

Evaluierung und Optimierung der Extraktion höhermolekularer PAK von Quarzfaser- und PTFE-Filtern für die Luftanalytik

J. Linke, P. Bockschewsky, D. Köster

ZUSAMMENFASSUNG Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) sind aromatische organische Verbindungen, die bei unvollständigen Verbrennungsprozessen entstehen und zum Teil kanzerogene und mutagene Eigenschaften aufweisen. Bislang liegt der Fokus der PAK-Analytik im Arbeitsschutz auf den 16 von der US-amerikanischen Environmental Protection Agency (EPA) priorisierten PAK, die hauptsächlich Verbindungen in der Größenordnung von zwei bis fünf Ringssystemen beinhalten. Von weiteren höhermolekularen PAK geht jedoch ebenfalls ein erhöhtes kanzerogenes Risiko aus, daher werden auch diese Analyten immer häufiger in der Routine- und Auftragsanalytik berücksichtigt. Im Folgenden soll eine etablierte Extraktionsmethode für PAK von Filtern um zusätzliche höhermolekulare PAK erweitert und optimiert werden. Dazu werden unterschiedliche Parameter der Probenaufarbeitung variiert, um die Wiederfindungsraten der PAK zu maximieren. Dabei konnte festgestellt werden, dass das Material des Filters einen großen Einfluss auf die Extraktionseffizienz hat. Im Rahmen der Entwicklung eines Referenzmaterials für die Nutzung in Ringversuchen wurde zudem untersucht, ob die Bedingungen während der Belegung von Filtern einen Einfluss auf die Wiederfindungsrate haben.

Evaluation and optimisation of the extraction of high-molecular weight PAHs from quartz fibre and PTFE filters for air monitoring

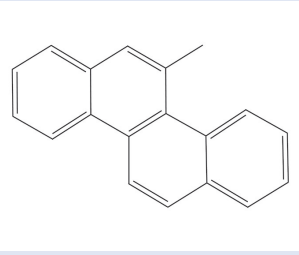
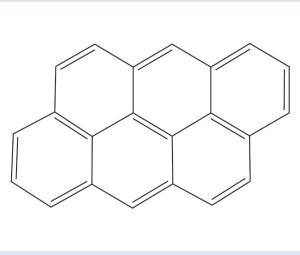
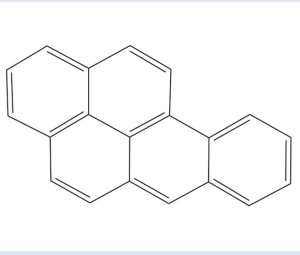
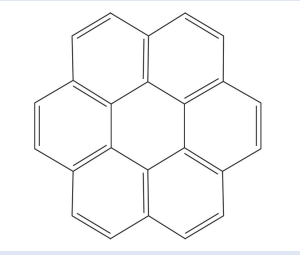
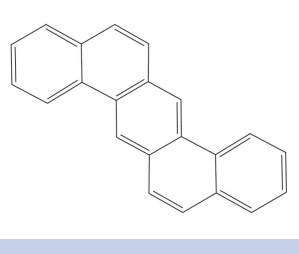
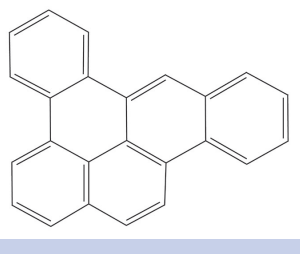
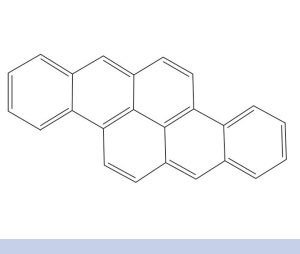
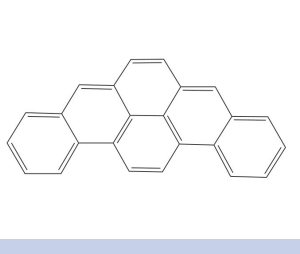
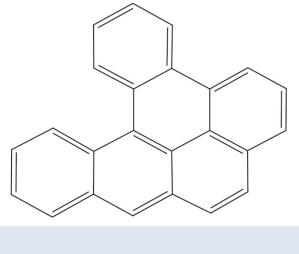
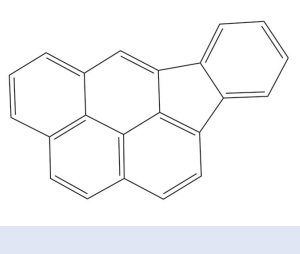
ABSTRACT Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are aromatic organic compounds which are formed during incomplete combustion processes and can exhibit carcinogenic and mutagenic properties. Up to now, the focus of analytical methods for PAHs in the context of occupational safety focused on the 16 PAHs which were prioritised by the U.S. Environmental Protection Agency (EPA), which mostly include compounds containing two to five ring systems. However, other high-molecular weight PAHs also have a high carcinogenic potential, which is why these analytes are included in routine analysis more frequently. In this project, an established extraction method for PAHs on filters should be expanded and optimised to include more high-molecular weight PAHs. For this purpose, different parameters of the sample preparation process are varied in order to maximise the recovery rate. It was found that the filter material has a major impact on the extraction efficiency. In the context of the development of a reference material for use in a proficiency testing scheme, it was examined whether the conditions during the spiking of the filter have an influence on the recovery rate.

1 Einleitung

Die Substanzklasse der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAK) besteht aus einer Vielzahl organischer Verbindungen, die hauptsächlich bei unvollständigen Verbrennungsprozessen entstehen und neben den charakteristischen verbundenen organischen Kohlenstoff-Ringsystemen ebenfalls Alkylgruppen oder, bei weiter gefasster Definition, auch Heteroatome enthalten können. Selbst bei einer eingeschränkten Betrachtung von Verbindungen mit zwei bis sieben Ringssystemen kommen so mehrere Hundert Einzelverbindungen für eine chemische Analyse in Frage [1]. Aufgrund der unüberschaubaren Zahl an Einzelverbindungen, der eingeschränkten Verfügbarkeit von Standardsubstanzen in analytischer Qualität und zur Reduktion des analytischen Aufwands wurde bereits in den 1970er-Jahren eine Liste von 16 prioritären PAK-Verbindungen von der US-amerikanischen Environmental Protection Agency (EPA) veröffentlicht, die EPA-PAK [2]. Diese Liste von Analyten in der Größenordnung von zwei bis sechs Ringssystemen wurde daraufhin von unterschiedlichen Bereichen von der Umwelt- bis zur Lebensmittel-

analytik, aber auch als Grundlage für die Methodenentwicklung für Messungen im Arbeitsschutz adaptiert. Die Gruppe der EPA-PAK enthält zwei Substanzen, die im Kontext des Arbeitsschutzes geregelt sind. Zum einen gilt für das relativ leichtflüchtige Naphthalin ein Arbeitsplatzgrenzwert (AGW) von 2 mg/m^3 [3], zum anderen ist in der Technischen Regel für Gefahrstoffe (TRGS) 910 für krebserzeugende Gefahrstoffe eine Akzeptanz- und Toleranzkonzentration von 70 bzw. 700 ng/m^3 für Benzo(a)pyren (BaP) festgehalten [4]. Neben BaP enthält die Liste der EPA-PAK sieben weitere Verbindungen, die nach der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen (CLP-Verordnung) mit Kategorie 1B als wahrscheinlich beim Menschen karzinogen eingestuft sind [5]. In Tierversuchen konnte gezeigt werden, dass höhermolekulare PAK außerhalb der Liste der EPA-PAK ein zum Teil deutlich stärkeres krebserzeugendes Potenzial im Vergleich zu BaP aufweisen. Insbesondere die Stoffgruppe der Dibenzopyrene (Dibenzo[a,e]pyren, Dibenzo[a,h]pyren, Dibenzo[a,i]pyren und Dibenzo[a,l]pyren) zeigte in Tierstudien ein auffällig hohes krebserzeugendes Potenzial [6]. Im Arbeitsschutz in

Tabelle 1. Strukturformeln der in diesem Projekt untersuchten PAK.

| | | | |
|---|---|---|--|
| 5-Methylchrysen  | Anthanthren  | Benzo[a]pyren  | Coronen  |
| Dibenz[a,h]anthracen  | Dibenzo[a,e]pyren  | Dibenzo[a,h]pyren  | Dibenzo[a,i]pyren  |
| Dibenzo[a,l]pyren  | Indeno[1,2,3-cd]pyren  | | |

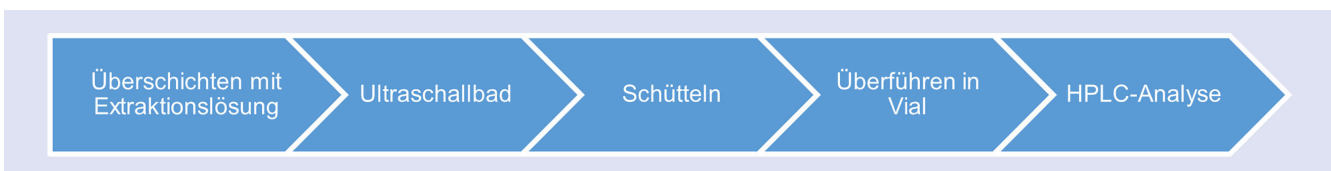


Bild 1. Schematische Darstellung der Aufarbeitungsschritte bei PAK-Proben. Grafik: IFA

Deutschland ist es gängige Praxis, dass für die Bewertung der Luft an Arbeitsplätzen BaP als Leitsubstanz für die Stoffgruppe der PAK herangezogen wird [7]. Ein Grund für diese Vorgehensweise liegt darin, dass für BaP eine sehr gute historische Datenlage durch Messungen an unterschiedlichsten Arbeitsplätzen mit PAK-Bezug vorliegt. Als Grundlage für die Überlegung, ob in Zukunft weitere Einzelstoffe in den Bewertungsmaßstab einfließen können, müsste zuerst die Datenlage durch Messungen zusätzlicher Substanzen verbessert werden [8]. Ein für diese höhermolekulare Komponenten anwendbares Verfahren zur Extraktion von aus der Luft gesammelten PAK soll hier im Weiteren evaluiert und optimiert werden. Mit diesem Verfahren soll weiterhin die Belegung von Referenzmaterialien für einen geplanten Ringversuch für höhermolekulare PAK überprüft werden. Beispielsweise wurden die Bedingungen während der Belegung und das für die Extraktion genutzte Lösemittel variiert. Für diese Versuche wurden die in **Tabelle 1** gezeigten Substanzen als Vertreter für höhermolekulare und alkylierte PAK verwendet.

2 Aktuelle Methode zur Aufarbeitung

Die aktuell im Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (IFA) genutzte Methode zur Aufarbeitung von Filtern aus PAK-Messungen (vgl. IFA-Arbeitsmappe Kennzahl 8408 [13]) besteht aus einer Lösemittelextraktion mittels Ultraschallbad und Schüttler. Dazu wird der Filter zunächst mit 2 ml einer Extraktionslösung aus Acetonitril/Methanol (60/40 v/v) überschichtet. Die Probe wird im Anschluss für eine Stunde im Ultraschallbad bei Raumtemperatur extrahiert. Anschließend wird die Probe für eine Stunde bei ca. 1 000 rpm geschüttelt. Für den Transfer des Filterüberstands in ein Probengefäß wird eine Einzelspritze mit Polytetrafluorethylen (PTFE)-Spritzenvorsatzfilter mit einer Porengröße von 0,45 µm verwendet. Die abschließende Analyse der Probe erfolgt mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC). Die einzelnen Schritte der Aufarbeitung sind in **Bild 1** zusammengefasst. Diese Methode

wird im Folgenden als Referenz- oder Routinemethode bezeichnet [9].

3 Verwendete Geräte und Chemikalien

Alle PAK-Standards mit Ausnahme des BaP, bezogen von der Fa. Dr. Ehrenstorfer, weisen eine Reinheit von mindestens 96,0 % auf. Der BaP-Standard mit einer Reinheit von 99,9 % wurde von der Fa. LGC Standards beschafft. Alle PAK liegen in Acetonitril gelöst vor, für Dibenzo[a,l]pyren wird zusätzlich ein Standard in Cyclohexan verwendet. Die verwendeten Lösemittel wie Acetonitril und Cyclohexan stammen von verschiedenen Herstellern und weisen eine Reinheit von mindestens 99,8 % auf.

Bei dem zur Analyse der PAK verwendeten HPLC-System handelt es sich um ein Agilent 1260 Infinity II LC-System in Verbindung mit einem UV-Detektor (Diodenarray-Detektor, DAD) und einem Fluoreszenzdetektor (FLD) in Serienschaltung. Die genauen Methodenparameter sind in **Tabelle 2** zusammengefasst.

4 Vorgehen und untersuchte Parameter

Die zuvor beschriebene Methode zur Aufarbeitung und Messung der Filter wird im Folgenden als Referenzmethode für den Vergleich mit den geänderten Parametern behandelt, die variiert werden. Zur Übersichtlichkeit werden die Parameter entsprechend der Reihenfolge der Aufarbeitungsmethode präsentiert. Da der Einzelstandard des 5-Methylchrysens teilweise nicht verfügbar war, wird dieser Analyt nicht in allen Versuchen berücksichtigt. Wenn nicht anders angegeben, wird für die Belegung ein PTFE-Filter der Fa. Merck mit einer Porengröße von 3 µm verwendet.

Bei der Auswertung der Ergebnisse wird die Wiederfindungsrate (WFR) nicht über den Sollwert nach Gehaltsangabe der Hersteller, sondern über die tagesaktuelle Messung der Standardlösung und das hiermit erhaltene Messsignal bestimmt. Die Standardlösungen werden dabei je in Dreifachbestimmung gemessen.

Die Belegung der Filter erfolgt mithilfe einer elektronischen Mehrfachdispenser-Pipette (Multipette). Dabei wird das zu dosierende Volumen an die Konzentration der Dosierlösung angepasst, sodass in der Regel ein Gehalt von 50 ng pro PAK pro Filter erreicht wird. Die Filter trocknen anschließend vollständig unter dem Abzug. Die so belegten Filter werden anschließend in ein geeignetes Glasvial überführt und entsprechend der Routinemethode aufgearbeitet. Alle Experimente bzw. alle Variationen wurden jeweils in dreifacher Bestimmung untersucht.

4.1 Variation der Belegungsbedingungen

Um die WFR der höhermolekularen PAK von Filtern zu maximieren, wurde untersucht, ob die Belegung der Filter im Rahmen der Herstellung des Referenzmaterials einen Einfluss auf die WFR hat. Dies hat sich in Vorversuchen bestätigt, sodass unterschiedliche Belegungsparameter variiert werden und ihr Einfluss auf die WFR untersucht wird. Die händische Belegung der Filter mittels Multipette wurde in Vorversuchen optimiert und wird als Quelle für zusätzliche Variation ausgeschlossen.

Zunächst werden unterschiedliche Filtertypen belegt. Diese unterscheiden sich in Material, Porengröße und Hersteller. Neben den Quarzglasfaserfiltern (nachfolgend Quarzfilter) werden zwei

Tabelle 2. Parameter der HPLC-Methode.

| | |
|-------------------|--|
| Trennsäule | MZ-PAH C18, 5 µm, 250 x 2,1 mm |
| Säulentemperatur | 35 °C |
| Laufmittel | A: Acetonitril/Wasser (60/40 v/v) B: Acetonitril |
| Fluss | 0,3 ml/min |
| Gradient | Start: 40 % A, 60 % B 8–45 min: à 100 % B 45–46 min: à 40 % A, 60 % B |
| Laufzeit | 46 min + 9 min post-run |
| Injektionsvolumen | 12 µl |
| DAD-Parameter | 225 nm, Referenz 550 nm |
| FLD-Parameter | Anregung: 260 nm Emission: A: 320 nm (ab 16 min: 502 nm) B: 400 nm C: 430 nm D: 452 nm |

Tabelle 3. Eigenschaften der verwendeten Filter.

| Nummer | Marke | Material | Durchmesser in mm | Porengröße in µm |
|--------|---------|------------|-------------------|------------------|
| 1 | Whatman | Quarzfaser | 37 | 2,2 |
| 2 | Merck | PTFE | 37 | 3 |
| 3 | SKC | PTFE | 47 | 2 |

PTFE-Filter verwendet, deren Parameter in **Tabelle 3** angegeben sind. Der Filtertyp 2 hat eine Polymer-Stüttschicht, beim Filter der Fa. SKC hingegen handelt es sich um reines PTFE.

Als weiterer Versuch wird auch die Interaktion des Filters mit den Analyten in Lösung untersucht. Hierfür werden die Filter zu der verdünnten Standardlösung in ein Probengefäß gegeben. Darauf folgt direkt die Extraktion in Ultraschallbad und Schüttler. Der Schritt der Filterbelegung entfällt bei diesem Versuch. Zusätzlich wird ein vierter Filtertyp untersucht (PTFE, 37 mm Durchmesser, 1 µm Porengröße). Da es sich bei diesem Filter um einen Restbestand handelt, der nicht mehr kommerziell zu Verfügung steht, konnte er in anderen Versuchen nicht berücksichtigt werden.

Neben dem Filtermaterial wird auch der Einfluss des Trocknungsprozesses auf die Extraktionseffizienz überprüft. Hierfür wird die Standardlösung nicht auf die Filter, sondern direkt in ein Glasvial und in ein Plastikvial aus Polyethylen pipettiert und vollständig bei Raumtemperatur im Abzug trocken gelassen. Anschließend werden 2 ml der Extraktionslösung hinzugegeben und für ca. 15 min im Ultraschallbad gelöst. Abschließend wird die Lösung mittels HPLC gemessen und die WFR bestimmt.

Auch wird der Trocknungsprozess verändert, indem der Filter in eine Luftprobenahme-Kapsel in einem GSP2-System eingespannt wird, woran eine Pumpe angeschlossen ist, die Luft durch den Filter zieht. Der Luftvolumenstrom wird auf 2 l/min eingestellt. Es werden drei unterschiedliche Pumpenlaufzeiten getestet (40, 60 und 120 min). Im Anschluss an die Trocknung werden die Filter nach der Routinemethode aufgearbeitet.

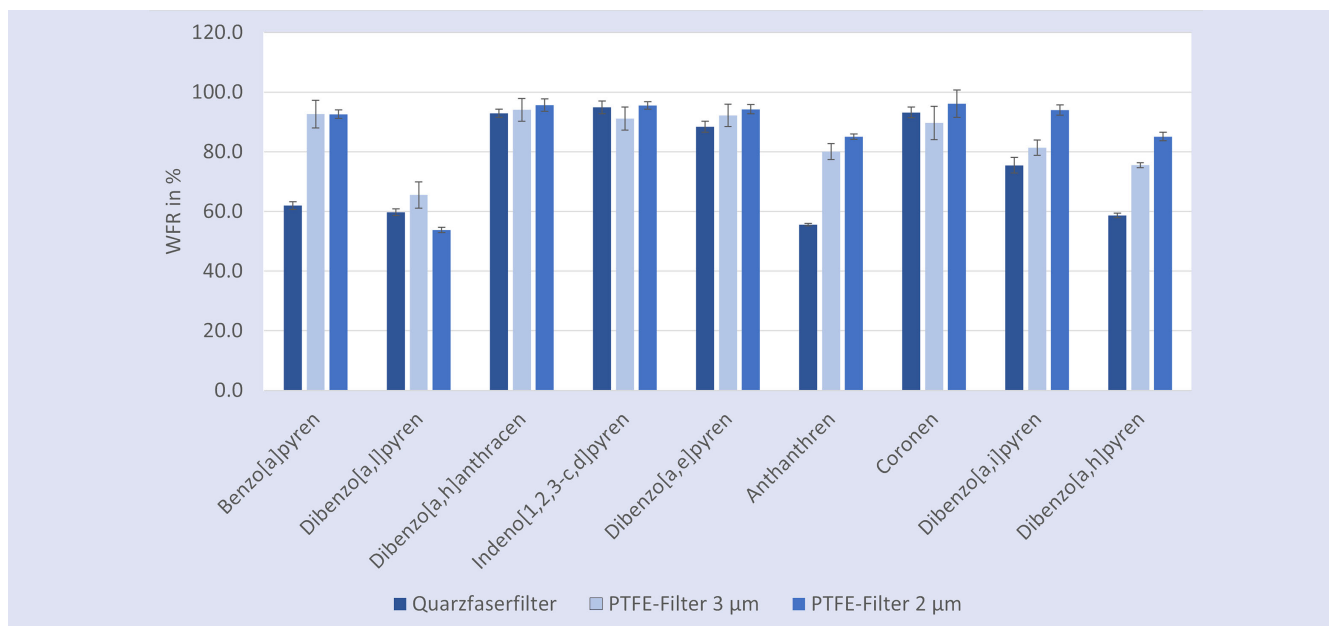


Bild 2. Vergleich zwischen Quarzfaserfiltern und PTFE-Filtern mit Belegung; die Fehlerbalken geben die relative Standardabweichung an. Grafik: IFA

4.1.1 Versuche zu Dibenzo[a,l]pyren

Dibenzo[a,l]pyren wird als Einzelstandard auf die Filter gegeben, um die Extraktionseffizienz bezogen auf diesen Analyten zu untersuchen. Um den Einfluss des Lösungsmittels der Dosierlösung zu bestimmen, wird der Einzelstandard in unterschiedlichen Lösungsmitteln (Acetonitril, Dichlormethan, n-Hexan und Cyclohexan) gelöst. Anschließend werden je 50 µl auf die Filter dosiert. Das weitere Vorgehen entspricht der Routinemethode.

Weiter wird der Einzelstandard des Dibenzo[a,l]pyren gelöst in Acetonitril separat von dem Standardmix (exklusive Dibenzo[a,l]pyren) auf die Filter dotiert. Die Konzentration der beiden Dosierlösungen entspricht 1 ng/µl. Hierbei wird darauf geachtet, dass sich die beiden Lösungen nicht berühren und räumlich getrennt trocknen. Die weitere Aufarbeitung entspricht der Routinemethode.

4.2 Variation der Extraktionslösung

Um den Einfluss der Extraktionslösung auf die Extraktionseffizienz zu überprüfen, wird das Verhältnis von Methanol zu Acetonitril variiert (50/50, 40/60, 30/70 und 20/80 (v/v)). Als Extraktionsmittel werden Methanol, Aceton, Cyclohexan, Dichlormethan und Toluol getestet. Alle weiteren Parameter der Routinemethode bleiben unverändert. Da die Lösemittel mit Ausnahme von Methanol nicht direkt in die HPLC injiziert werden können, wurden die übrigen Proben mittels Rotationsverdampfer in Acetonitril/Methanol (60/40) überführt. Aufgrund der Vergleichbarkeit werden auch die Proben mit Methanol im Rotationsverdampfer aufgearbeitet. Hierbei wird sich an einer Methode zur Messung der EPA-PAK aus Luft orientiert [9].

4.3 Variation der Extraktionsbedingungen

Die Extraktion besteht aus zwei Hauptelementen: dem Ultraschallbad und dem Schüttler. Um den Einfluss der jeweiligen Schritte zu untersuchen, werden drei Experimente durchgeführt.

Dabei werden die Temperatur des Ultraschallbades erhöht, die Zeit des Schüttelns verlängert und die Zeit der Extraktion im Ganzen verkürzt. Als Temperatur des Ultraschallbades werden 30, 40 und 50 °C ausgewählt. Im Experiment der Verlängerung der Schüttelzeit werden die Proben für zwei und drei Stunden geschüttelt. Im letzten Experiment werden die Proben zum einen für 30 min ohne anschließendes Schütteln ins Ultraschallbad gestellt und zum anderen für eine Stunde, ebenfalls ohne anschließendes Schütteln.

4.4 Untersuchung unterschiedlicher Spritzenvorsatzfilter

Der letzte Schritt der Probenaufarbeitung ist die Filterung der Probenlösung mittels Spritzenvorsatzfilter. Um dessen Einfluss zu untersuchen, werden elf unterschiedliche Spritzenvorsatzfilter getestet, die sich in Marke, Filtermaterial (PTFE, Cellulose, Polyvinylidenfluorid/PVDF), Durchmesser (13 bis 25 mm) und Porengröße (0,2 und 0,45 µm) unterscheiden. Um den Einfluss des Spritzenvorsatzfilters zu untersuchen, wird die verdünnte Standardlösung durch die Spritzenvorsatzfilter in ein Autosampler-Vial gegeben. Die gemessenen PAK-Konzentrationen werden anschließend mit denen der unfiltrierten Lösung verglichen.

5 Ergebnisse und Diskussion

5.1 Einfluss der Belegungsbedingungen

Zunächst wurde der Unterschied hinsichtlich der Extraktionseffizienz zwischen Quarzfaserfiltern und PTFE-Filtern untersucht. Wie anhand der in Bild 2 dargestellten WFR zu sehen, konnte insbesondere für BaP, Anthanthren und die zwei zuletzt eluierenden PAK (Dibenzo[a,i]pyren und Dibenzo[a,h]pyren) die WFR stark verbessert werden, wenn statt Quarzfaserfiltern PTFE-Filter verwendet werden. Beim Großteil der Analyten macht die Porengröße der PTFE-Filter (3 µm und 2 µm) keinen Unterschied hinsichtlich der WFR. Lediglich bei Dibenzo[a,i]-

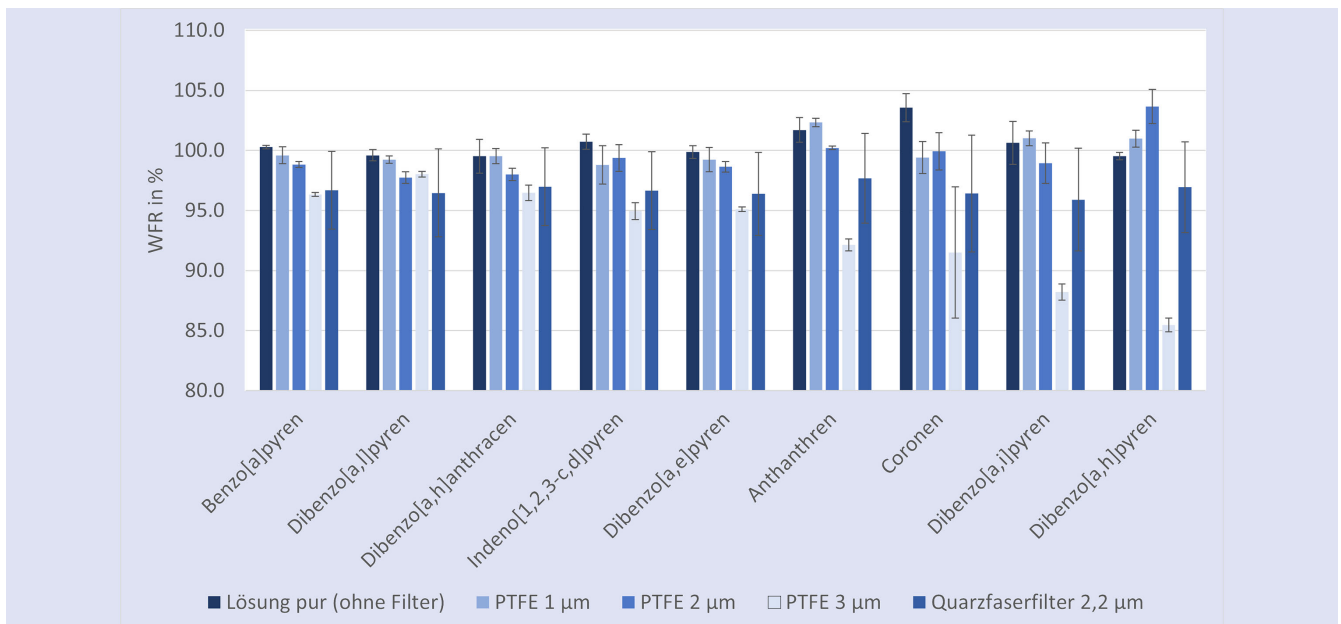


Bild 3. Vergleich verschiedener Filtertypen ohne Belegung; die Fehlerbalken geben die relative Standardabweichung an. Grafik: IFA

pyren und Dibenzo[a,h]pyren kann mit dem 2 µm-Filter eine signifikant höhere Wiederfindung erzielt werden.

Um zu untersuchen, ob die unzureichende Extraktion von den Quarzfaserfiltern durch Anhaftung ans Filtermaterial entsteht, wurden in Galsvials mit PAK-Lösung unbehandelte Filter ohne vorangehende Belegung gegeben. Die dabei erzielten WFR in Abhängigkeit vom Filtertyp sind in **Bild 3** zu sehen. Hier ist zu erkennen, dass auch ohne den Prozess der Belegung, Trocknung und anschließenden Aufarbeitung Verluste durch den Kontakt mit dem Filter entstehen.

Dieser Effekt ist beim PTFE-Filter mit einer Porengröße von 3 µm besonders ausgeprägt, während die beiden PTFE-Filter mit 1 und 2 µm Porengröße die höchste Wiederfindung erreichen. Der 2 µm-Filter ist der einzige unlaminierte Filter; alle anderen PTFE-Filter weisen eine Polymer-Stüttschicht auf. So besteht die Möglichkeit, dass die Verluste durch Anlagerung an die Stüttschicht bzw. an das Material des Quarzfaserfilters entstehen. Verluste durch Verdunstung der Analyten sind aufgrund der Schwerflüchtigkeit auszuschließen. Auch Degradation durch Photolyse oder die Bildung von Reaktionsprodukten wie Nitro-PAK sind durch die kontrollierte Laboratmosphäre unwahrscheinlich.

Da es sich bei den 1 µm- und 2 µm-Filtern um Restbestände handelt, war es nicht möglich, die weiteren Versuche mit diesen Filtern durchzuführen. Wie in **Bild 3** anhand der Fehlerbalken bereits erkennbar ist, weist die Belegung auf Quarzfaserfiltern eine sehr hohe Varianz auf. Dadurch können keine Aussagen mehr getroffen werden, ob unterschiedliche Ergebnisse auf die Streuung durch die Belegung oder auf die Variation eines Extraktionsparameters zurückzuführen sind. Alle weiteren Versuche werden daher nur noch mit dem PTFE-Filter mit 3 µm Porengröße durchgeführt.

Die Theorie, dass es zu Verlusten durch Anlagerung kommt, wird von einem weiteren Versuch gestützt, bei dem ein Tropfen der Dosierlösung nicht auf dem Filter getrocknet wurde, sondern direkt im Vial. Die Extraktion erfolgt somit direkt aus dem Vial und nicht vom Filter. Es wurden sowohl Glasvials als auch Plastikvials untersucht. Die Ergebnisse in Form der WFR für die

Routinemethoden sowie die Dosierung in die beiden Vials sind in **Bild 4** zusammengefasst.

Hier zeigt sich, dass im Plastikvial signifikante Verluste durch eine unzureichende Extraktion entstehen. Dies könnte durch Anlagerungsprozesse der Analyten am Kunststoff erklärt werden. Solche Anlagerungen von Umweltschadstoffen wie PAK an Mikroplastik wurde bereits belegt [10]. Auch im Glasvial sind insbesondere für Dibenzo[a,i]pyren und Dibenzo[a,h]pyren verringerte Wiederfindungen zu sehen. Auch dies kann auf Adsorption der Analyten an den Innenwänden des Glasvials zurückgeführt werden. Dieser Effekt ist von diversen Faktoren abhängig, nimmt aber generell bei stark hydrophoben PAK zu [11].

Auffällig ist zudem Dibenzo[a,l]pyren, da hier die Extraktion vom Filter höhere WFR erzielt als die Extraktion aus dem Vial. Somit wird deutlich, dass für einige PAK – vor allem für Dibenzo[a,l]pyren – der Trocknungsprozess von hoher Relevanz für die Extraktionseffizienz ist. Aufgrund dieser Auffälligkeiten werden für den Analyten Dibenzo[a,l]pyren einige gesonderte Experimente durchgeführt, um die Extraktionseffizienz zu maximieren. Dazu wurden vor allem die Belegung auf dem Filter und der anschließende Trocknungsprozess variiert. Dibenzo[a,l]pyren ist im Gegensatz zu den meisten PAK nicht planar, sondern weist aufgrund interner Abstoßungseffekte eine leicht verdrehte Molekülstruktur auf [12]. Diese strukturelle Besonderheit ist beispielsweise auch für das hohe krebserregende Potenzial verantwortlich, da Dibenzo[a,l]pyren andere Bindungseigenschaften hat als planare PAK.

Um den Trocknungsprozess zu beeinflussen, wurde während der Belegung mithilfe einer Pumpe Luft durch die Filter gezogen. Verschiedene Pumpenlaufzeiten wurden getestet (40, 60 und 120 min), wobei anzumerken ist, dass die Filter durch das Durchziehen der Luft nicht schneller trocknen. Dabei wurde deutlich, dass der Luftfluss durch den Filter auf die meisten PAK keinen Einfluss hat. Einzig die Wiederfindung von Dibenzo[a,l]pyren lässt sich dadurch deutlich erhöhen (von 56,0 auf bis zu 92,2 %). Die Pumpenlaufzeit scheint keinen Einfluss auf die WFR zu haben.

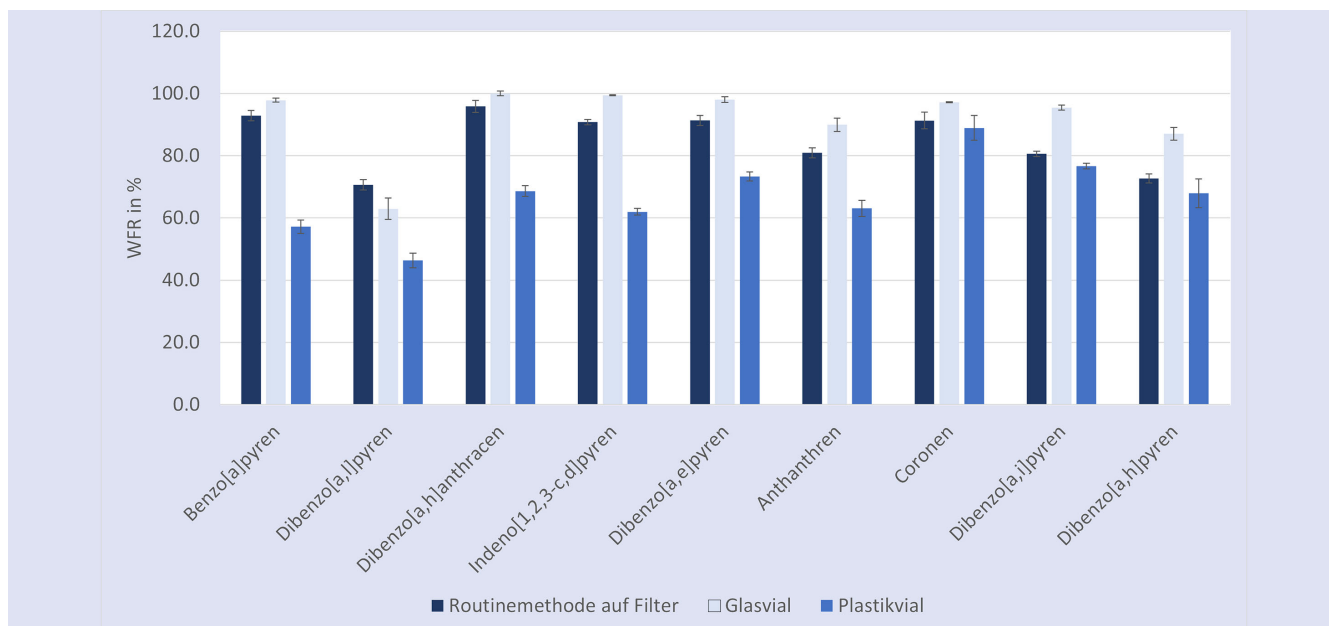


Bild 4. Vergleich zwischen Trocknung auf dem Filter und Trocknung in Vials; die Fehlerbalken geben die relative Standardabweichung an. Grafik: IFA

Tabelle 4. WFR bei der Belegung mit dem Einzelstandard von Dibenzo[a,l]pyren in verschiedenen Lösemitteln im Vergleich zur Belegung mit dem Mischstandard.

| Lösemittel | WFR | Lösemittel | WFR |
|--------------------------------|--------|------------|--------|
| Routinemethode (Mischstandard) | 56,2 % | n-Hexan | 81,0 % |
| Acetonitril | 93,6 % | Cyclohexan | 83,9 % |
| Dichlormethan | 89,5 % | | |

In einem weiteren Versuch wurde Dibenzo[a,l]pyren als Einzelstandard in unterschiedlichen Lösemitteln dosiert. Dabei wurden Lösemittel verwendet, die aufgrund ihrer geringen Polarität und Oberflächenspannung sofort in die Poren des PTFE-Filters eindringen und innerhalb von wenigen Minuten komplett verdampfen. Dazu wurden zwei Einzelstandards – in Acetonitril und in Cyclohexan – in den verschiedenen Lösemitteln verdünnt und anschließend als einzelner Tropfen auf den Filter gegeben. Zum Vergleich wird die übliche Belegung mit dem Mischstandard in Acetonitril herangezogen. Die Ergebnisse sind in **Tabelle 4** zusammengefasst.

Anhand dieser Werte wird deutlich, dass sich durch die Belegung mit dem Einzelstandard ohne die Anwesenheit weiterer PAK eine Verbesserung der Wiederfindung erreichen lässt. Die besten Ergebnisse werden hier beim Einzelstandard verdünnt in Acetonitril erzielt.

Dieser Effekt wird weiter untersucht, indem der Einzelstandard des Dibenzo[a,l]pyren und der Mischstandard mit allen anderen PAK nebeneinander auf den Filter dosiert werden, ohne dass die beiden Tropfen einander berühren. Die dabei erzielten WFR sind in **Bild 5** dargestellt. Wie dort zu sehen ist, hat dies auf keinen anderen PAK einen Einfluss außer auf Dibenzo[a,l]pyren, dessen Wiederfindung von ca. 60 auf fast 100 % gesteigert werden kann.

5.2 Einfluss der Extraktionslösung

Die üblicherweise im IFA verwendete Methode zur Aufarbeitung PAK-haltiger Proben sieht als Extraktionslösung eine Mischung aus Acetonitril und Methanol im Verhältnis 60/40 (v/v) vor. Im Rahmen der Wiederfindungsversuche wurde zum einen das Verhältnis der beiden Lösemittel variiert, zum anderen wurden gänzlich andere Lösemittel getestet. Dabei lag der Fokus insbesondere auf unpolaren Lösemitteln, da diese eine höhere Löslichkeit für insbesondere höhermolekulare PAK aufweisen.

Bei der Variation des Lösemittelverhältnisses aus Acetonitril und Methanol wird deutlich, dass dieses keinen signifikanten Einfluss auf die Extraktionseffizienz hat.

Um zu testen, ob ein anderes Lösemittel höhere WFR erzielt, wurde die Extraktion mittels Cyclohexan, Methanol, Aceton, Toluol und Dichlormethan untersucht. In **Bild 6** sind die WFR der unterschiedlichen Lösemittel dargestellt. Zum Vergleich ist auch die Standardmethode mit Acetonitril/Methanol inkludiert. Bei den Versuchen mit Lösemitteln, die aufgrund ihrer geringen Polarität nicht in ein HPLC-System injiziert werden sollten, wurde die Extraktionslösung zunächst im Rotationsverdampfer eingengt und anschließend in Acetonitril/Methanol resuspendiert. Vorangegangene Experimente haben gezeigt, dass dabei keinerlei Verluste entstehen.

Wie im Diagramm zu sehen, hat die Wahl des Lösemittels nicht auf alle PAK einen signifikanten Einfluss. Jedoch ist als genereller Trend erkennbar, dass mit eher unpolaren Lösemitteln wie Dichlormethan oder Toluol die höchsten WFR erzielt werden. Bei den meisten PAK kann durch die Verwendung von Toluol die Extraktionseffizienz (signifikant) gesteigert werden, daher wird Toluol als bestes Extraktionsmittel für die ausgewählten PAK festgelegt. Zur besseren Vergleichbarkeit der veränderten Parameter wird jedoch weiterhin die Extraktion mittels Acetonitril/Methanol als Referenzmethode verwendet.

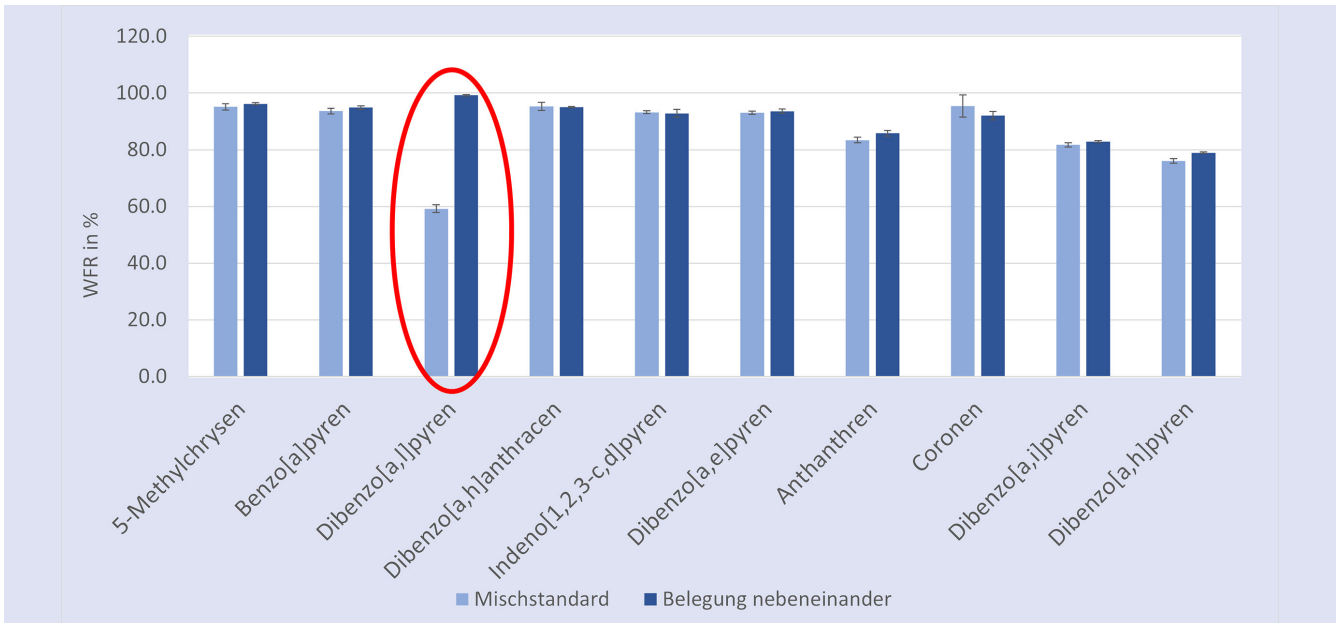


Bild 5. Filterbelegung mit dem Dibenzo[a,i]pyren-Einzelstandard und dem Mischstandard mit den restlichen PAK nebeneinander; die Fehlerbalken geben die relative Standardabweichung an. Grafik: IFA

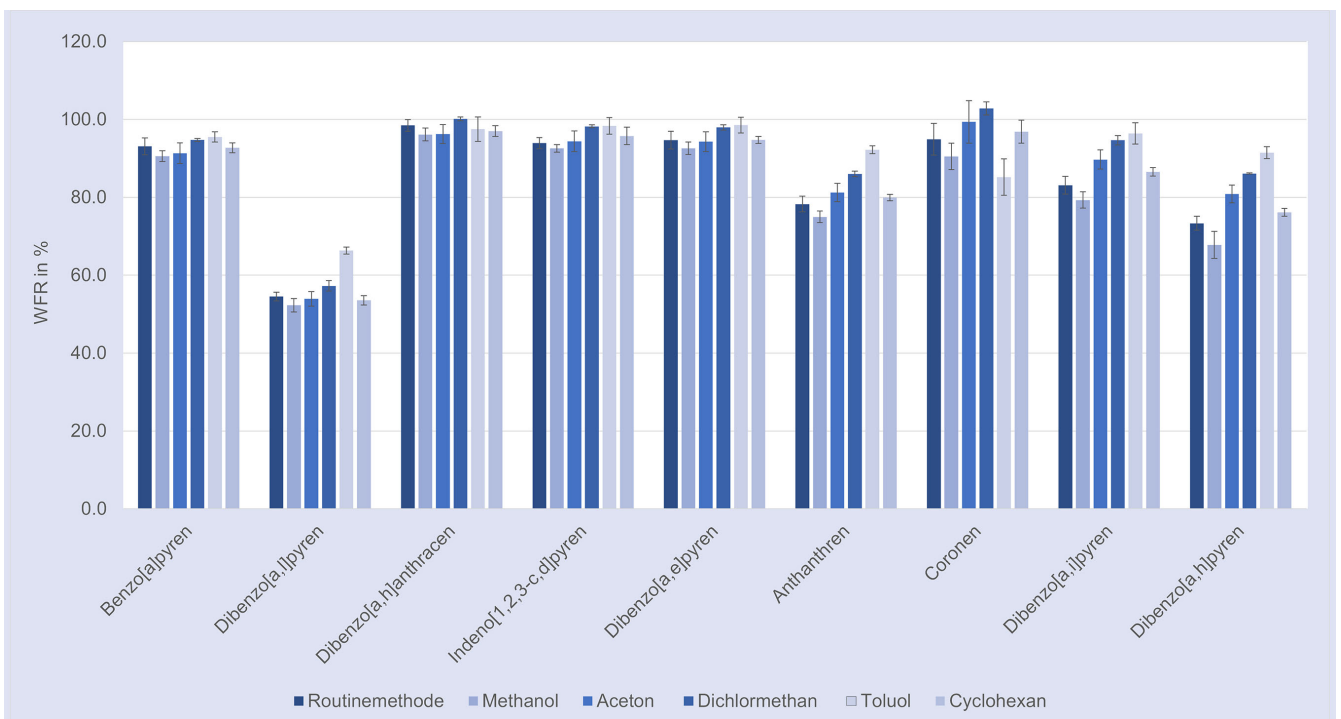


Bild 6. Vergleich unterschiedlicher Lösemittel zur Extraktion der PAK vom PTFE-Filter; die Fehlerbalken geben die relative Standardabweichung an. Grafik: IFA

5.3 Einfluss der Extraktionsbedingungen

Zu den Extraktionsbedingungen, die variiert werden können, zählen die Dauer und die Temperatur des Ultraschallbads sowie die Dauer des Schüttelns. Weder die Verlängerung der Ultraschallbad- oder Schüttelzeit noch die Erhöhung der Temperatur des Ultraschallbads führten zu einer Verbesserung der Extraktionseffizienz. Die Experimente konnten sogar zeigen, dass der Schritt des Schüttelns für höhermolekulare PAK komplett ausge-

lassen werden kann, ohne dass die WFR sinkt. Beim direkten Vergleich wird bei der Extraktion im Ultraschallbad ohne Schütteln die Extraktionseffizienz der spät eluierenden Substanzen wie Dibenzo[a,i]pyren und Dibenzo[a,h]pyren leicht verbessert (von 82,5 auf 86,1 % bzw. von 78,0 auf 82,5 %). Dies kann damit erklärt werden, dass durch die verkürzte Extraktionszeit die Kontaktzeit zwischen den bereits gelösten Analyten und der Polymerstütschicht des Filters verringert wird, wodurch es zu geringerer Adsorption an die Stütschicht kommt [10]. Auch Adsorptions-

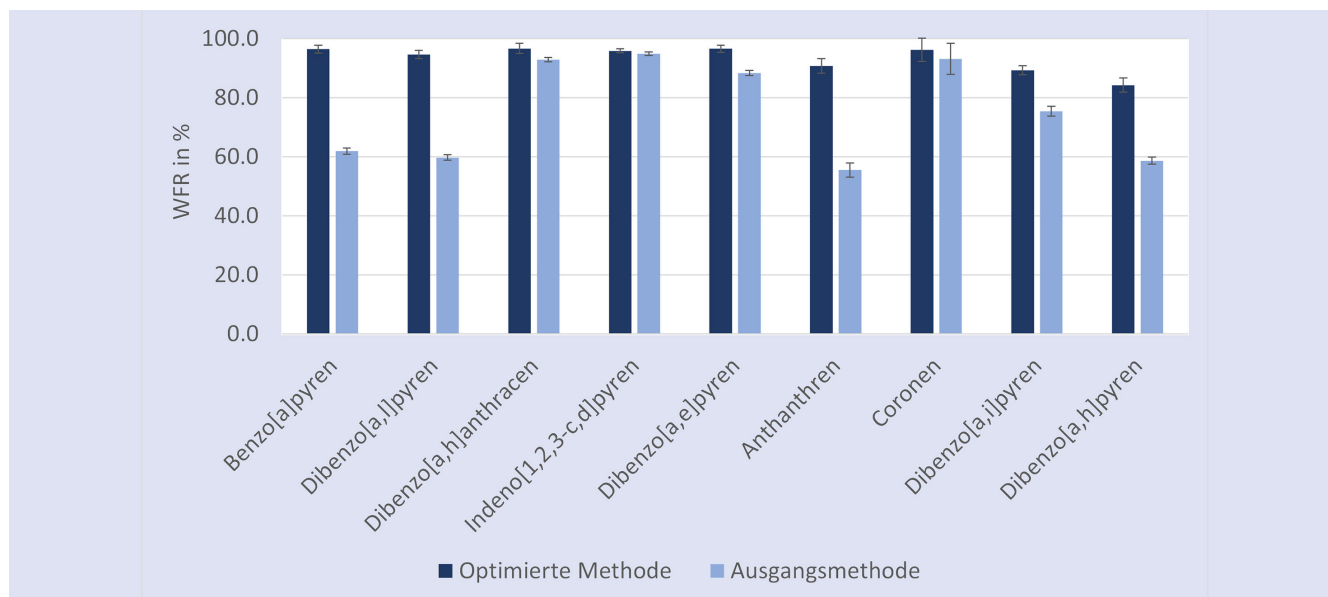


Bild 7. Vergleich der Wiederfindungsraten der optimierten Methode und der Ausgangsmethode. Grafik: IFA

effekte an der Innenwand des Glasvials werden durch die verkürzte Extraktionszeit reduziert, was sich insbesondere auf die stark hydrophoben PAK auswirkt [11].

5.4 Einfluss der Spritzenvorsatzfilter

Als letzter Schritt der Probenaufarbeitung wurde die Filtrierung des Extrakts variiert. Dazu wurden mehrere Spritzenvorsatzfilter unterschiedlicher Hersteller untersucht. Diese unterschieden sich im Material (PTFE, Cellulose, PVDF), in der Porengröße (0,2 und 0,45 μm) sowie im Durchmesser der Membran (13 und 25 mm). Nach Auswertung der Ergebnisse der Versuche hatte kein Spritzenvorsatzfilter einen signifikanten Einfluss auf das Analyseergebnis. Die Wahl des Spritzenvorsatzfilters beeinflusst demnach nicht die Extraktionseffizienz.

6 Zusammenfassung

Für die Analyse höhermolekularer PAK aus Luft wird neben einer leistungsstarken Detektion und Trenntechnik auch eine effiziente Möglichkeit des Sammelns der Analyten aus der Luft für deren Anreicherung benötigt. Neben dem effektiven Rückhalt der PAK auf dem Filtermedium spielt auch die Eignung des Materials für die weitere Aufarbeitung der Filter im Labor eine entscheidende Rolle. In den Laborversuchen konnte gezeigt werden, dass sich Quarzfaserfilter speziell für die Messung von höhermolekularen PAK nicht eignen, da eine vollständige Extraktion der Analyten vom Filtermedium nicht gewährleistet ist. Alternativ konnte gezeigt werden, dass PTFE-Filter, die bereits in Verfahren zur Messung der schwererflüchtigen Verbindungen der EPA-PAK zum Einsatz kommen, auch für die Analytik höhermolekularer PAK besser geeignet sind. Hierbei muss jedoch verstärkt auf die Eigenschaft einiger der PAK geachtet werden, sich an Plastikoberflächen von Vials oder Stüttschichten von PTFE-Filtern anzulagern. Ebenfalls konnte gezeigt werden, dass die routinemäßig für die Extraktion der PAK eingesetzte Mischung aus Acetonitril und Methanol nicht optimal für die Extraktion der höhermolekularen PAK geeignet ist. Für diese Anwendung haben sich

unpolarere Lösemittel wie Toluol als deutlich besser geeignet gezeigt. Insgesamt konnten die erreichten WFR für die PAK von der ursprünglich verwendeten Methode zur Belegung der Filter für das Referenzmaterial (Quarzfaserfilter, Trocknung an der Luft, Extraktion mit Acetonitril/Methanol) hin zur optimierten Methode (PTFE-Filter, Trocknung der Filter unter Luftstrom mit separater Dotierung der Lösung für Dibenzo[a,l]pyren, Extraktion mit Toluol) deutlich gesteigert werden (Bild 7). Die optimierte Vorgehensweise für die Belegung der Filter kann so für die Herstellung von Referenzmaterialien für den Ringversuch für höhermolekulare PAK eingesetzt werden. Das optimierte Extraktionsverfahren kann bei der Entwicklung einer Analysenmethode für die hier eingesetzten PAK als Grundlage für die weitere Verfahrensausarbeitung genutzt werden.

Literatur

- [1] Sander, L.C.; Wise, S.A.: Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Structure Index. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, USA 2020.
- [2] Keith, L.H.: The Source of U.S. EPA's Sixteen PAH Priority Pollutants. Polycycl Aromat Comp 35 (2015), S. 147-160.
- [3] Technische Regeln für Gefahrstoffe: Arbeitsplatzgrenzwerte (TRGS 900). GMBI. (2006) Nr. 1, S. 41-55; zul. geänd. GMBI. (2024), Nr. 1, S. 18.
- [4] Technische Regeln für Gefahrstoffe: Risikobezogenes Maßnahmenkonzept für Tätigkeiten mit krebserzeugenden Gefahrstoffen (TRGS 910). GMBI. (2014) Nr. 12, S. 258-270; zul. geänd. GMBI. (2023), Nr. 30, S. 627.
- [5] CLP-Verordnung, Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Dezember 2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und Aufhebung der Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG und zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006, Brüssel 2008.
- [6] Collins, J.F.; Brown, J.P.; Alexeeff, G.V.; Salmon, A.G.: Potency Equivalency Factors for Some Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Derivatives. Regul Toxicol Pharm 28 (1998), S. 45-54.
- [7] Teich, E.; Heinrich, B.: BK-Report 1/2022 Ermittlung der Benzo[a]pyren-Dosis (BaP-Jahre), 3. Ed. Hrsg.: Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung (DGUV), Berlin 2022.

- [8] *Andersson, J.T.; Achten, C.*: Time to Say Goodbye to the 16 EPA PAHs? Toward an Up-to-Date Use of PACs for Environmental Purposes. *Polycycl Aromat Comp* 35 (2015), S. 330-354.
- [9] *Hahn, J.U.; Assenmacher-Maiworm, H.*: Polycyclische Aromatische Kohlenwasserstoffe (PAH) [Air Monitoring Methods in German language, 2003a]. The MAK-Collection for Occupational Health and Safety (eds and), 2012.
- [10] *Koelmans, A.A.; Bakir, A.; Burton, G.A.; Janssen, C.R.*: Microplastics as a Vector for Chemicals in the Aquatic Environment: Critical Review and Model-Supported Reinterpretation of Empirical Studies. *Environ Sci Tech* 50 (2016), S. 3315-3326.
- [11] *Qian, Y.; Posch, T.; Schmidt, T.C.*: Sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on glass surfaces. *Chemosphere* 82 (2011), S. 859-865.
- [12] *Katz, A.K.; Carrell, H.L.; Glusker, J.P.*: Dibenzo[a,l]pyrene (dibenzo[def,p]chrysenes): fjord-region distortions. *Carcinogenesis* 19 (1998), S. 1641-1648.
- [13] *Assenmacher-Maiworm, B.; Breuer, D.*: Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK), schwerer flüchtig (Kennzahl 8408). In: IFA-Arbeitsmappe, Lfg. 1/2018. Hrsg.: Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung (DGUV), Berlin 2018 – Losebl.-Ausg.

Julia Linke,
Paula Bockschewsky,
Dr. rer. nat. Daniel Köster
Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (IFA), Sankt Augustin.