Registration of Pesticides and the Establishment of Maximum Residue Limits, FAO Plant Prot. Bull. **29**, 1981, 12-27.
- [126] FAO/WHO, Food Standards Programme, Codex Alimentarius Commission, CCPR Report (1984), Alinorm A –Add. 2 Recommended National Regulatory Practices to Facilitate Acceptance and Use of Codex Maximum Limits for Pesticide Residues in Foods, Rom, 1984.

- 
- [127] BGBl. I S. 2296, 2391, Lebensmittel- und Bedarfsgegenstände-gesetz (LMBG), 6. 9. 1984.
- [128] BGBl. I S. 971, Pflanzenschutzgesetz (PflSchG), 14. 5. 1998.
- [129] BGBl. I S. 2082, Rückstands-Höchst-mengenverordnung (RHmV), 21. 10. 1999.
- [130] BGBl. I S. 1385, DDT-Gesetz, 7. 8. 1982.
- [131] BGBl. I S. 932, PCB/PCT-Abfallverordnung (PCP-V), 12. 12. 1989.
- [132] Industrieverband Pflanzenschutz e. V., Karlstr. 21, Frankfurt, Jahresberichte 1983/1984.
- [133] Mersmann, A., Thermische Verfahrenstechnik – Grundlagen und Methoden, Springer-Verlag, Heidelberg, 1980.
- [134] Copping, L. G.; Hewitt, G. H., Chemistry and Mode of Action of Crop Protection Agents, The Royal Society of Chemistry, 1998.
- [135] Industrieverband Agrar, Wirkstoffe in Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln, Physikalisch-chemische und toxikologische Daten, Chemie-Wirtschaftsförderungs-Gesellschaft, Frankfurt, 2000.
- [136] Procházka, E. Gesund leben in der Welt von heute – krank durch Pflanzenschutzmittel?, Pflanzenschutzmittel-Aktions-Netzwerk e. V., 1998.
- [137] Deutsche Forschungsgemeinschaft, Polychlorierte Biphenyle, Mitteilung XII der Senatskommission zur Prüfung von Rückständen in Lebensmitteln, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 1988.
- [138] Kurtz, D. A., Long Range Transport of Pesticides, Lewis Publishers, 1990.
- [139] Levy, H., Regional and Global Transport and Distribution of Trace Species Released at the Earth's Surface, in Long Range Transport of Pesticides, Edited by Kurt D., Lewis Publishers, 1990.
- [140] Baker, D. B.; Richards, P. R., Transport of Soluble Pesticides Through Drainage Networks in Large Agricultural River Basins, in Long Range Transport of Pesticides, Edited by Kurt D., Lewis Publishers, 1990.
- [141] Perry, A. S.; Yamamoto, I.; Ishaaya, I.; Perry, R. Y., Insecticides in Agriculture and Environment, Retrospects and Prospects, Springer Verlag, Heidelberg, 1998.
- [142] Hallenbeck, W. H.; Cunningham-Burns, K. M., Pesticides and Human Health, Springer-Verlag, New York, 1985.
- [143] [www.chemfinder.com](http://www.chemfinder.com) 30. 05. 2003.
- [144] Benthe, Ch.; Heinzow, B.; Jessen, H.; Mohr, S.; Rotard, W., Chemosphere **25**, 1992, 1481-1486.

- [145] Syracuse Research Corporation, <http://esc.syrres.com/>, 30-05-2003.
- [146] [http://ntp-server.niehs.nih.gov/htdocs/CHEM\\_H&S/NTP\\_Chem7/Radian72-55-9.html](http://ntp-server.niehs.nih.gov/htdocs/CHEM_H&S/NTP_Chem7/Radian72-55-9.html), Official Webpage National Toxicology Program, US-Government, 30-5-2003.
- [147] <http://ace.ace.orst.edu/info/extoxnet/pips/ghindex.html>, Pesticide Information Profiles, University of California-Davis, Oregon State University, Michigan State University, Cornell University, and the University of Idaho, 30-5-2003.
- [148] Deutsche Forschungsgemeinschaft, Polychlorierte Biphenyle, Bestandsaufnahme über Analytik, Vorkommen, Kinetik und Toxizität, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 1988.
- [149] Bathen, D.; Breitbach, M., Adsorptionstechnik, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, VDI-Buch, 2001.
- [150] Maurer, S., Prediction of Single-Component Adsorption Equilibria, Dissertation, TU-München, 2000.
- [151] Baup, S.; Jaffre, C.; Wolbert, D.; Laplanche, A., Adsorption **6**, 2000, 219-228.
- [152] Kast, W., Adsorption aus der Gasphase. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, 1988.
- [153] Yang, R. T., Gas Separation by Adsorption Processes, Butterworth Publishers, Stoneham, USA, 1987.
- [154] Noll, K.; Gounaris, V.; Hou, W-S., Adsorption Technology for Air and Water Pollution Control, Lewis Publishers, USA, 1992.
- [155] Stichlmair, J.; Tourneau, M., Vorlesungsbegleitende Unterlagen zur Thermischen Verfahrenstechnik II, Vorlesungsskriptum, Technische Universität München, SS 2000.
- [156] Jaeger, L.; Erdoes, E., Czech. Chem. Commun. **24**, 1959, 2851.
- [157] Yu, F. D.; Luo, L. A.; Grevillot, G., J. Chem Eng. Data **47**, 2002, 467-473.
- [158] Al Duri, B., Adsorption Modelling and Mass Transfer, in Use of Adsorbents for the Removal of Pollutants from Wastewaters, Edited by McKay G., CRC Press, Ch. 7, 1996.
- [159] Giaya, A.; Thompson, R. W.; Dnekewicz, Jr. R., Microporous and Mesoporous Materials **40**, 2000, 205-218.

- [160] Rehm, S., Handbuch der Landwirtschaft und Ernährung in den Entwicklungsländern: Band 4: Spezieller Pflanzenbau in den Tropen und Subtropen. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, 1989.
- [161] European Brewery Convention Technology and Engineering Forum, Hops and Hop Products: Manual of good practice, Getränke-Fachverlag Hans Carl, 1997.
- [162] Anonym, Hopfenrundschau **7**, 2001.
- [163] Maier, J., Brauwelt **18**, 1989, 764-768.
- [164] Verzele, M.; Keukeleire, D., Chemistry and Analysis of Hopf and Beer Bitter Acids, Elsevier Science Publishers B.V., 1991.
- [165] Römpp Lexikon Chemie 10. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1997.
- [166] Meier, H., Brauwelt **17**, 2002, 593-594.
- [167] Anonym, Brauwelt **45**, 2002, 1631-1632.
- [168] Pichlmaier, J., Brauerei-Journal **10**, 2002, 372-373.
- [169] Biendl, M., Brauwelt International **II**, 1996, 132-134.
- [170] Piendl, A.; Biendl, M., Brauwelt **13/14**, 2000, 526-543.
- [171] Forster, A.; Beck, B.; Schmidt, R., Brauwelt **24**, 1990.
- [172] Schur, F., Brauwelt **35**, 2000, 1394-1400.
- [173] Krüger, E., J. Brauerei **33**, 1980, 104.
- [174] Mc Rae, J. B.; Wheldon, A. G.; Bett, G., J. Inst Brewing **86**, 1980, 296.
- [175] Klüsters, P., Forum der Brauerei **1**, 1983, 17-21.
- [176] Williams, C. S.; Eastoe, B. V.; Slaiding, I. R.; Walker, M. D., Food Additives and Contaminants **11** (5), 1994, 615-619.
- [177] Ching, L. S.; Mohamed, S., J. Agric. Chem. **49**, 2001, 3101-3105.
- [178] Borrelli, F.; Izzo, A., Phytotherapy Research **14**, 2000, 581-591.
- [179] Iorizzi, M.; Lanzotti, V.; De Marino, S.; Zollo, F.; Blanco-Molina, M.; Macho, A.; Muñoz, E., J. Agric. Food Chem. **49**, 2001, 2022-2029.
- [180] Nelson, E. K.; Dawson, L. E., J. Am. Chem. Soc. **45**, 1923, 2179-2181.
- [181] Kosuge, S.; Inagaki, Y.; Okumura, H., Chem. Abstr. **60**, 1964, 9827.
- [182] Kosuge, S.; Furuta, M., Agric. Biol. Chem. **34**, 1970, 248-256.
- [183] Kobata, K.; Sutoh, K.; Todo, T.; Yazawa, S.; Iwai, K.; Watanabe, T., J. Nat. Prod. **62**, 1999, 335-336.
- [184] Santamaría, R. I.; Reyes-Duarte, M. D.; Bárzana, E.; Fernando, D.; Gama, F. M.; Mota, M.; López-Munguía, A., J. Agric. Food Chem. **48** (7), 2000, 3063 –3067.



- [185] Hansen, B. N.; Harvey, A. H.; Coelho, J. A. P.; Palavra, M. F.; Bruno, T. J., *J. Chem Eng. Data* **46**, 2001, 1054-1058.
- [186] Del Valle, J. M.; Jiménez, M.; de la Fuente, J. C., *Journal of Supercritical Fluids* **25**, 2003, 33-44.
- [187] Nguyen, U.; Anstee, M.; Evans, D. A., *Extraction and Fractionation of Spices Using Supercritical Fluid Carbon Dioxide*, presented at the 5<sup>th</sup> international symposium on supercritical fluids, Nice, France, 1998.
- [188] Chiou, C. T.; Sheng, G.; Manes, M., *Environ. Sci. Technol.* **35**, 2001, 1437-1444.
- [189] Lehotay, S. J.; Lee, C-H., *J. Chromatogr. A* **785**, 1997, 313-327.
- [190] Schwedt, G. *Chromatographische Trennmethoden*, 2. Auflage, Thieme-Verlag, Stuttgart, 1986.
- [191] Ferreira-Dias, S.; Monteiro, J P.; Ribeiro, M. H. L., *European Food Research and Technology* **214**, 2002, 400-404.
- [192] Domingo, C.; García-Carmona, J.; Fanovich, M. A.; Llibre, J.; Rodríguez-Clemente, R., *Journal of Supercritical Fluids* **21**, 2001, 147-157.
- [193] Knez, Ž.; Novak, Z., *J. Chem. Eng. Data* **46**, 2001, 858-860.
- [194] Marrero, J.; Gani, R., *Ind. Eng. Chem. Res.* **41**, 2002, 6623-6633.
- [195] Forster, A.; Geyer, S.; Schulmeyr, J.; Schmidt, R.; Gehring, M., US-Patent Nr. 4 842 878, 27. Juni 1989.
- [196] Brunner, G. *Gas Extraction an introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation processes*, Steinkopff-Verlag, 1994.
- [197] Koinecke, A., *Einsatzmöglichkeiten der Superkritischen Flüssigkeitsextraktion in der Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln in Böden*, Dissertation, Technische Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig, 1999.
- [198] Probst, M., *Neue Anwendungsmöglichkeiten der Chromatographie und Extraktion mit überkritischem CO<sub>2</sub> für die Umweltanalytik*, Dissertation, Universität Paderborn, 1994.
- [199] Gómez-Ariza, J. L.; Bujalance, M.; Giráldez, I.; Velasco, A.; Morales, E., *J. Chromatogr. A* **946**, 2002, 209-219.
- [200] Acker, L.; Bergner, K. -G.; Diemair, W.; Heimann, W.; Kiermeier, F.; Schermüller, J.; Souci, S. W., *Handbuch der Lebensmittelchemie, Band VI*, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1970.
- [201] Specht, W.; Tillkes, M., *Fresenius Z. Anal. Chem.* **301**, 1980, 300-307.
- [202] Tekel, J.; Hatrík, Š., *J. Chromatogr. A* **754**, 1996, 397-410.

- 
- [203] Di Muccio, A.; Pelosi, P.; Barbini, D. A.; Generali, T.; Girolimetti, S.; Steffanelli, P.; Lenoelli, A.; Amendola, G.; Vergori, L.; Fresquet, E. V., *J. Chromatogr. A* **833**, 1999, 13-34.
- [204] Rinkus, G.; Rummler, M.; Nausch, I., *J. Chromatogr. A* **737**, 1996, 9-14.
- [205] Informationszentrum der Vereinten Nationen (UNIC), *Weltbevölkerungsbericht 1999*, Bonn, Oktober 1999.
- [206] VDE/VDI-Richtlinien 2620, Fortpflanzung von Fehlergrenzen bei Messungen, Blatt 1, Grundlagen, Januar 1973; Blatt 2, Beispiele zur Fortpflanzung von Fehlern und Fehlergrenzen, Juli 1974.
- [207] Kronholm, J.; Kalpala, J.; Hartonen, K.; Riakkola, M.-L., *Journal of Supercritical Fluids* **23**, 2002, 123-134.

## 8 ANHANG (TABELLEN A1 - A24)

Analytische Verfahren – Methodenentwicklung

Gelpermeationschromatographie (GPC)

**Tab. A- 1: Gelpermeationschromatographie (GPC), Fraktionen Chili (K.I nach [206] berechnet)**

Fraktion		Gewicht O/P (g)		Gewicht M/P (g)		Extrakt (g)	K.I. ( $\gamma=95\%$ )	
von ml	bis ml	$X_{MED}$	s	$X_{MED}$	s			
0	75	103,5111	0,0009	103,5280	0,0002	0,0169	0,0012	Konzentration (g/ml)
75	90	26,0153	0,0004	26,1383	0,0013	0,1230	0,0019	0,5
90	105	28,9297	0,0005	29,4763	0,0003	0,5466	0,0008	(2,5 g/5ml)
105	120	25,5881	0,0003	26,2660	0,0006	0,6779	0,0009	Erwartet:
120	135	21,0945	0,0003	21,5884	0,0003	0,4940	0,0007	2,5
135	150	21,9630	0,0002	22,2411	0,0009	0,2781	0,0011	
150	165	28,6028	0,0002	28,7432	0,0004	0,1404	0,0006	Wiederfindung:
165	175	28,2901	0,0002	28,3293	0,0003	0,0392	0,0006	2,34
ab 175		36,1255	0,0006	36,1460	0,0002	0,0205	0,0008	93%
0	60	64,8661	0,0003	64,8672	0,0001	0,0011	0,0004	Konzentration (g/ml)
60	75	27,9871	0,0003	27,9988	0,0007	0,0117	0,0011	0,2
75	90	51,7871	0,0003	51,8791	0,0006	0,0920	0,0010	(1,0 g/5ml)
90	105	50,3071	0,0002	50,8050	0,0004	0,4979	0,0006	Erwartet:
105	120	46,8773	0,0002	47,1681	0,0008	0,2909	0,0011	1
120	135	46,1107	0,0004	46,1808	0,0004	0,0701	0,0009	
135	150	26,0968	0,0001	26,1389	0,0001	0,0420	0,0001	Wiederfindung:
150	165	26,1012	0,0003	26,1124	0,0003	0,0112	0,0008	1,02
165	175	26,8867	0,0002	26,8883	0,0005	0,0016	0,0007	
ab 175		58,8425	0,0005	58,8453	0,0003	0,0029	0,0009	102%
0	60	64,8694	0,0001	64,8694	0,0005	0,0000	0,0007	Konzentration (g/ml)
60	75	51,7903	0,0004	51,7994	0,0006	0,0091	0,0011	0,1
75	90	50,3095	0,0005	50,3970	0,0006	0,0876	0,0013	(0,5 g/5ml)
90	105	49,0371	0,0004	49,3611	0,0003	0,3240	0,0008	Erwartet:
105	120	46,1124	0,0007	46,1452	0,0003	0,0328	0,0011	0,5
120	135	46,8795	0,0007	46,9076	0,0002	0,0281	0,0009	
135	150	28,2910	0,0002	28,3112	0,0005	0,0202	0,0008	Wiederfindung:
150	165	21,9631	0,0002	21,9704	0,0005	0,0074	0,0007	0,51
165	175	26,8878	0,0003	26,8886	0,0008	0,0008	0,0012	
ab 175		58,8448	0,0000	58,8485	0,0003	0,0037	0,0003	103%

O/P = ohne Probe; M/P = mit Probe;  $X_{MED}$  = arithmetischer Mittelwert; s = Standardabweichung

**Tab. A- 2: Gelpermeationschromatographie (GPC), Fraktionen Pflanzenschutzmittel.**

Fraktion	von ml	bis ml	Mittelwerte für die Wiederfindungsraten (%)					Cypermethrin
			Chlorpyrifos	Ethion	Dicofol	PCB-180	Phosalon	
0	60	60	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
60	75	75	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
75	90	90	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
90	105	105	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
105	120	120	0,5%	0,0%	0,0%	0,0%	0,7%	0,0%
120	135	135	0,5%	1,8%	0,4%	0,6%	0,2%	0,0%
135	150	150	0,7%	1,2%	0,7%	0,3%	1,5%	3,0%
150	165	165	1,5%	28,4%	33,3%	2,3%	16,1%	33,6%
165	175	175	27,1%	35,9%	35,5%	32,8%	39,0%	31,8%
175	190	190	32,2%	41,7%	43,5%	40,7%	35,3%	37,8%
190	205	205	26,7%	15,8%	9,4%	37,3%	22,1%	2,6%
ab 205	250	250	0	0	0	0	0	0
Summe			89,2%	124,7%	122,9%	114,0%	114,9%	108,8%

**Tab. A- 3: Gelpermeationschromatographie (GPC), Fraktionen Macis.**

Fraktion		Gewicht O/P (g)		Gewicht M/P (g)		Extrakt (g)	K.I. ( $\gamma=95\%$ )	
von ml	bis ml	$X_{MED}$	s	$X_{MED}$	s			
0	60	36,1627	0,0003	36,1630	0,0002	0,0003	0,0006	Konzentration (g/ml)
60	75	26,0155	0,0001	26,0163	0,0004	0,0008	0,0005	0,4
75	90	27,9887	0,0002	28,0436	0,0004	0,0549	0,0007	(2,0 g/5ml)
90	105	28,9296	0,0001	29,0827	0,0008	0,1530	0,0009	Erwartet:
105	120	26,0977	0,0003	26,4486	0,0010	0,3509	0,0014	2
120	135	26,1021	0,0001	26,6485	0,0003	0,5464	0,0004	
135	150	21,0944	0,0003	21,3436	0,0001	0,2492	0,0005	Wiederfindung:
150	165	28,6034	0,0004	28,7130	0,0002	0,1095	0,0006	
165	175	21,5364	0,0001	21,5696	0,0001	0,0332	0,0002	1,86
175	190					0,1352		
190	205					0,1787		
ab 205	220	36,1263	0,0005	36,1788	0,0005	0,0525	0,0012	0,93
0	80	36,1593	0,0006	36,1655	0,0002	0,0061	0,0009	Konzentration (g/ml)
80	95	26,0139	0,0001	26,0899	0,0001	0,0760	0,0002	0,2
95	110	50,3075	0,0003	50,4830	0,0017	0,1755	0,0022	(1,0 g/5ml)
110	125	49,0363	0,0001	49,3764	0,0008	0,3401	0,0010	Erwartet:
125	140	46,1110	0,0003	46,1662	0,0002	0,0552	0,0005	1
140	155	46,8782	0,0002	46,9067	0,0007	0,0285	0,0010	
155	170	51,7877	0,0004	51,8518	0,0044	0,0641	0,0053	Wiederfindung:
170	185	21,5354	0,0001	21,6108	0,0009	0,0754	0,0011	0,93
185	200	26,8871	0,0002	26,9754	0,0011	0,0882	0,0014	
ab 200	220	36,1227	0,0004	36,1398	0,0004	0,0171	0,0008	0,93
0	80	64,8683	0,0007	64,8678	0,0003	-0,0005	0,0012	Konzentration (g/ml)
80	95	51,7892	0,0003	51,8282	0,0004	0,0390	0,0007	0,1
95	110			0,0632		0,0632		(0,5 g/5ml)
110	125			0,1227		0,1227		Erwartet:
125	140	46,8794	0,0004	46,9002	0,0004	0,0209	0,0008	0,5
140	155	50,3083	0,0001	50,3183	0,0003	0,0100	0,0004	
155	170	21,5362	0,0002	21,5910	0,0002	0,0548	0,0004	Wiederfindung:
170	185	26,0981	0,0001	26,1335	0,0004	0,0354	0,0005	0,38
185	200	26,8920	0,0003	26,9282	0,0003	0,0361	0,0006	
ab 200	220	36,1258	0,0002	36,1289	0,0003	0,0031	0,0006	0,77
								Wiederfindung Kompl.
		103,5104	0,0004	104,3832	0,0004	0,8728	0,0009	1,75

O/P = ohne Probe; M/P = mit Probe;  $X_{MED}$  = arithmetischer Mittelwert; s = Standardabweichung

Analytische Verfahren - Methodenentwicklung

Minisäulenchromatographie

**Tab. A- 4: Minisäulenchromatographie mit 1,0 g Kieselgel; Fraktionen 1-5 getrennt.**

	Hexan	Toluol	Toluol/ Aceton 1	Toluol/ Aceton 2	Aceton	Summe
<b>Malathion</b>	0% ± 0%	0% ± 0%	99% ± 9%	0% ± 0%	0% ± 0%	99% ± 9%
<b>Chlorpyrifos</b>	43% ± 4%	53% ± 5%	2% ± 0%	0% ± 0%	0% ± 0%	99% ± 9%
<b>Endosulfan a+b</b>	29% ± 2%	64% ± 6%	7% ± 0%	0% ± 0%	0% ± 0%	101% ± 10%
<b>Ethion</b>	2% ± 0%	90% ± 18%	22% ± 4%	0% ± 0%	0% ± 0%	115% ± 22%
<b>Dicofol</b>	0% ± 0%	86% ± 16%	6% ± 0%	0% ± 0%	0% ± 0%	93% ± 18%
<b>PCB-180</b>	87% ± 8%	12% ± 1%	0% ± 0%	0% ± 0%	0% ± 0%	100% ± 10%
<b>Phosalone</b>	0% ± 0%	0% ± 0%	47% ± 4%	0% ± 0%	0% ± 0%	47% ± 4%
<b>Cypermethrin</b>	16% ± 2%	48% ± 8%	16% ± 2%	5% ± 0%	8% ± 0%	95% ± 18%

**Tab. A- 5: Minisäulenchromatographie mit 1,0 g Kieselgel; Fraktionen 2-5 getrennt.**

	Hexan	Toluol	Toluol/ Aceton 1	Toluol/ Aceton 2	Aceton	Summe
Malathion	---	0% ± 0%	163% ± 32%	7% ± 0%	0% ± 0%	171% ± 17%
Chlorpyrifos	---	96% ± 9%	12% ± 1%	0% ± 0%	0% ± 0%	110% ± 11%
Endosulfan a+b	---	57% ± 5%	27% ± 2%	0% ± 0%	0% ± 0%	85% ± 8%
Ethion	---	155% ± 30%	46% ± 8%	0% ± 0%	0% ± 0%	201% ± 40%
Dicofol	---	90% ± 18%	18% ± 2%	0% ± 0%	0% ± 0%	110% ± 22%
PCB-180	---	105% ± 10%	17% ± 1%	0% ± 0%	0% ± 0%	123% ± 12%
Phosalon	---	4% ± 0%	15% ± 1%	3% ± 0%	0% ± 0%	24% ± 2%
Cypermethrin	---	38% ± 6%	25% ± 4%	4% ± 0%	2% ± 0%	71% ± 14%

**Tab. A- 6: Minisäulenchromatographie mit 1,0 g Kieselgel; Fraktionen 3-5 getrennt.**

	Hexan	Toluol	Toluol/ Aceton 1	Toluol/ Aceton 2	Aceton	Summe
Malathion	---	---	81% ± 8%	37% ± 6%	0% ± 0%	118% ± 11%
Chlorpyrifos	---	---	102% ± 10%	2% ± 0%	0% ± 0%	104% ± 10%
Endosulfan a+b	---	---	111% ± 11%	1% ± 0%	0% ± 0%	113% ± 11%
Ethion	---	---	110% ± 22%	10% ± 2%	0% ± 0%	121% ± 24%
Dicofol	---	---	98% ± 18%	1% ± 0%	0% ± 0%	100% ± 20%
PCB-180	---	---	108% ± 10%	0% ± 0%	0% ± 0%	109% ± 10%
Phosalon	---	---	82% ± 8%	25% ± 2%	0% ± 0%	107% ± 10%
Cypermethrin	---	---	61% ± 12%	10% ± 2%	4% ± 0%	75% ± 14%

**Tab. A- 7: Minisäulenchromatographie mit Kieselgel, verschiedene Mengen und Aktivitäten.**

Packungsmaterial	Kieselgel	Kieselgel	Kieselgel	Kieselgel	Kieselgel	Kieselgel	Kieselgel	Kieselgel	Kieselgel	Kieselgel
Packungsmenge	1,0 g	1,0 g	1,0 g	1,5 g	1,5 g	2,0 g	1,0 g	1,5 g	1,5 g	2,0 g
Wassergehalt	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	0,0%	1,5%	5%	10%
Probe	Chili	Chili	Chili	Chili	Chili	Chili	Chili	Chili	Chili	Chili
Pflanzenschutzmittel										
Malathion	84%	72%	122%	69%	88%	80%	84%	75%	90%	89%
Chlorpyrifos	123%	89%	94%	53%	82%	80%	97%	85%	97%	98%
Endosulfan α + β	93%	62%	123%	37%	44%	62%	32%	27%	27%	29%
Ethion	89%	86%	0%	53%	72%	43%	76%	64%	64%	72%
Dicofol	114%	90%	98%	38%	38%	20%	36%	26%	37%	37%
PCB-180	118%	89%	105%	94%	112%	64%	14%	11%	13%	17%
Phosalon	98%	113%	95%	39%	31%	28%	63%	36%	99%	108%
Cypermethrin	109%	81%	105%	102%	83%	87%	96%	87%	90%	97%

**Tab. A- 8: Minisäulenchromatographie mit 2,0 g verschiedener Adsorbentien.**

Packungsmaterial	Florisil	Celite	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Kieselgel	---	Florisil	Celite	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Kieselgel	Kieselgel	Kieselgel
Packungsmenge	2,0 g	2,0 g	2,0 g	2,0 g	---	2,0 g	2,0 g	2,0 g	2,0 g	2,0 g	2,0 g
Wassergehalt	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	---	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%
Probe	Chili	Chili	Chili	Chili	Chili	Chili	Chili	Chili	Chili	Chili	Chili
Pflanzenschutzmittel											
Malathion	81%	85%	32%	94%	9%	54%	66%	44%	7%	31%	112%
Chlorpyrifos	90%	103%	91%	88%	12%	68%	110%	107%	115%	116%	95%
Endosulfan α + β	45%	43%	40%	38%	1%	69%	66%	92%	74%	84%	81%
Ethion	83%	96%	101%	69%	7%	40%	85%	68%	48%	53%	87%
Dicofol	22%	41%	27%	27%	5%	29%	97%	10%	0%	4%	21%
PCB-180	94%	96%	100%	84%	47%	70%	78%	72%	81%	76%	86%
Phosalon	126%	115%	108%	96%	10%	64%	79%	67%	24%	94%	111%
Cypermethrin	98%	92%	57%	89%	9%	101%	53%	96%	90%	67%	102%

## Hochdruckextraktion - Methodenentwicklung

## Versuche mit Modellmatrix

**Tab. A- 9: Adsorptionsraten von Pflanzenschutzmitteln und PCB-180 an den 17 bei der HD-Extraktion von dotierter Cellulose eingesetzten Adsorptionsmitteln.**

Bewertet als „Sehr Gut“										
	Aldrin	Malathion	Chlorpyriphos	Endosulfan	4,4'-DDE	Ethion	Dicofol	PCB-180	Phosalon	Cypermethrin
<b>Aktivkohle</b>										
Ohne Modifier	0 ± 0	0,04 ± 0,01	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,08 ± 0,01	0 ± 0
Ethanol	0,2 ± 0,03	0,09 ± 0,02	0,06 ± 0,01	0,1 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,02 ± 0
Wasser	0,06 ± 0,01	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,03 ± 0,01	0 ± 0	0 ± 0	0,1 ± 0,01	0 ± 0
<b>Bewertet als „Gut“</b>										
	Aldrin	Malathion	Chlorpyriphos	Endosulfan	4,4'-DDE	Ethion	Dicofol	PCB-180	Phosalon	Cypermethrin
<b>Bleicherde</b>										
Ohne Modifier	0,53 ± 0,09	0,08 ± 0,01	0,17 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,47 ± 0,05	0,09 ± 0,02	0,29 ± 0,06	0,46 ± 0,05	0,08 ± 0,01	0,48 ± 0,1
Ethanol	0,63 ± 0,11	0,44 ± 0,07	0,36 ± 0,05	0,27 ± 0,03	0,18 ± 0,02	0,34 ± 0,06	0,45 ± 0,09	0,19 ± 0,02	0,56 ± 0,07	0,32 ± 0,06
Wasser	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
<b>Amberlite XAD-16</b>										
Ohne Modifier	0,74 ± 0,13	0,68 ± 0,12	0,49 ± 0,07	0,32 ± 0,03	0,43 ± 0,04	0,42 ± 0,08	0,29 ± 0,06	0,33 ± 0,03	0,41 ± 0,05	0,63 ± 0,13
Ethanol	0,63 ± 0,11	0,44 ± 0,07	0,36 ± 0,05	0,36 ± 0,04	0,5 ± 0,05	0,46 ± 0,09	0,38 ± 0,08	0,19 ± 0,02	0,56 ± 0,07	0,17 ± 0,03
Wasser	0,56 ± 0,1	0,51 ± 0,09	0,39 ± 0,05	0,22 ± 0,02	0,1 ± 0,01	0,18 ± 0,03	0 ± 0	0 ± 0	0,15 ± 0,02	0 ± 0
<b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch</b>										
Ohne Modifier	0,93 ± 0,16	0 ± 0	0,63 ± 0,09	0,27 ± 0,03	0,69 ± 0,07	0,52 ± 0,1	0,35 ± 0,07	0,79 ± 0,08	0,17 ± 0,02	0,61 ± 0,12
Ethanol	0,59 ± 0,1	0,32 ± 0,05	0,25 ± 0,04	0,17 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,24 ± 0,05	0,17 ± 0,03	0,38 ± 0,04	0,5 ± 0,06	0,18 ± 0,04
Wasser	0,61 ± 0,1	0,32 ± 0,05	0,45 ± 0,06	0,3 ± 0,03	0,28 ± 0,03	0,2 ± 0,04	0,3 ± 0,06	0,47 ± 0,05	0,4 ± 0,05	0,11 ± 0,02
<b>Florisil</b>										
Ohne Modifier	0,62 ± 0,11	0,24 ± 0,04	0,59 ± 0,08	0,58 ± 0,06	0,8 ± 0,08	0,38 ± 0,07	0,84 ± 0,17	0,81 ± 0,08	0,19 ± 0,02	0,68 ± 0,14
Ethanol	0,56 ± 0,1	0,46 ± 0,08	0,51 ± 0,07	0,34 ± 0,03	0,41 ± 0,04	0,46 ± 0,09	0,6 ± 0,12	0,7 ± 0,07	0,46 ± 0,06	0,39 ± 0,08
Wasser	0,49 ± 0,08	0 ± 0	0,14 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,9 ± 0,09	0 ± 0	0,38 ± 0,08	0 ± 0	0,35 ± 0,04	0,1 ± 0,02
<b>Kieselgel 0% Wasser</b>										
Ohne Modifier	0,72 ± 0,12	0,23 ± 0,04	0,22 ± 0,03	0,29 ± 0,03	0,65 ± 0,07	0,28 ± 0,05	0,19 ± 0,04	0,45 ± 0,05	0,21 ± 0,03	0,22 ± 0,04
Ethanol	0,87 ± 0,15	0,64 ± 0,11	0,62 ± 0,09	0,4 ± 0,04	0 ± 0	0,81 ± 0,15	0,85 ± 0,17	1,04 ± 0,1	1,11 ± 0,13	0,34 ± 0,07
Wasser	0,65 ± 0,11	0,29 ± 0,05	0,49 ± 0,07	0,22 ± 0,02	0,2 ± 0,02	0,14 ± 0,03	0,15 ± 0,03	0,36 ± 0,04	0,25 ± 0,03	0,03 ± 0,01
<b>Molekularsieb</b>										
Ohne Modifier	0,69 ± 0,12	0,26 ± 0,04	0,3 ± 0,04	0,32 ± 0,03	0,62 ± 0,06	0,24 ± 0,05	0,36 ± 0,07	0,49 ± 0,05	0,19 ± 0,02	0,35 ± 0,07
Ethanol	0,86 ± 0,15	0,56 ± 0,1	0,65 ± 0,09	0,42 ± 0,04	0,17 ± 0,02	0,67 ± 0,13	0,75 ± 0,15	0,86 ± 0,09	0,57 ± 0,07	0,53 ± 0,11
Wasser	0,86 ± 0,15	0,33 ± 0,06	0,75 ± 0,11	0,36 ± 0,04	0,33 ± 0,03	0,23 ± 0,04	0,28 ± 0,06	0,47 ± 0,05	0,23 ± 0,03	0,11 ± 0,02
<b>Bewertet als „Mittel“</b>										
	Aldrin	Malathion	Chlorpyriphos	Endosulfan	4,4'-DDE	Ethion	Dicofol	PCB-180	Phosalon	Cypermethrin
<b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> neutral</b>										
Ohne Modifier	1,03 ± 0,18	0,55 ± 0,09	1,42 ± 0,2	0,66 ± 0,07	0,88 ± 0,09	0,9 ± 0,17	1,17 ± 0,23	1,12 ± 0,11	0,73 ± 0,09	1,69 ± 0,34
Ethanol	0,58 ± 0,1	0,37 ± 0,06	0,33 ± 0,05	0,17 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,31 ± 0,06	0,21 ± 0,04	0,49 ± 0,05	0,63 ± 0,08	0,24 ± 0,05
Wasser	1,5 ± 0,26	0,76 ± 0,13	0,95 ± 0,13	0,58 ± 0,06	0,39 ± 0,04	0,37 ± 0,07	0,38 ± 0,08	0,78 ± 0,08	0,62 ± 0,07	0,46 ± 0,09
<b>Celite</b>										
Ohne Modifier	0,57 ± 0,1	0,32 ± 0,05	0,3 ± 0,04	0,28 ± 0,03	0,44 ± 0,04	0,31 ± 0,06	0,25 ± 0,05	0,39 ± 0,04	0,19 ± 0,02	1 ± 0,2
Ethanol	0,59 ± 0,1	0,38 ± 0,06	0,39 ± 0,05	0,2 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,36 ± 0,07	0,21 ± 0,04	0,55 ± 0,06	0,47 ± 0,06	0,31 ± 0,06
Wasser	1 ± 0,17	0,9 ± 0,15	0,8 ± 0,11	0,48 ± 0,05	0,27 ± 0,03	0,48 ± 0,09	0,65 ± 0,13	0,67 ± 0,07	0,63 ± 0,08	0 ± 0
<b>Bewertet als „Schlecht und Sehr Schlecht“</b>										
	Aldrin	Malathion	Chlorpyriphos	Endosulfan	4,4'-DDE	Ethion	Dicofol	PCB-180	Phosalon	Cypermethrin
<b>Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sauer</b>										
Ohne Modifier	0,84 ± 0,14	0,7 ± 0,12	0,64 ± 0,09	0,51 ± 0,05	0,66 ± 0,07	0,61 ± 0,12	0,81 ± 0,16	0,73 ± 0,07	0,6 ± 0,07	1,18 ± 0,24
Ethanol	0,79 ± 0,13	0,6 ± 0,1	0,58 ± 0,08	0,62 ± 0,06	0,62 ± 0,06	0,76 ± 0,14	0,64 ± 0,13	0,72 ± 0,07	0,86 ± 0,1	0,48 ± 0,1
Wasser	1,23 ± 0,21	1,03 ± 0,18	0,84 ± 0,12	0,66 ± 0,07	0,42 ± 0,04	0,76 ± 0,14	0,69 ± 0,14	0,64 ± 0,06	0,61 ± 0,07	0,57 ± 0,11
<b>Glasperlen</b>										
Ohne Modifier	0,79 ± 0,13	0,61 ± 0,1	0,5 ± 0,07	0,48 ± 0,05	0,6 ± 0,06	0,49 ± 0,09	0,84 ± 0,17	0,53 ± 0,05	3,33 ± 0,4	0,93 ± 0,19
Ethanol	0,83 ± 0,14	0,61 ± 0,1	0,61 ± 0,09	0,67 ± 0,07	0,63 ± 0,06	0,84 ± 0,16	0,9 ± 0,18	0,72 ± 0,07	0,88 ± 0,11	0,66 ± 0,13
Wasser	0,68 ± 0,12	0,52 ± 0,09	0,49 ± 0,07	0,29 ± 0,03	0,18 ± 0,02	0,26 ± 0,05	0,27 ± 0,05	0,39 ± 0,04	0,36 ± 0,04	0,29 ± 0,06
<b>Kieselgur</b>										
Ohne Modifier	0,77 ± 0,13	0,54 ± 0,09	0,5 ± 0,07	0,45 ± 0,05	0,65 ± 0,07	0,47 ± 0,09	0,43 ± 0,09	0,52 ± 0,05	0,44 ± 0,05	0,72 ± 0,14
Ethanol	0,86 ± 0,15	0,72 ± 0,12	0,66 ± 0,09	0,71 ± 0,07	0,61 ± 0,06	0,94 ± 0,18	1,03 ± 0,21	0,94 ± 0,09	1,13 ± 0,14	0,66 ± 0,13
Wasser	0,66 ± 0,11	0,54 ± 0,09	0,64 ± 0,09	0,4 ± 0,04	0,28 ± 0,03	0,29 ± 0,06	0,49 ± 0,1	0,35 ± 0,04	0,16 ± 0,02	0,25 ± 0,05
<b>Stärke</b>										
Ohne Modifier	0,87 ± 0,15	0,7 ± 0,12	0,63 ± 0,09	0,52 ± 0,05	0,7 ± 0,07	0,57 ± 0,11	0,6 ± 0,12	0,69 ± 0,07	0,49 ± 0,06	0,86 ± 0,17
Ethanol	0,51 ± 0,09	0,25 ± 0,04	0,19 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,23 ± 0,04	0,15 ± 0,03	0,24 ± 0,02	0,36 ± 0,04	0,08 ± 0,02
Wasser	0,71 ± 0,12	0,55 ± 0,09	0,64 ± 0,09	0,29 ± 0,03	0,18 ± 0,02	0,24 ± 0,05	0,23 ± 0,05	0,37 ± 0,04	0,3 ± 0,04	0,2 ± 0,04
<b>Seesand</b>										
Ohne Modifier	1,16 ± 0,2	1,31 ± 0,22	2,1 ± 0,29	1,1 ± 0,11	0,85 ± 0,09	1,24 ± 0,24	1,13 ± 0,23	0,97 ± 0,1	2,82 ± 0,34	1,13 ± 0,23
Ethanol	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Wasser	0,68 ± 0,12	0,49 ± 0,08	0,56 ± 0,08	0,26 ± 0,03	0,16 ± 0,02	0,2 ± 0,04	0,21 ± 0,04	0,33 ± 0,03	0,28 ± 0,03	0,11 ± 0,02
<b>Kieselgel 10% Wasser</b>										
Ohne Modifier	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Ethanol	0,85 ± 0,14	0,67 ± 0,11	0,67 ± 0,09	0,55 ± 0,06	0,54 ± 0,05	0,82 ± 0,16	0,57 ± 0,11	0,89 ± 0,09	0,98 ± 0,12	0,56 ± 0,11
Wasser	0,48 ± 0,08	0,35 ± 0,06	0,36 ± 0,05	0,2 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,17 ± 0,03	0,18 ± 0,04	0,27 ± 0,03	0,25 ± 0,03	0,13 ± 0,03

Tab. A- 10: Isothermen ohne Adsorptionsmittel Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch.

Isotherme ohne Adsorbens						
Malathion	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,4 ± 0,06	0,49 ± 0,07	0,78 ± 0,1	0,77 ± 0,07	0,67 ± 0,04	0,73 ± 0,12
50°C	0,63 ± 0,1	0,72 ± 0,1	0,85 ± 0,09	0,85 ± 0,07	0,92 ± 0,07	0,89 ± 0,13
60°C	0,61 ± 0,09	0,94 ± 0,15	0,9 ± 0,09	0,9 ± 0,07	1 ± 0,06	1 ± 0,16
Chlorpyrifos	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,33 ± 0,04	0,52 ± 0,07	0,64 ± 0,08	0,69 ± 0,05	0,67 ± 0,05	0,67 ± 0,11
50°C	0,39 ± 0,06	0,59 ± 0,09	0,79 ± 0,1	0,81 ± 0,05	0,8 ± 0,07	0,76 ± 0,13
60°C	0,33 ± 0,04	0,87 ± 0,11	0,86 ± 0,09	0,89 ± 0,05	0,89 ± 0,06	1 ± 0,16
Aldrin	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,48 ± 0,06	0,54 ± 0,08	0,87 ± 0,1	0,78 ± 0,07	0,68 ± 0,05	0,83 ± 0,12
50°C	0,79 ± 0,12	0,85 ± 0,14	0,97 ± 0,11	0,96 ± 0,07	1,07 ± 0,1	0,97 ± 0,16
60°C	1,19 ± 0,17	0,99 ± 0,13	0,94 ± 0,1	0,98 ± 0,06	0,99 ± 0,09	1 ± 0,15
Endosulfan	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,32 ± 0,04	0,4 ± 0,06	0,59 ± 0,07	0,59 ± 0,04	0,61 ± 0,04	0,61 ± 0,11
50°C	0,28 ± 0,04	0,7 ± 0,11	0,75 ± 0,1	0,75 ± 0,05	0,73 ± 0,05	0,76 ± 0,12
60°C	0,15 ± 0,02	0,83 ± 0,13	0,89 ± 0,09	0,8 ± 0,06	0,9 ± 0,05	1 ± 0,15
4,4'-DDE	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,36 ± 0,06	0,3 ± 0,05	0,34 ± 0,03	0,4 ± 0,03	0,63 ± 0,04	0,53 ± 0,08
50°C	0,23 ± 0,03	0,32 ± 0,05	0,47 ± 0,05	0,51 ± 0,04	0,52 ± 0,03	0,46 ± 0,07
60°C	0,14 ± 0,02	0,81 ± 0,12	0,85 ± 0,09	0,62 ± 0,04	0,58 ± 0,03	1 ± 0,16
Ethion	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,33 ± 0,05	0,4 ± 0,06	0,59 ± 0,08	0,6 ± 0,05	0,6 ± 0,04	0,59 ± 0,09
50°C	0,43 ± 0,06	0,5 ± 0,08	0,72 ± 0,09	0,72 ± 0,06	0,71 ± 0,06	0,73 ± 0,13
60°C	0,14 ± 0,02	0,83 ± 0,11	0,83 ± 0,08	0,76 ± 0,05	0,87 ± 0,05	1 ± 0,16
Dicofol	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,12 ± 0,02	0,25 ± 0,04	0,2 ± 0,02	0,27 ± 0,02	0,35 ± 0,03	0,26 ± 0,04
50°C	0 ± 0	0,19 ± 0,02	0,25 ± 0,03	0,29 ± 0,03	0,26 ± 0,02	0,33 ± 0,06
60°C	0 ± 0	0,32 ± 0,04	0,56 ± 0,07	0,56 ± 0,04	0,6 ± 0,04	1 ± 0,16
PCB-180	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,39 ± 0,06	0,44 ± 0,06	0,67 ± 0,08	0,71 ± 0,06	0,65 ± 0,05	0,68 ± 0,12
50°C	0,18 ± 0,03	0,94 ± 0,13	0,79 ± 0,09	0,82 ± 0,07	0,81 ± 0,05	0,85 ± 0,13
60°C	0,08 ± 0,01	0,85 ± 0,11	0,87 ± 0,1	0,86 ± 0,05	0,97 ± 0,09	1 ± 0,17
Phosalon	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,45 ± 0,06	0,4 ± 0,06	0,54 ± 0,07	0,57 ± 0,03	0,54 ± 0,04	0,54 ± 0,09
50°C	0,17 ± 0,02	0,51 ± 0,08	0,66 ± 0,07	0,64 ± 0,04	0,65 ± 0,05	0,67 ± 0,11
60°C	0,18 ± 0,02	0,76 ± 0,12	0,74 ± 0,1	0,67 ± 0,05	0,8 ± 0,05	1 ± 0,17
Cypermethrin	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,35 ± 0,06	0,35 ± 0,05	0,55 ± 0,07	0,57 ± 0,05	0,56 ± 0,03	0,54 ± 0,1
50°C	0,04 ± 0,01	0,52 ± 0,07	0,66 ± 0,07	0,63 ± 0,04	0,63 ± 0,04	0,69 ± 0,12
60°C	0,04 ± 0,01	0,75 ± 0,11	0,73 ± 0,07	0,8 ± 0,06	0,85 ± 0,06	1 ± 0,15

Tab. A- 11: Isothermen mit Adsorptionsmittel Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> basisch.

Isotherme Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> basisch als Adsorbens						
Malathion	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0	0,07 ± 0,01	0,02 ± 0
50°C	0,01 ± 0	0,02 ± 0	0,03 ± 0	0,03 ± 0	0,05 ± 0	0,08 ± 0,01
60°C	0,01 ± 0	0,01 ± 0	0,02 ± 0	0,02 ± 0	0,04 ± 0	0,06 ± 0,01
Chlorpyrifos	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,11 ± 0,02	0,14 ± 0,02	0,26 ± 0,03	0,28 ± 0,02	0,29 ± 0,02	0,26 ± 0,04
50°C	0 ± 0	0,13 ± 0,02	0,25 ± 0,03	0,28 ± 0,02	0,33 ± 0,02	0,53 ± 0,09
60°C	0,05 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,33 ± 0,04	0,37 ± 0,03	0,54 ± 0,04	0,73 ± 0,12
Aldrin	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,06 ± 0,01	0,15 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,16 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,16 ± 0,03
50°C	0,01 ± 0	0,18 ± 0,03	0,17 ± 0,02	0,18 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,25 ± 0,04
60°C	0,04 ± 0,01	0,18 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,24 ± 0,01	0,35 ± 0,03	0,75 ± 0,13
Endosulfan	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,17 ± 0,02	0,19 ± 0,02	0,29 ± 0,04	0,25 ± 0,02	0,27 ± 0,02	0,27 ± 0,04
50°C	0 ± 0	0,14 ± 0,02	0,18 ± 0,02	0,22 ± 0,01	0,28 ± 0,02	0,45 ± 0,07
60°C	0,03 ± 0	0,11 ± 0,02	0,2 ± 0,02	0,29 ± 0,03	0,31 ± 0,02	0,35 ± 0,06
4,4'-DDE	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,16 ± 0,03	0,22 ± 0,03	0,88 ± 0,1	0,26 ± 0,02	0,25 ± 0,02	0,24 ± 0,04
50°C	0,01 ± 0	0,28 ± 0,04	0,43 ± 0,05	0,29 ± 0,02	0,24 ± 0,02	1,01 ± 0,15
60°C	0,06 ± 0,01	0,43 ± 0,07	0,32 ± 0,03	0,85 ± 0,06	0,65 ± 0,05	0,68 ± 0,12
Ethion	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,15 ± 0,02	0,14 ± 0,02	0,17 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,19 ± 0,03
50°C	0 ± 0	0,09 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,23 ± 0,02	0,41 ± 0,03	0,67 ± 0,11
60°C	0 ± 0	0,1 ± 0,02	0,24 ± 0,03	0,43 ± 0,03	0,72 ± 0,06	1,29 ± 0,19
Dicofol	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,01 ± 0	0,03 ± 0	0,11 ± 0,01	0 ± 0	0,03 ± 0	0,01 ± 0
50°C	0 ± 0	0 ± 0	0,03 ± 0	0,01 ± 0	0,04 ± 0	0,22 ± 0,04
60°C	0 ± 0	0 ± 0	0,01 ± 0	0,12 ± 0,01	0,23 ± 0,02	0,26 ± 0,04
PCB-180	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,3 ± 0,04	0,58 ± 0,09	0,74 ± 0,09	0,7 ± 0,04	0,66 ± 0,04	0,69 ± 0,1
50°C	0,03 ± 0	0,69 ± 0,11	0,71 ± 0,07	0,73 ± 0,06	0,72 ± 0,04	0,84 ± 0,15
60°C	0,02 ± 0	0,95 ± 0,15	0,93 ± 0,09	0,91 ± 0,08	1 ± 0,08	1,75 ± 0,26
Phosalon	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,12 ± 0,02	0,1 ± 0,02	0,08 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,1 ± 0,01	0,08 ± 0,01
50°C	0,06 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,16 ± 0,03
60°C	0,04 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,1 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,29 ± 0,05
Cypermethrin	100 bar	150 bar	200 bar	250 bar	300 bar	350 bar
40°C	0,14 ± 0,02	0,12 ± 0,02	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0	0,17 ± 0,01	0,12 ± 0,02
50°C	0,02 ± 0	0,05 ± 0,01	0,01 ± 0	0,06 ± 0	0,16 ± 0,01	0,29 ± 0,05
60°C	0,01 ± 0	0,03 ± 0	0,04 ± 0	0,08 ± 0,01	0,29 ± 0,02	0,53 ± 0,08

**Tab. A- 12: Variation der Betthöhe des Adsorbens im HD-Extraktor - Amberlite XAD-16.**

Amberlite					
	0%	6%	13%	25%	75%
<b>Malathion</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,13	0,62 ± 0,09	0,63 ± 0,07	0,62 ± 0,04	0,64 ± 0,04
Wasser	1,23 ± 0,18	0,83 ± 0,11	0,78 ± 0,09	0,73 ± 0,07	0,54 ± 0,05
Ethanol	0,92 ± 0,14	0,58 ± 0,08	0,52 ± 0,06	0,54 ± 0,04	0,65 ± 0,05
<b>Chlorpyrifos</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,15	0,53 ± 0,08	0,5 ± 0,05	0,46 ± 0,03	0,37 ± 0,03
Wasser	1,09 ± 0,15	0,64 ± 0,09	0,65 ± 0,08	0,57 ± 0,04	0,4 ± 0,03
Ethanol	0,92 ± 0,15	0,55 ± 0,08	0,47 ± 0,06	0,37 ± 0,03	0,45 ± 0,03
<b>Aldrin</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,13	0,75 ± 0,11	0,72 ± 0,07	0,57 ± 0,03	0,15 ± 0,01
Wasser	0,96 ± 0,12	0,69 ± 0,11	1,04 ± 0,12	0,74 ± 0,04	0,36 ± 0,03
Ethanol	0,77 ± 0,12	1,01 ± 0,14	0,65 ± 0,07	0,61 ± 0,05	0,36 ± 0,03
<b>Endosulfan</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,13	0,14 ± 0,02	0,52 ± 0,07	0,12 ± 0,01	0,06 ± 0
Wasser	1,36 ± 0,22	2,76 ± 0,39	3,07 ± 0,31	0,49 ± 0,03	2,28 ± 0,16
Ethanol	2,24 ± 0,36	1,24 ± 0,2	1,1 ± 0,14	4,36 ± 0,31	0,62 ± 0,04
<b>4,4'-DDE</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,15	0,47 ± 0,07	0,43 ± 0,06	0,38 ± 0,03	0,11 ± 0,01
Wasser	1,11 ± 0,14	0,6 ± 0,08	0,59 ± 0,08	0,45 ± 0,04	0,19 ± 0,01
Ethanol	0,92 ± 0,15	0,49 ± 0,08	0,42 ± 0,04	0,35 ± 0,02	0,16 ± 0,01
<b>Ethion</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,13	0,47 ± 0,07	0,52 ± 0,07	0,46 ± 0,04	0,22 ± 0,02
Wasser	1,21 ± 0,19	0,77 ± 0,12	0,74 ± 0,09	0,64 ± 0,05	0,41 ± 0,02
Ethanol	0,95 ± 0,15	0,52 ± 0,08	0,45 ± 0,05	0,43 ± 0,04	0,32 ± 0,02
<b>Dicofol</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,14	0,42 ± 0,06	0,29 ± 0,03	0,25 ± 0,02	0,06 ± 0
Wasser	1,67 ± 0,22	0,8 ± 0,1	0,64 ± 0,08	0,54 ± 0,03	0,08 ± 0,01
Ethanol	1,15 ± 0,16	0,78 ± 0,11	0,63 ± 0,06	0,59 ± 0,04	0,06 ± 0
<b>PCB-180</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,13	0,33 ± 0,05	0,37 ± 0,04	0,33 ± 0,03	0,05 ± 0
Wasser	1,21 ± 0,19	0,49 ± 0,07	0,47 ± 0,05	0,36 ± 0,03	0,08 ± 0,01
Ethanol	1,08 ± 0,16	0,53 ± 0,07	0,48 ± 0,06	0,36 ± 0,02	0,08 ± 0,01
<b>Phosalon</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,13	0,51 ± 0,07	0,52 ± 0,06	0,44 ± 0,04	0,07 ± 0
Wasser	1,51 ± 0,21	0,9 ± 0,14	0,69 ± 0,07	0,62 ± 0,04	0,08 ± 0,01
Ethanol	1,06 ± 0,14	0,71 ± 0,11	0,58 ± 0,06	0,52 ± 0,04	0,1 ± 0,01
<b>Cypermethrin</b>					
no modif.	1 ± 0,15	0,49 ± 0,07	0,48 ± 0,05	0,46 ± 0,03	0,31 ± 0,02
Wasser	1,24 ± 0,16	0,82 ± 0,12	0,73 ± 0,08	0,41 ± 0,04	0,21 ± 0,01
Ethanol	1,04 ± 0,14	0,67 ± 0,09	0,47 ± 0,05	0,25 ± 0,02	0,2 ± 0,02

**Tab. A- 13: Variation der Betthöhe des Adsorbens im HD-Extraktor - Bleicherde.**

Bleicherde					
	0%	25%	50%	75%	100%
<b>Malathion</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,13	0,4 ± 0,06	0,33 ± 0,04	0,1 ± 0,01	0,06 ± 0
Wasser	1,23 ± 0,18	0,43 ± 0,07	0,34 ± 0,04	0,09 ± 0,01	0,05 ± 0
Ethanol	0,92 ± 0,15	0,59 ± 0,08	0,52 ± 0,06	0,55 ± 0,04	0,3 ± 0,02
<b>Chlorpyrifos</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,16	0,49 ± 0,06	0,43 ± 0,06	0,24 ± 0,01	0,32 ± 0,03
Wasser	1,09 ± 0,17	0,44 ± 0,06	0,35 ± 0,04	0,41 ± 0,02	0,37 ± 0,02
Ethanol	0,92 ± 0,14	0,61 ± 0,09	0,56 ± 0,06	0,44 ± 0,03	0,42 ± 0,03
<b>Aldrin</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,13	0,59 ± 0,08	0,57 ± 0,06	0,53 ± 0,04	0,54 ± 0,05
Wasser	0,96 ± 0,13	0,4 ± 0,06	0,43 ± 0,05	0,48 ± 0,03	0,46 ± 0,03
Ethanol	0,77 ± 0,11	0,65 ± 0,09	0,57 ± 0,07	0,68 ± 0,05	0,77 ± 0,05
<b>Endosulfan</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,14	0,6 ± 0,08	2,91 ± 0,32	2,49 ± 0,15	2,24 ± 0,18
Wasser	1,36 ± 0,18	2,94 ± 0,44	2,76 ± 0,28	0,59 ± 0,04	0,54 ± 0,04
Ethanol	2,24 ± 0,34	0,4 ± 0,06	1,71 ± 0,17	1,78 ± 0,12	0,4 ± 0,03
<b>4,4'-DDE</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,13	0,62 ± 0,1	0,6 ± 0,07	0,49 ± 0,04	0,52 ± 0,04
Wasser	1,11 ± 0,18	0,33 ± 0,05	0,35 ± 0,04	0,48 ± 0,03	0,37 ± 0,03
Ethanol	0,92 ± 0,13	0,57 ± 0,09	0,47 ± 0,06	0,37 ± 0,03	0,26 ± 0,02
<b>Ethion</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,14	0,44 ± 0,07	0,43 ± 0,06	0,18 ± 0,01	0,16 ± 0,01
Wasser	1,21 ± 0,18	0,65 ± 0,09	0,49 ± 0,06	0,38 ± 0,02	0,34 ± 0,02
Ethanol	0,95 ± 0,12	0,76 ± 0,12	0,82 ± 0,08	0,8 ± 0,06	0,79 ± 0,05
<b>Dicofol</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,15	0,39 ± 0,06	0,47 ± 0,06	0,44 ± 0,04	0,36 ± 0,03
Wasser	1,67 ± 0,25	0,72 ± 0,1	0,83 ± 0,11	1,13 ± 0,08	0,89 ± 0,08
Ethanol	1,15 ± 0,16	0,81 ± 0,13	0,81 ± 0,11	0,77 ± 0,05	0,74 ± 0,07
<b>PCB-180</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,15	0,62 ± 0,1	0,66 ± 0,08	0,65 ± 0,04	0,66 ± 0,05
Wasser	1,21 ± 0,18	0,49 ± 0,08	0,51 ± 0,06	0,47 ± 0,04	0,43 ± 0,03
Ethanol	1,08 ± 0,17	0,76 ± 0,11	0,75 ± 0,08	0,72 ± 0,06	0,68 ± 0,05
<b>Phosalon</b>					
Ohne Modifier	1 ± 0,14	0,37 ± 0,05	0,28 ± 0,03	0,02 ± 0	0,01 ± 0
Wasser	1,51 ± 0,2	0,39 ± 0,06	0,3 ± 0,04	0,04 ± 0	0,01 ± 0
Ethanol	1,06 ± 0,17	0,72 ± 0,12	0,5 ± 0,07	0,39 ± 0,03	0,27 ± 0,02
<b>Cypermethrin</b>					
no modif.	1 ± 0,14	0,42 ± 0,06	0,51 ± 0,05	0,31 ± 0,02	0,19 ± 0,02
Wasser	1,24 ± 0,2	0,77 ± 0,12	0,64 ± 0,08	0,35 ± 0,03	0,24 ± 0,02
Ethanol	1,04 ± 0,14	0,6 ± 0,08	0,75 ± 0,08	0,73 ± 0,07	0,32 ± 0,03







**Tab. A- 17: Abhängigkeit der Extraktionsausbeute von der Extraktionszeit und vom CO<sub>2</sub>-Durchsatz.**

Zeit (min)	0	30	60	90	120	150	180	210	240
<b>CO<sub>2</sub>-Verbrauch (in Liter @ 100 l/h)</b>	<b>0</b>	<b>111</b>	<b>161</b>	<b>209</b>	<b>255</b>	<b>299</b>	<b>350</b>		
Extraktmenge [g]	0,00	1,84	2,93	4,17	4,74	5,13	5,28		
K.I. (γ=95%)	0,0	0,1	0,3	0,3	0,0	0,0			
<b>CO<sub>2</sub>-Verbrauch (in Liter @ 150 l/h)</b>	<b>0</b>	<b>129</b>	<b>193</b>	<b>266</b>	<b>332</b>	<b>407</b>	<b>476</b>		
Extraktmenge [g]	0,00	2,30	3,36	4,31	4,69	4,88	5,23		
K.I. (γ=95%)	0,0	0,2	0,4	0,3	0,1	0,2	0,0		
<b>CO<sub>2</sub>-Verbrauch (in Liter @ 200 l/h)</b>	<b>0</b>	<b>110</b>	<b>208</b>	<b>320</b>	<b>440</b>	<b>544</b>	<b>643</b>	<b>748</b>	<b>857</b>
Extraktmenge [g]	0,00	2,01	3,62	4,54	4,77	5,15	5,43	5,51	5,61
K.I. (γ=95%)	0,0	0,3	0,4	0,0	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1

**Tab. A- 18: Zusatz der 4 ausgewählten Adsorbentien – Kontaminantenausbeute im HD-Extrakt.**

	0-75 min	75-180 min	Amberlite XAD-16	Bleicherde	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> basisch	Florisil
<b>Malathion</b>	100% ± 30 %	130% ± 39 %	45% ± 13 %	14% ± 4 %	25% ± 7 %	37% ± 11 %
<b>Aldrin</b>	100% ± 15 %	186% ± 27 %	50% ± 7 %	9% ± 1 %	98% ± 14 %	61% ± 9 %
<b>Chlorpyrifos</b>	100% ± 11 %	189% ± 20 %	28% ± 3 %	13% ± 1 %	428% ± 47 %	173% ± 19 %
<b>Endosulfan α + β</b>	100% ± 15 %	250% ± 37 %	26% ± 3 %	5% ± 0 %	71% ± 10 %	33% ± 4 %
<b>4,4'-DDE</b>	100% ± 11 %	145% ± 15 %	18% ± 1 %	7% ± 0 %	124% ± 13 %	67% ± 7 %
<b>Ethion</b>	100% ± 15 %	168% ± 25 %	53% ± 7 %	9% ± 1 %	94% ± 14 %	71% ± 10 %
<b>Dicofol</b>	100% ± 20 %	305% ± 61 %	49% ± 9 %	11% ± 2 %	89% ± 17 %	68% ± 13 %
<b>PCB-180</b>	100% ± 9 %	110% ± 9 %	31% ± 2 %	18% ± 1 %	82% ± 7 %	58% ± 5 %
<b>Phosalon</b>	100% ± 12 %	18% ± 2 %	5% ± 0 %	0% ± 0 %	3% ± 0 %	2% ± 0 %
<b>Cypermethrin</b>	100% ± 19 %	196% ± 37 %	41% ± 7 %	9% ± 1 %	87% ± 16 %	77% ± 14 %

Hochdruckextraktion – Methodenentwicklung

Extraktionskinetik von *Humulus lupulus* L.

**Tab. A- 19: Abhängigkeit der Extraktionsausbeute von der Extraktionszeit und vom CO<sub>2</sub>-Durchsatz.**

Zeit (min)	0	15	30	45	60	75
<b>CO<sub>2</sub>-Verbrauch (in Liter @ 250 l/h)</b>	<b>48</b>	<b>91</b>	<b>139</b>	<b>185</b>	<b>224</b>	<b>262</b>
Extraktmenge [g]	0,1	3,5	7	9	9	9
K.I. (γ=95%)	0,1	0,5	1	0,5	0,5	0,5
<b>CO<sub>2</sub>-Verbrauch (in Liter @ 300 l/h)</b>	<b>71,5</b>	<b>131,5</b>	<b>194</b>	<b>250,5</b>	<b>303,25</b>	<b>364,8</b>
Extraktmenge [g]	0	0,375	4,99	5,71	5,71	5,71
K.I. (γ=95%)	0,00	0,38	1,26	0,54	0,54	0,54

Hochdruckextraktion – Methodenentwicklung

Pflanzenschutzmittelbelastung eines HD-Extraktes von *Humulus lupulus* L.

**Tab. A- 20: Unterschiedliche Kontaminierung eines HD-Hopfenextraktes und Vergleich bei Anwendung von Ethanol und Wasser als Modifier während der Extraktion.**

	Methodathion mg/kg	Methodathion K.I. (90%)		Myclobutanil mg/kg	Myclobutanil K.I. (90%)
Ohne Modifier	9,15	0,95		14,66	1,80
Ethanol	10,72	2,68		8,57	2,06
Wasser	12,43	2,07		10,99	3,20



**Tab. A- 24: Änderung des Quotienten  $C/C_0$  aus Gehalt an Pflanzenschutzmittel und Hopfeninhaltsstoffen im HD-Extrakt, abhängig von der eingesetzten Adsorbensmenge.**

Aktivkohle	Myclobutanil WFR ± K.L. ( $\gamma=95\%$ )					Methidathion WFR ± K.L. ( $\gamma=95\%$ )				
	0,0 g	3,1 g	8,2 g	13,7 g	27,2 g	0,0 g	3,1 g	8,2 g	13,7 g	27,2 g
Ohne Modifier	1 ± 0,05	1,1 ± 0,06	0,9 ± 0,07	0,8 ± 0,04	0,9 ± 0,05	1 ± 0,1	0,8 ± 0,08	1 ± 0,08	0,9 ± 0,08	0,7 ± 0,07
Ethanol	1,2 ± 0,09	0,8 ± 0,04	0,8 ± 0,06	0,8 ± 0,05	0,8 ± 0,05	2,1 ± 0,21	1,4 ± 0,12	1,2 ± 0,11	1 ± 0,09	0,9 ± 0,07
Wasser	0,8 ± 0,04	0,9 ± 0,05	0,6 ± 0,04	0,3 ± 0,01	0,5 ± 0,03	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,12	1,1 ± 0,09	1 ± 0,08	0,8 ± 0,08
<b>Bleicherde</b>	<b>0,0 g</b>	<b>4,8 g</b>	<b>11,5 g</b>	<b>16,6 g</b>	<b>32,4 g</b>	<b>0,0 g</b>	<b>4,8 g</b>	<b>11,5 g</b>	<b>16,6 g</b>	<b>32,4 g</b>
Ohne Modifier	1 ± 0,06	0,6 ± 0,03	0,4 ± 0,02	0,5 ± 0,02	0,2 ± 0,01	1 ± 0,1	0,7 ± 0,07	0,3 ± 0,02	0,3 ± 0,02	0 ± 0
Ethanol	1,2 ± 0,07	0,4 ± 0,02	0,3 ± 0,01	0,3 ± 0,02	0,3 ± 0,01	2,1 ± 0,17	0,9 ± 0,07	0,9 ± 0,07	0,9 ± 0,08	0,7 ± 0,06
Wasser	0,8 ± 0,04	0,4 ± 0,02	0 ± 0	0,1 ± 0	0,2 ± 0,01	1,1 ± 0,11	1,1 ± 0,1	0,9 ± 0,08	0,5 ± 0,05	0,5 ± 0,05
<b>Kieselgur</b>	<b>0,0 g</b>	<b>1,0 g</b>	<b>2,4 g</b>	<b>5,0 g</b>	<b>9,3 g</b>	<b>0,0 g</b>	<b>1,0 g</b>	<b>2,4 g</b>	<b>5,0 g</b>	<b>9,3 g</b>
Ohne Modifier	1 ± 0,06	0,9 ± 0,05	1 ± 0,05	1,1 ± 0,06	1,2 ± 0,07	1 ± 0,09	0,8 ± 0,08	0,9 ± 0,07	0,8 ± 0,07	1,1 ± 0,11
Ethanol	1,2 ± 0,08	1,2 ± 0,06	1,1 ± 0,05	1,4 ± 0,09	1 ± 0,06	2,1 ± 0,19	1,8 ± 0,19	1,7 ± 0,15	2 ± 0,21	1,8 ± 0,17
Wasser	0,8 ± 0,04	0,9 ± 0,05	0,9 ± 0,05	1 ± 0,05	0,9 ± 0,06	1,1 ± 0,11	1,1 ± 0,08	1,1 ± 0,1	1,3 ± 0,11	1,1 ± 0,1
<b>Kieselgel</b>	<b>0,0 g</b>	<b>4,4 g</b>	<b>9,1 g</b>	<b>12,6 g</b>	<b>24,0 g</b>	<b>0,0 g</b>	<b>4,4 g</b>	<b>9,1 g</b>	<b>12,6 g</b>	<b>24,0 g</b>
Ohne Modifier	1 ± 0,07	1 ± 0,07	0,7 ± 0,05	0,3 ± 0,01	0 ± 0	1 ± 0,08	1,1 ± 0,08	0,9 ± 0,08	0,6 ± 0,05	0,2 ± 0,01
Ethanol	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	2,1 ± 0,18	1,4 ± 0,15	1,2 ± 0,13	1,4 ± 0,12	1,3 ± 0,11
Wasser	0,8 ± 0,06	0,3 ± 0,02	0,1 ± 0	0,1 ± 0	0,1 ± 0	1,1 ± 0,12	1 ± 0,08	0,8 ± 0,06	0,8 ± 0,06	0,4 ± 0,03
<b>Florisil</b>	<b>0,0 g</b>	<b>5,0 g</b>	<b>10,3 g</b>	<b>14,9 g</b>	<b>27,5 g</b>	<b>0,0 g</b>	<b>5,0 g</b>	<b>10,3 g</b>	<b>14,9 g</b>	<b>27,5 g</b>
Ohne Modifier	1 ± 0,07	0,8 ± 0,03	0,9 ± 0,04	0,9 ± 0,03	0,7 ± 0,04	1 ± 0,1	0,9 ± 0,08	0,9 ± 0,08	0,6 ± 0,06	0,1 ± 0
Ethanol	1,2 ± 0,06	1,1 ± 0,04	0,9 ± 0,04	1,3 ± 0,08	0,3 ± 0	2,1 ± 0,19	1,7 ± 0,17	1,8 ± 0,19	1,2 ± 0,11	1,9 ± 0,13
Wasser	0,8 ± 0,05	0,9 ± 0,05	0,5 ± 0,03	0,4 ± 0,01	0,2 ± 0	1,1 ± 0,11	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1	0,8 ± 0,06	0,4 ± 0,03