

Abschlussbericht

Optimierung der EOF-Analytik unter Berücksichtigung der Beiträge verschiedener Stoffklassen poly- und perfluorierter Verbindungen

von

Frank Sacher, Frank Thomas Lange, Karsten Nödler, Marco Scheurer, Jens Müller,
Gudrun Nürnberg, Joachim Janda, Finnian Freeling
DVGW-Technologiezentrum Wasser (TZW), Karlsruhe

Matthias Muschket, Nils Keltsch, Heidrun Paschke, Thorsten Reemtsma,
Urs Berger
Helmholtz Zentrum für Umweltforschung (UFZ), Leipzig

Christian Zwiener, Selina Tisler, Boris Bugsel
Eberhard Karls Universität, Institut für Umweltanalytik, Tübingen

Martin Schlummer
Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung (IVV), Freising

Jörn Breuer, Melanie Mechler, Daniel Beiser
Landwirtschaftliches Technologiezentrum Augustenberg (LTZ), Karlsruhe

Heinz-R. Köhler, Sabrina Wilhelm, Carla Lorenz
Eberhard Karls Universität, Institut für Evolution und Ökologie, Tübingen

Förderkennzeichen: L7517011-16

Laufzeit: 01.08.2017 – 31.10.2018

Die Arbeiten dieses Projekts wurden mit Mitteln
des Landes Baden-Württemberg durchgeführt.

April 2019



Baden-Württemberg

MINISTERIUM FÜR UMWELT, KLIMA UND ENERGIEWIRTSCHAFT

Abkürzungsverzeichnis

2H-PFCA	2H-Perfluoralkylsäure
2H-PFDA	2H-Perfluordecansäure
7H-6:1 FTAC	7H-6:1 Fluortelomeracrylat
ACN	Acetonitril
ADI	Acceptable daily intake
BDD-Elektrode	Bordotierte Diamantelektrode
BG	Analytische Bestimmungsgrenze
CAS	Chemical Abstract Service
CIC	Combustion Ion Chromatography (Verbrennungsaufschluss gekoppelt mit der Ionenchromatographie)
C _{org}	Organischer Kohlenstoffgehalt eines Bodens
DIN	Deutsches Institut für Normung e.V.
diPAP	Polyfluoralkylphosphorsäurediester
diSAmPAP	Perfluoroctansulfonamidoethanol-basierter Phosphatdiester
EC ₅₀	Mittlere effektive Konzentration
EOF	Extrahierbares organisch gebundenes Fluor
EPED	Echelle-Plasma-Emissions-Detektor
ESI	Elektrospray-Ionisierung
EtFASAA	N-Ethyl-Perfluoralkylsulfonamidoessigsäure(n)
EtFASA	N-Ethyl-Perfluoroalkylsulfonamid(e)
EtFASAC	N-Ethyl-Perfluoroalkylsulfonamidoethylacrylat(e)
EtFASMAC	N-Ethyl-Perfluoroalkylsulfonamidoethylmethacrylat(e)
EtFOSA	N-Ethyl-Perfluoroctansulfonamid
EtFOSAA	N-Ethyl-Perfluoroctansulfonamidoessigsäure
EtFOSE	N-Ethyl-Perfluoroctansulfonamidoethanol
FASA	Perfluoralkylsulfonamid(e)
FBSA	Perfluorbutansulfonamid
FEtSA	Perfluorethylsulfonamid
FG	Frischgewicht
FHxSA	Perfluorhexansulfonamid
FOSA	Perfluoroctansulfonamid
FOSAA	Perfluoroctansulfonamidoessigsäure
FOSE	Perfluoroctansulfonamidoethanol
FTAC	Fluortelomeracrylat(e)
FTAL	Fluortelomeraldehyd(e)
FTCA	Fluortelomercarbonsäure(n)
FTI	Fluortelomeriodid(e)
FTMAC	Fluortelomermethacrylat(e)
FTOAc	Fluortelomeracetat(e)
FTSA	Fluortelomersulfonsäure(n)
FTUCA	Ungesättigte Fluortelomersäure(n)

FTUAL	Ungesättigte(r) Fluortelomeraldehyd(e)
FTOH	Fluortelomeralkohol(e)
GC	Gaschromatographie
GPC	Gelpermeationschromatographie
HDPE	Hart-Polyethylen (von Engl.: high density polyethylene)
HFIP	Hexafluorisopropanol
HPFHpA	7 <i>H</i> -Dodecafluorheptansäure
IC	Ionenchromatographie
IS	Interner Standard
IVV	Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung, Freising
K _{ow}	Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient
LC	Flüssigkeitschromatographie (von engl.: liquid chromatography)
LF	Leitfähigkeitsdetektion
LOEC	Lowest observed effect concentration
LTZ	Landwirtschaftliches Technologiezentrum Augustenberg (LTZ)
MeFASA	<i>N</i> -Methyl-Perfluoroalkylsulfonamid(e)
MeFASAC	<i>N</i> -Methyl-Perfluoroalkylsulfonamidoethylacrylat(e)
MeFASMAC	<i>N</i> -Methyl-Perfluoroalkylsulfonamidoethylmethacrylat(e)
Me ₂ FOSA	<i>N,N</i> -Dimethyl-Perfluorooctansulfonamid
MeFOSA	<i>N</i> -Methyl-Perfluorooctansulfonamid
MeFOSAA	<i>N</i> -Methyl-Perfluorooctansulfonamidoessigsäure
MeFOSE	<i>N</i> -Methyl-Perfluorooctansulfonamidoethanol
MeOH	Methanol
monoPAP	Polyfluoralkylphosphorsäuremonoester
monoSAmPAP	Perfluorooctansulfonamidoethanol-basierte(r) Phosphatmonoester
MME-Kalibrierung	“matrix matched and extracted“-Kalibrierung (matrixangepasste Kalibrierung)
MRM	Multiple Reaction Monitoring
MS	Massenspektrometrie
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie
MTBE	Methyl- <i>tert</i> -butylether
MW	Molekulargewicht
n:3 Acid	n:3 Säure
NG	Nachweisgrenze
NOAEL	No observed adverse effect level
NOEC(L)	No observed effect concentration (level)
PCI	Positive chemische Ionisation
PAP	Polyfluoralkylphosphorsäureester
PFAA	Perfluoralkylsäuren
PFAI	Perfluoralkyliodid(e)
PFAL	Perfluoralkylaldehyd(e)
PFAS	Per- und polyfluorierte Alkylsubstanz(en)

PFBA	Perfluorbutansäure
PFBS	Perfluorbutansulfonsäure
PFC	Perfluorierte Chemikalie(n), perfluorierte Verbindung(en) (von engl.: perfluorinated chemical(s) oder perfluorinated compound(s)); veralteter Begriff für PFAS
PFCA	Perfluorierte Carbonsäure(n)
PFDA	Perfluordecansäure
PFDoA	Perfluordodecansäure
PFDS	Perfluordecansulfonsäure
PFHpA	Perfluorheptansäure
PFHpS	Perfluorheptansulfonsäure
PFHxA	Perfluorhexansäure
PFHxS	Perfluorhexansulfonsäure
PFNA	Perfluornonansäure
PFOA	Perfluoroctansäure
PFOS	Perfluoroctansulfonsäure
PFOSI	Perfluoroctansulfinsäure
PFPA	Perfluoralkylphosphonsäure(n)
PFPiA	Perfluoralkylphosphinsäure(n)
PFPeA	Perfluorpentansäure
PFPrA	Perfluorpropansäure
PFTeDA	Perfluortetradecansäure
PFTrDA	Perfluortridecansäure
PFSA	Perfluorierte Sulfonsäure(n)
PFUnA	Perfluorundecansäure
PNEC	Predicted no-effect concentration
PP	Polypropylen
PTFE	Polytetrafluorethylen
QTOF	Kopplung Quatrupolmassenspektrometer-Flugzeitmassenspektrometer (von engl.: quadrupole-time of flight)
RP	Umkehrphase(n) (von engl.: reversed phase)
SAmPAP	Perfluoroctansulfonamidoethanol-basierte(r) Phosphatester
SPE	Festphasenextraktion (von engl.: solid-phase extraction)
S/R	Signal-Rausch-Verhältnis
UFZ	Helmholtz Zentrum für Umweltforschung, Leipzig
TFA	Trifluoracetat
TK	Transpirationskoeffizient
TOP-Assay	Total Oxidizable Precursor-Assay
triPAP	Polyfluoralkylphosphorsäuretriester
TS	Trockensubstanz
TÜ	Eberhard Karls Universität, Institut für Umweltanalytik, Tübingen
TZW	DVGW-Technologiezentrum Wasser
UHPLC	Ultra-Hochleistungs-Flüssigchromatographie

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	13
2	Zielsetzung und Struktur des Forschungsprojekts	15
3	Bereitstellung geeigneter Untersuchungsproben, Probennahme, Proben- vorbehandlung.....	18
3.1	Aufwuchsversuche zum Transfer Boden-Pflanze	18
3.2	Probenmaterial	22
4	Methodenentwicklung und Ergebnisse	28
4.1	Summarische Analysemethoden	28
4.1.1	Extrahierbares organisch gebundenes Fluor (EOF)	28
4.1.2	TOP-Assay	40
4.1.3	Elektrochemische Oxidation	51
4.2	Einzelstoffanalytik.....	54
4.2.1	Polyfluorierte Alkylphosphatester (PAP und diSamPAP).....	54
4.2.2	Trifluoracetat (TFA).....	60
4.2.3	Abbauprodukte von FTOH- und FOSE-basierten Produkten.....	68
4.2.4	Fluortelomeracrylate	80
4.3	Screeningmethoden.....	94
4.3.1	Non-Target-Screening	94
4.3.2	Echelle-Plasma-Emissions-Detektor (EPED).....	111
4.4	Literaturstudien	114
4.4.1	Biologische Wirkungen von PFAS	114
4.4.2	Einsatz von PFAS in Verpackungspapieren	122
5	Zusammenfassung und Interpretation der Ergebnisse	123
6	Literatur	129
7	Anhang	134

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	In technischen Produkten eingesetzte polyfluorierte Vorläuferverbindungen (Präkursoren; hier am Beispiel eines polyfluorierten Phosphatdiesters (diPAP) gezeigt) können zu einfachen perfluorierten Verbindungen transformieren, die mit Standardverfahren der Einzelstoffanalytik detektiert werden können.	13
Abbildung 2:	Schematische Darstellung der Arbeiten der einzelnen Projektpartner in dem Verbundprojekt EOFplus.	16
Abbildung 3:	Schematische Darstellung der Herangehensweisen der im vorgeschlagenen Projekt angewendeten analytischen Methoden zur Bestimmung von Präkursoren und deren Zwischenabbauprodukte.	17
Abbildung 4:	Kick-Brauckmann-Gefäße mit Weidelgrasaufwuchs.	19
Abbildung 5:	Schema der einzelnen Arbeitsschritte zur Bestimmung des EOF entsprechend dem Stand des Vorgängerprojekts.	28
Abbildung 6:	Arbeitsschritte des Clean-Up-Schritts zur Entfernung anorganischen Fluorids aus dem methanolischen Extrakt entsprechend dem Stand des Vorgängerprojekts.	29
Abbildung 7:	Ergebnisse der EOF-Analysen für zwei belastete Bodenproben bei unterschiedlichen Einwaagen.	31
Abbildung 8:	Leitfähigkeitsmessung eines verdünnten (1:10) Extraktes vor dem Clean-up-Schritt mittels SPE aus einer Extraktion von 5 g Boden (links) und eines Kontrollpunktes mit einer Konzentration von 100 µg/L (rechts).	32
Abbildung 9:	Wiederfindung von PAP nach unterschiedlichen Standzeiten in wässriger Lösung (Wassergehalt >95 %).	32
Abbildung 10:	Wiederfindung des Kontrollstandards PFBS über das Gesamtverfahren in unterschiedlichen pflanzlichen Matrices (Einwaage 1 g, n = 4), die sowohl auf mit PFAS belasteten wie auf unbelasteten Standorten angebaut wurden.	33
Abbildung 11:	Messfertige Extrakte von Maismehl (links) und Maisblättern (rechts) nach Extraktion und Clean-up-Schritt.	34
Abbildung 12:	Ionenchromatogramm eines verdünnten (1:10) Probenextraktes vor dem Clean-up-Schritt mittels SPE und Verbrennung aus einer Extraktion von Maiskorn (links) und einer Direktverbrennung der Probe mittels CIC (rechts).	35
Abbildung 13:	Wiederfindungen verschiedener PFAS unter Berücksichtigung von Extraktion und Clean-up-Schritt des EOF-Analysenprotokolls. Analyse mittels LC-MS/MS in verschiedenen Matrices. Boden = 12 µg/kg, Maisblätter = 30 µg/kg, Maismehl/Weizenmehl = 60 µg/kg.	36
Abbildung 14:	Wiederfindung der untersuchten 22 per- und polyfluorierten Carbon- und Sulfonsäuren und FOSA in unterschiedlichen Matrices. Die jeweils obere und untere Begrenzung der Boxen beschreibt den Bereich zwischen dem 1. Quartil und dem 3. Quartil. Die Linie in der Box gibt den Median an, die Whisker das 5- und das 95-Perzentil, die Punkte Minimal- und Maximalwert.	37
Abbildung 15:	Kalibriergeraden für die Modellverbindung PFBS über das EOF-Gesamtverfahren und zugehörige Validierungsparameter für die Matrices Boden, Maismehl und Maisblatt, r^2 = Bestimmtheitsmaß, BG = Bestimmungsgrenze.	38

Abbildung 16: Schema der einzelnen Arbeitsschritte zur Bestimmung des EOF entsprechend dem Stand am Ende des EOFplus-Vorhabens.	38
Abbildung 17: EOF-Gehalte in Boden- und Pflanzenproben. b = Standort mit PFAS-Belastung.	39
Abbildung 18: Absolute Extraktionswiederfindungen nach dreistufiger Extraktion der dotierten Analyten aus einer matrixfreien Aufschlusslösung.	42
Abbildung 19: Vereinfachter Workflow des entwickelten Verfahrens.	45
Abbildung 20: Gehalte ausgewählter PFAS vor und nach TOP-Assay in der Probe Hügelsheim, b (E-HÜ1b-B-GG).	47
Abbildung 21: Gehalte ausgewählter PFAS vor und nach TOP-Assay in der Probe Wi-MP1, b.	48
Abbildung 22: Gehalte ausgewählter PFAS vor und nach TOP-Assay in der Probe E50-6, b.	48
Abbildung 23: Gehalte ausgewählter PFAS vor und nach TOP-Assay in der Probe NAW, b.	48
Abbildung 24: Elektrochemischer Abbau von 6:2/8:2 diPAP und Bildung von PFCA bei 3 V und pH 9 über 8 h (Versuch EC 1).	52
Abbildung 25: Elektrochemischer Abbau von 6:2/8:2 diPAP und Bildung von PFCA unter Zugabe von Sulfatradikalen bei 3 V und pH 9 über eine Stunde (Versuch EC 2).	52
Abbildung 26: Schema für den Mechanismus des elektrochemischen Abbaus von PFCA (Abb. aus Niu et al., 2012).	53
Abbildung 27: Absolute Wiederfindungen und Extraktionsausbeuten von 6:2 diPAP und 8:2 diPAP in fünf Pflanzenmaterialien (unbelastet) basierend auf einer Dreifachbestimmung dotierter Proben (Dotierniveau: 25 µg/kg).	56
Abbildung 28: Chromatogramme eines 5 µg/kg-PAP/diSAmPAP-Multistandards nach Extraktion aus (a) Boden und (b) Maisblatt; (1) 6:2 diPAP, (2) 6:2/8:2 diPAP, (3) 8:2 diPAP und (4) diSAmPAP.	57
Abbildung 29: Kalibriergeraden für 6:2 diPAP nach Flächenkorrektur durch einen internen Standard für die drei zur Validierung verwendeten Matrices Boden, Maisblatt und Maiskorn sowie die dazu gehörige direkte Kalibrierung aus Bezugslösungen (MeOH + 0,1 % NH ₄ OH).	57
Abbildung 30: Messsignal des nativen TFA und dessen internen Standards nach Extraktion desselben Bodens für unterschiedliche Einwaagen von Natriumsulfat.	65
Abbildung 31: Messsignale von TFA und internem Standard nach Abdampfen von identisch dotierten TFA-Lösungen (10 ng absolut) in MeOH und ACN und Wiederaufnahme des Trockenrückstandes in ACN.	66
Abbildung 32: Schemata (a) der Extraktion aus Probenmatrix und (b) der Verwendung von ENVI-Carb zur Sorption von gelöster Probenmatrix mit dem Ziel der Minimierung des Matrixeffekts.	69
Abbildung 33: Wiederfindungen und Matrixeffekte der Analyten nach Extraktion von dotierten (a) Bodenproben (dotiert mit 2 µg/kg; n = 3) und (b) Maisblättern (dotiert mit 10 µg/kg; n = 2).	71
Abbildung 34: Übersicht der Variation der Signalfächen von sechs internen Standards (dotiert mit 2 µg/kg) zur Kontrolle der Wiederholbarkeit der Quantifizierung von (a) kontaminierten Maiskorn(MK)-Proben (Triplikate) und von (b) einer Verdünnungsreihe aus zehn	

Einzelproben von dotierter, unkontaminierter Mais Kornmatrix (zur Erstellung der MME-Kalibrierung und zur Bestimmung der NG und BG nach DIN 32645).....	76
Abbildung 35: Beispiel für die Molmassenverteilung einzelner eingesetzter fluorierter Papierhilfsmittel.	81
Abbildung 36: Prinzip der Abtrennung niedermolekularer PFAS und der oxidativen Konversion hochpolymerer Fluoracrylate zu niedermolekularen PFAS sowie der alternativen Thermo-/Hydrolyse zu monomeren Fluoracrylaten (grauer Pfad).	82
Abbildung 37: Chromatogramm eines 100 ng/g Acrylat-Standards in n-Hexan.	84
Abbildung 38: 7H-6:1 FTAC- und 6:2 FTAC-Kalibration.	85
Abbildung 39: 6:2 FTMAC- und 8:2 FTMAC-Kalibration.	85
Abbildung 40: Massenfragmentogramm von 8:2 FTMAC und des internen Standards (10:2 FTOH, vierfach ¹³ C-markiert) bei aufgestockter Probe E-WE-B-OG.	88
Abbildung 41: Gemessene Gehalte der einzelnen PFAS in dotiertem Seesand, bezogen auf die Trockenmasse der zugegebenen Menge des Papierhilfsmittels Cartafluor.	91
Abbildung 42: Konzentrationen an PFAS in den Bodenproben nach Abzug der Blindwertkonzentrationen. ...	92
Abbildung 43: Ergebnisse für die Probe E-Hü16-B-GG nach Probenaufbereitung mit (schwarze Balken) und ohne GPC-Fraktionierung (graue Balken) für die untersuchten PFAS.	93
Abbildung 44: Datenreduktion durch Anwendung des Massendefektfilters n,9 bis n,0 für hochfluorierte und andere Verbindungen mit negativem Massendefekt.....	94
Abbildung 45: Schematisches Vorgehen bei der Datenauswertung durch FindSeries.....	96
Abbildung 46: Schematische Darstellung der Bodenextraktion.	97
Abbildung 47: Retentionszeitverlauf der gefundenen PFSA. Ein nahezu linearer Zusammenhang zwischen Retentionszeit und Kettenlänge ist erkennbar.	100
Abbildung 48: Chromatogramme der Massenspuren für diPAP-Homologe. Die systematische Verlängerung der Retentionszeit mit zunehmender Kettenlänge ist deutlich erkennbar.	101
Abbildung 49: Chromatogramme mit den Massenspuren der einzelnen Vertreter der Stoffklassen diSAmPAP, monoPAP, PFCA, PFSA.	101
Abbildung 50: Aerober Abbau von 8:2 FTOH in Böden (nach Liu und Mejia Avendaño, 2013).....	103
Abbildung 51: Oben: MS/MS-Spektrum von 2H-PFDA (Liu et al., 2015). Unten: MS/MS Spektrum (20 eV) der kontaminierten Bodenprobe E-Hü-1b-B-GG (Peak bei RT = 2,73 min), das mit dem Spektrum von 2H-PFDA übereinstimmt.	104
Abbildung 52: Chromatogramme mit den Massenspuren für Polyfluorpolyether und Strukturformel des technischen Produkts Fomblin HC/P2 1000, sichtbar ab 50 ppm Extraktionsgenauigkeit.	105
Abbildung 53: Nicht identifizierte homologe Reihe, deren Vertreter eine systematische Retentionszeitverschiebung aufweisen.	105
Abbildung 54: Vergleich von diPAP-Homologen in Papier- und Bodenproben.....	106
Abbildung 55: Prozentuale Intensitätsverteilung der Stoffklassen mit den höchsten Signalintensitäten.	107

Abbildung 56: Anteil von diPAP-Homologen (graue Balken) und deren abgeschätzte Konzentrationen auf Basis eines Responsefaktors für die quantitativ bestimmten Konzentrationen von 6:2 und 8:2 diPAP (rote Balken; Messwerte vom TZW in grünen Kreisen). Die Summe der Konzentrationen der diPAP ergibt etwa 620 µg/kg.	108
Abbildung 57: Relative Signalintensitäten der diPAP in kontaminierten Bodenproben zeigen ein ähnliches Verteilungsmuster der Proben aus dem Raum Mannheim im Vergleich zu Hügelsheim (E-Hü-1b-B-GG).	109
Abbildung 58: Vergleich der Signalintensitäten für PFOS, EtFOSAA und die Substanzklassen der diSAmPAP und der diPAP in den Bodenproben aus Mannheim (Wi-MP1; NAW; E50-6) und Hügelsheim (E-Hü-1b-B-GG).	109
Abbildung 59: Vergleich der Signal-Intensitäten ausgewählter PFAS im belasteten Boden Hügelsheim (E-Hü-1b-B-GG) und im unbelasteten Boden von Forchheim (E-FO-U-GG).	110
Abbildung 60: Chromatogramme der extrahierten Ionen (EIC) für Perfluorcarbonsäuren (PFCA) in den Pflanzenextrakten von Topinambur (E-TO-B-GG; E-TS-B-GG; links und Mitte) und Weidelgras (E-WG-B-GG; rechts) von belastetem Boden.	111
Abbildung 61: Fluorselektiver Detektor GC-EPED.	111
Abbildung 62: Beispiel 600 µg/ml FTOH-Standard (v. l. n. r.: 4:2 FTOH, 6:2 FTOH, 8:2 FTOH, 10:2 FTOH), Messbedingungen: 80 °C, Pipe, interner Standard 343 ng Perfluorbenzol.	112
Abbildung 63: WiMP1 getrocknet (schwarz) und nicht getrocknet (blau), Messbedingungen, 60°C, PWT, Interner Standard 343 ng Perfluorbenzol.	113
Abbildung 64: Anzahl der gefundenen Studien für verschiedene Substanzfamilien von Interesse nach Buck et al. (2011). Die roten Balken beziehen sich auf Literatur über humantoxische Effekte, die grünen Balken auf ökotoxikologische Effekte. Für PFCA und PFSA lag die Anzahl der Studien weit über der für andere Substanzfamilien gefundenen. Die Kategorie „andere“ enthält u. a. Studien zu Perfluoralkansulfonamiden (FOSA, EtFOSA und MeFOSA), Perfluoralkansulfinsäuren (PFOSi) und Natriummono- und -trifluoracetat).	117
Abbildung 65: Verwendete Testsysteme in der (A) humantoxikologischen Literatur und (B) ökotoxikologischen Literatur. Die Graphik zu den humantoxikologischen Studien enthält die Testsysteme aus insgesamt 106 wissenschaftlichen Artikeln, die der ökotoxikologischen Studien die Testsysteme aus 58 Veröffentlichungen.	118
Abbildung 66: Untersuchte Testsysteme in der (A) humantoxikologischen und (B) ökotoxikologischen Literatur. Die Graphik zu den humantoxikologischen Studien enthält die Endpunkte aus insgesamt 106 wissenschaftlichen Artikeln, die der ökotoxikologischen Studien die Endpunkte aus 58 Veröffentlichungen.	119
Abbildung 67: Vergleich von EOF mit der ΣF aus PFAS; die Prozentzahlen in den Balken des EOF geben die Höhe des unbekanntem EOF-Anteils an.	127

Tabellenverzeichnis

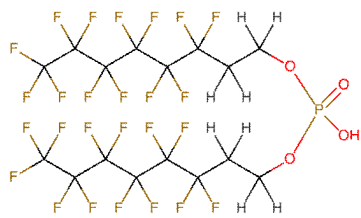
Tabelle 1:	Kenndaten der für die Gefäßversuche verwendeten Böden. Soweit zutreffend beziehen sich die Angaben auf die Trockenmasse. n. b.: nicht bestimmbar.....	19
Tabelle 2:	PFAS-Gehalte und deren Summe am Standort Hügelsheim (Mittelwert aus der Analyse von PFAS im Boden in 20 Versuchsgefäßen). Ergebnisse für die Einzelstoffe PFBA, PFBS, PFHxS und PFDS n. b. (< 5 µg/kg). Der Wert in Klammern für PFPeA ergibt sich, weil dieser Stoff in einigen Gefäßen über der BG bestimmbar war. Alle Angaben in µg/kg in der Trockenmasse.....	19
Tabelle 3:	Bodeneigenschaften (Oberboden) an den Standorten der Freilandversuche des LTZ zum PFAS-Transfer in Ackerkulturen. Soweit zutreffend beziehen sich die Angaben auf die Trockenmasse.....	20
Tabelle 4:	Variation der PFAS-Gesamtgehalte (Summe Einzelstoffe) an den Versuchsstandorten Hügelsheim und Steinbach in µg/kg. n. b.: nicht bestimmbar (< 5 µg/kg).	21
Tabelle 5:	Transfer von PFAS (Summe Einzelstoffe, Median in µg/kg von jeweils vier Versuchspartnern) in das Erntegut verschiedener ackerbaulicher Kulturen an den Versuchsstandorten Hügelsheim und Steinbach (Erntejahre 2016 und 2017). n. b.: nicht bestimmbar (<2 µg/kg).	22
Tabelle 6:	Übersicht der Proben, die für die Projektpartner hergestellt und aufbereitet wurden.	24
Tabelle 7:	PFAS-Gehalte (Summe Einzelstoffe in µg/kg) in einer Bodenprobe vom Standort Hügelsheim, die im Rahmen des EOFplus-Projektes vorbereitet und verteilt wurde. Für PFBA, PFPeA, PFHxA, PFHpA, PFBS, PFHxS und PFDS alle Ergebnisse n. b. (<5 µg/kg), daher nicht dargestellt.	27
Tabelle 8:	PFAS-Gehalte (Summe Einzelstoffe in µg/kg) in Pflanzenproben, die im Rahmen des EOFplus-Projektes vorbereitet und verteilt wurden. Für PFNA, PFUnA, PFBS, PFHxS und PFDS alle Ergebnisse n. b. (<2 µg/kg), daher nicht dargestellt.	27
Tabelle 9:	Wiederfindung ausgewählter Vorläuferverbindungen als PFCA (in %) in verschiedenen Matrices; verschiedene Dotierungsniveaus der Vorläufer.	46
Tabelle 10:	F-Gehalte der Bodenproben, berechnet aus PFAA-Konzentrationen vor und nach TOP-Assay.....	49
Tabelle 11:	PFAA-Gehalte von Mais- und Weizenproben eines belasteten Standortes (b) sowie von Weidelgrasproben eines belasteten und unbelasteten (ub) Standortes vor (nativ) und nach TOP-Assay (TOP); Gehalte in µg/kg TS.	49
Tabelle 12:	PFCA-Gehalte von Topinamburproben (Knolle) vor (nativ) und nach TOP-Assay (TOP); Gehalte in µg/kg TS.....	50
Tabelle 13:	F-Gehalte der Pflanzenproben, berechnet aus PFAA-Konzentrationen vor und nach TOP-Assay.....	50
Tabelle 14:	Verfahrenskennndaten für 6:2 diPAP und 8:2 diPAP für die drei Matrices Boden, Maisblatt und Maiskorn.	58
Tabelle 15:	Verfahrenskennndaten für 6:2/8:2 diPAP und diSAmPAP für die drei Matrices Boden, Maisblatt und Maiskorn.	58
Tabelle 16:	Übersicht der diPAP- und diSAmPAP-Ergebnisse für die fünf Boden-Proben (µg/kg TS).	59

Tabelle 17:	TFA-Gehalte (in µg/kg) in den untersuchten Pflanzenproben für PFAS-belastete und - unbelastete Standorte; für Topinambur, geschält und Topinamburschale waren nur belastete Proben verfügbar.	63
Tabelle 18:	Einfluss von Natriumsulfat auf die Wiederfindung des internen Standards (IS) von TFA bei der methanolischen Extraktion unterschiedlicher Böden.	64
Tabelle 19:	TFA-Konzentrationen in µg/kg untersuchter Pflanzen- und Bodenproben; b = PFAS- belasteter Standort.	67
Tabelle 20:	Eingesetzte Mengen von Probenmatrix und ENVI-Carb in der optimierten Extraktionsmethode und resultierende Wiederfindungen mit Standardabweichungen der untersuchten Analyten nach der Extraktion von unbelasteten dotierten Boden- und Pflanzenproben.	70
Tabelle 21:	Übersicht über Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (rational und nach DIN 32645 ermittelt) in Maiskornmatrix. Für 5:3 Acid konnten keine NG und BG bestimmt werden, da diese außerhalb des verwendeten Kalibrierbereichs lagen.	72
Tabelle 22:	Übersicht über Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (rational und nach DIN 32645 ermittelt) in Maisblattmatrix. Fehlende NG und BG nach DIN 32645 bedeuten, dass die Kalibriergerade weniger als acht äquidistante Wertepaare enthielt und damit keine NG und BG berechnet werden konnten.	73
Tabelle 23:	Übersicht über rationale Nachweis- und Bestimmungsgrenzen in Boden.	73
Tabelle 24:	Übersicht über rationale Nachweis- und Bestimmungsgrenzen in Topinambur.	74
Tabelle 25:	Übersicht über rationale Nachweis- und Bestimmungsgrenzen in Weizenkorn.	74
Tabelle 26:	Übersicht über rationale Nachweis- und Bestimmungsgrenzen in Weidelgras.	75
Tabelle 27:	Resultate (Mittelwerte von Dreifachbestimmungen) der Quantifizierung der Analyten in den vier kontaminierten Bodenproben. Kursiv gedruckte Werte sind detektierte Analyten unterhalb der BG. Diese Werte sind nur semi-quantitativ zu verstehen, wie auch alle Werte für 5:3 und 7:3 Acid (ebenfalls kursiv). Leere Zellen sind Konzentrationen <NG (s. Tabelle 23 für NG und BG).	77
Tabelle 28:	Resultate (Mittelwerte von Dreifachbestimmungen) der Quantifizierung der Analyten in den belasteten Pflanzenproben (MB: Maisblatt, MK: Maiskorn, TG: Topinambur geschält, TS: Topinamburschale, WE: Weizenkorn, WG: Weidelgras). Kursiv gedruckte Werte sind detektierte Analyten unterhalb der BG. Diese Werte sind nur semi-quantitativ zu verstehen. Leere Zellen sind <NG (s. Tabelle 21, Tabelle 22 und Tabelle 24 bis Tabelle 26 für NG und BG). Konzentrationen in Klammern wurden durch IS-Quantifizierung bestimmt.	78
Tabelle 29:	Qualitative Analyse von extrahierten belasteten Böden (Hü1b, Wi-MP1, NAW, E50-6) und Maisblättern (MB), Maiskörnern (MK), Topinamburschale (TS), Topinambur geschält (TG), Weidelgras (WG) und Weizenkorn (WE).	79
Tabelle 30:	Verfügbare Standards von Fluoracrylaten.	83
Tabelle 31:	Retentionszeiten und Massen der Acrylate, Telomeralkohole und Sulfonamide zur Auftrennung auf einer ZB50-Säule.	83
Tabelle 32:	Ergebnisse der Screeninganalysen auf höhere Fluoracrylate. < BG: unterhalb der Bestimmungsgrenze (BG ca. 15 µg/kg) < BG*: unterhalb der Bestimmungsgrenze (erhöhte BG: 30-150 µg/kg).	89

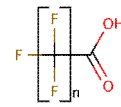
Tabelle 33:	Messergebnisse für die untersuchten Bodenproben.	92
Tabelle 34:	Vergleich der verschiedenen Extraktionsmethoden der kontaminierten Bodenprobe E-Hü-1b-B-GG nach Anzahl der Features homologer Reihen (CF ₂ -Einheiten).	97
Tabelle 35:	Ausgabe von homologen Reihen mit FindSeries für fünf ausgewählte Substanzklassen (Angabe der Massen als <i>m/z</i>).	99
Tabelle 36:	Identifizierte Substanzklassen und deren Homologe in der kontaminierten Bodenprobe Hügelsheim (E-Hü-1b-B-GG). Für die Identifizierung war ein Referenzstandard für mindestens einen Vertreter der homologen Reihe vorhanden (Standard), oder die vorläufige Identifizierung basiert auf akkurater Masse und einer systematischen Retentionszeitverschiebung (Homologe Reihe). Ausgabe von homologen Reihen mit FindSeries für fünf ausgewählte Substanzklassen (Angabe der Massen als <i>m/z</i>).	102
Tabelle 37:	Übersicht zur Gesamtanzahl der bewerteten Studien und der Anzahl an Endpunkten, die als „valide“, „bedingt valide“ (Endpunkte, die mehr als 4 aber nicht alle der Validitätskriterien nach Wright-Walters et al.(2011) erfüllt haben) und als „nicht valide“ bewertet wurden.	121
Tabelle 38:	In der vorliegenden Arbeit abgeleitete ⁽¹⁾ und aus von der Trenck et al. (2018) entnommene ⁽²⁾ GFS-Werte und GOW, daraus abgeleitete ADI und vorgeschlagene ADI nach US-EPA (2016).	122
Tabelle 39:	Liste der untersuchten Einzelsubstanzen; N _F = Anzahl fluorierter C-Atome im Molekül.	123
Tabelle 40:	Positivbefunde der untersuchten PFAS in den ausgewählten Boden- und Pflanzenproben; alle Angaben in µg/kg TS; BG = Bestimmungsgrenze*; k.A. = keine Angabe; Werte in Kursivschrift sind halbquantitative Werte.	124
Tabelle 41:	Fluorbilanz für die untersuchten Boden- und Pflanzenmaterialien.....	126

1 Einleitung

Seit dem Jahr 2013 waren großflächige Grundwasser- und Bodenkontaminationen mit per- und polyfluorierten Chemikalien (PFAS¹) in Mittelbaden und im Raum Mannheim bekannt geworden. Nach derzeitigem Kenntnisstand spielt die Ausbringung von mit Papierschlamm vermischtem Kompost eine wichtige Rolle, da aus den darin enthaltenen Papierchemikalien persistente und mobile PFAS entstanden sind.



Beispiel für Vorläuferverbindung:
Polyfluorierter Phosphatdiester (diPAP) aus Papierimprägnierung



n = 3 PFBA, Perfluorbutansäure
n = 4 PFPeA, Perfluorpentansäure
n = 5 PFHxA, Perfluorhexansäure

Ausbringung von kontaminiertem Kompost/Papierschlamm-Gemisch

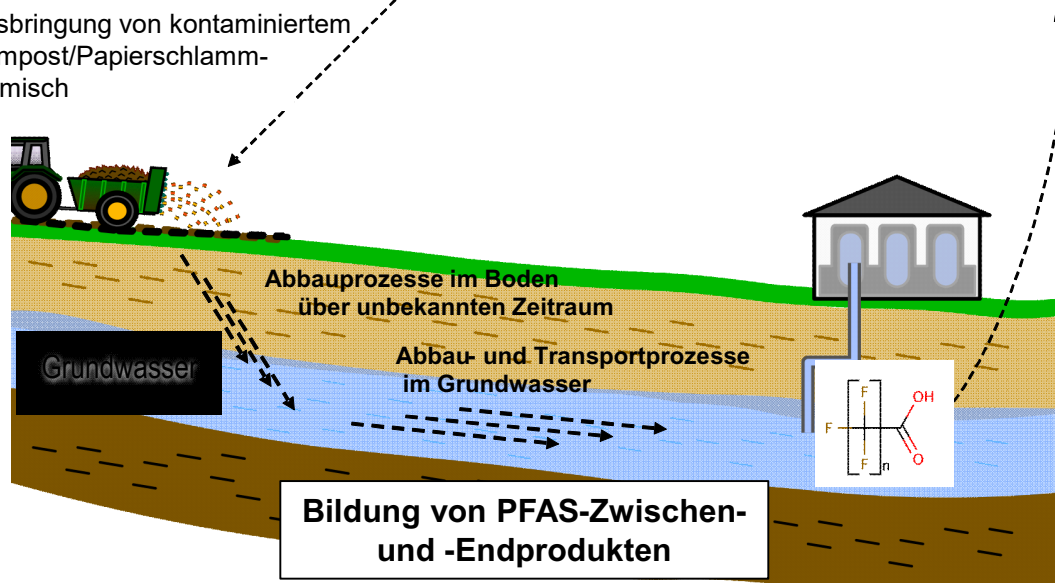


Abbildung 1: In technischen Produkten eingesetzte polyfluorierte Vorläuferverbindungen (Präkursoren; hier am Beispiel eines polyfluorierten Phosphatdiesters (diPAP) gezeigt) können zu einfachen perfluorierten Verbindungen transformieren, die mit Standardverfahren der Einzelstoffanalytik detektiert werden können.

¹ PFAS (von engl.: perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances) ist das inzwischen international gebräuchliche Akronym. In Deutschland wird häufig noch der veraltete Begriff PFC verwendet. In diesem Bericht wird aus Gründen der Klarheit durchgängig der Begriff PFAS im Sinne der von Buck et al. vorgeschlagenen Nomenklatur verwendet.

Durch diese Kontaminationen sind Wasserversorgungsunternehmen, die das dortige Grundwasser zur Trinkwassergewinnung nutzen, beeinträchtigt. Zudem wurden im Zusammenhang mit den PFAS-Verunreinigungen in Mittel- und Nordbaden Spuren von PFAS im Rahmen von Vor-Ernte-Monitorings auch in landwirtschaftlichen Produkten, die auf den belasteten Flächen erzeugt wurden, wie z. B. Weizen, Spargel, Topinambur und Erdbeeren, nachgewiesen, was in einzelnen Fällen zur vorsorglichen Vernichtung der Ernte führte.

Mittels Einzelstoffanalytik, z. B. gemäß den DIN-Normen DIN 38407-42:2011-03 und DIN 38414-14:2011-08 oder gleichwertigen Analyseverfahren, sind in wässrigen Proben und Feststoffen, z. B. in Boden- und Klärschlammproben nur eine begrenzte Auswahl per- und polyfluorierter Verbindungen (C_4 – C_{10} -Perfluoralkancarbonsäuren (PFCA), C_4 -, C_6 - und C_8 -Perfluoralkansulfonsäuren (PFSA) und ggf. einige weitere Verbindungen) erfassbar. Bei den analysierbaren Stoffen handelt es sich im Wesentlichen um Produktverunreinigungen und Abbauprodukte der in technischen Produkten enthaltenen fluorierten Wirkstoffe, wie z. B. Papierchemikalien, Fluortenside in Feuerlöschschaumprodukten oder Chemikalien zur Imprägnierung von Textilien, Leder u. a. m. Die wirksamen fluorierten Bestandteile entziehen sich aufgrund von Betriebsgeheimnissen und/oder mangels Verfügbarkeit analytischer Standards derzeit weitestgehend der quantitativen Analyse. Die in den Produkten enthaltenen fluorierten Wirkstoffe werden in der Umwelt häufig durch abiotische und biotische Abbauvorgänge über Zwischenstufen zu stabilen Transformationsprodukten abgebaut. Sie stellen also Vorläuferverbindungen (Präkursoren) von PFCA und PFSA dar. Aufgrund der enormen Substanzvielfalt von derzeit allein 4730 mit CAS-Nr. belegten Substanzen (OECD, 2018) der in den letzten etwa sechs Jahrzehnten entwickelten und angewandten PFAS, erscheint eine integrale Vorgehensweise vor dem Hintergrund einer vorsorgeorientierten, ergänzenden Betrachtung von Grenzwerten für PFAS angebracht.

Daher wurde in einem vorangegangenen Projekt des TZW der summarische Parameter EOF (extrahierbares organisch gebundenes Fluor) für Bodenproben und weitere Feststoffe, wie Klärschlamm und Kompost implementiert (Lange et al., 2017). Damit waren Organofluorgehalte ab einer Bestimmungsgrenze von 50 µg/kg TS quantitativ erfassbar. Durch einen Vergleich von als EOF gemessenem Organofluor mit dem aus der Einzelsubstanzanalytik berechneten Organofluor konnten in den untersuchten Bodenproben unbekannte Anteile des EOF von 40 % bis 90 % ermittelt werden. Es wurde vermutet und inzwischen durch Tiefenprofiluntersuchungen auf die Parameter EOF und einzelne PFAS an drei Standorten im Raum Rastatt/Baden-Baden gezeigt, dass sich die Hauptmenge der zu PFCA und PFSA abbaubaren Präkursoren im Pflughorizont auch nach bis zu zehn Jahren nach der Ausbringung dieser Chemikalien in einer Tiefe bis etwa 40 cm Tiefe befinden (Landkreis Rastatt, 2018).

Auf der Basis dieser Kenntnisse wurde das weiterführende Vorhaben EOFplus (Optimierung der EOF-Analytik unter Berücksichtigung der Beiträge verschiedener Stoffklassen poly- und perfluorierter Verbindungen) initiiert, das die im folgenden Kapitel beschriebenen Zielsetzungen hatte.

2 Zielsetzung und Struktur des Forschungsprojekts

Das Vorhaben EOFplus knüpfte an den in der Einleitung beschriebenen Kenntnisstand an. Ein wesentliches Ziel war die weitere Charakterisierung und Identifizierung bisher nicht bekannter Fraktionen von PFAS im EOF von kontaminierten Böden und deren Potenzial zur Bildung mobiler PFAS-Transformationsprodukte. Zur Schließung der Erklärungslücke, die bisher zwischen EOF- und Einzelstoffanalytik besteht, sollten Nachweismethoden insbesondere für solche Stoffe entwickelt werden, die in der Vergangenheit in der Papierindustrie eingesetzt wurden und daher vermutlich maßgeblich zur Belastungssituation der untersuchten Flächen beitragen. Da durch die bekannte Belastungssituation im Raum Rastatt/Baden-Baden dort ansässige landwirtschaftliche Betriebe wirtschaftlich betroffen sind, wurde auch der Transfer von ausgewählten Stoffen vom Boden in Pflanzen durch kontrollierte Aufwuchs- und Freilandversuche adressiert. Durch die Literaturstudien und Experteninterviews sollten zudem Daten zur biologischen Wirkung sowie zum historischen und aktuellen Einsatzspektrum von PFAS zusammengefasst werden.

Konkret hatte das Projekt zum Ziel,

- die Empfindlichkeit der EOF-Bestimmung zu steigern, d. h. die EOF-Bestimmungsgrenze für Bodenproben möglichst um den Faktor 5-10 zu erniedrigen,
- die EOF-Bestimmung für die Anwendung auf pflanzliche Materialien anzupassen und zu validieren, um den Transfer von fluororganischen Verbindungen in die Pflanze erfassen zu können,
- den alternativen, perfluoralkylkettenspezifischen Parameter TOP-Assay (TOP: (total oxidizable precursor) auf Boden und Pflanzenmatrices anzupassen, zu validieren und auf ausgewählte Proben anzuwenden,
- durch elektrochemischen Abbau die Anwendbarkeit eines weiteren fluoralkylkettenspezifischen summarischen Parameters zu prüfen,
- eine Literaturrecherche zum Einsatz von PFAS als Papierchemikalien durchzuführen,
- basierend auf den Ergebnissen der Literaturrecherche analytische Methoden für weitere Zielverbindungen und PFAS-Stoffklassen (polyfluorierte Alkylphosphatester, Trifluoracetat (TFA), per- oder polyfluorierte Acrylate und Methacrylate, per- oder polyfluorierte Polyether) in Boden- und Pflanzenmaterialien zu entwickeln und auf eine Auswahl von Proben exemplarisch anzuwenden,
- mittels hochauflösender Massenspektrometrie weitere PFAS und PFAS-Stoffklassen in ausgewählten, kontaminierten Böden und Pflanzen zu identifizieren
- und eine Literaturrecherche zu den toxikologischen Eigenschaften von PFAS durchzuführen und daraus, sofern möglich, toxikologisch begründete Beurteilungswerte abzuleiten und in den anderen Fällen den zukünftigen Forschungsbedarf aufzuzeigen.

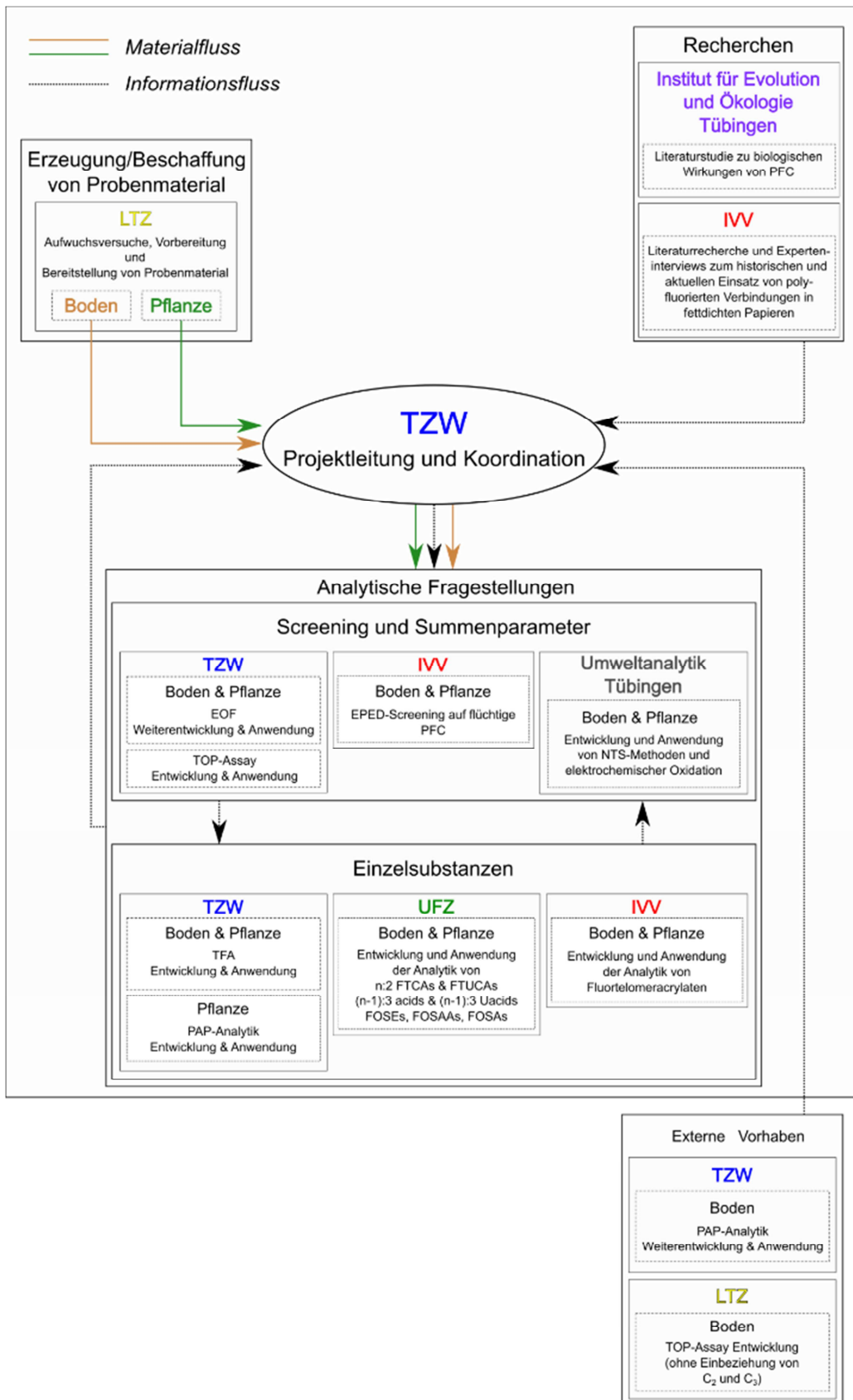


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Arbeiten der einzelnen Projektpartner in dem Verbundprojekt EOFplus.

Das Projekt wurde in einem Konsortium aus sechs Partnern (s. Titelblatt) durchgeführt. Die Zusammenarbeit der Partner unter der Koordination des TZW ist in Abbildung 2 schematisch dargestellt.

Die koordinierte Zusammenarbeit verschiedener wissenschaftlicher Institutionen mit ausgewiesenem Expertenwissen auf den unterschiedlichen Fachgebieten gewährleistete eine rasche und effektive Bearbeitung der Aufgabenstellung.

Vier dieser Partner, TZW, UFZ, IVV und Universität Tübingen (Umweltanalytik), führten analytische Methodenentwicklungen durch und analysierten exemplarisch belastete und unbelastete Boden- und Pflanzenproben aus dem Raum Rastatt/Baden-Baden und aus dem Raum Mannheim. Die von diesen Partnern zu untersuchenden Proben wurden durch das LTZ bereitgestellt. Die von den analytisch arbeitenden Partnern durchgeführten Ansätze lassen sich durch das in Abbildung 3 gezeigte Schema veranschaulichen.

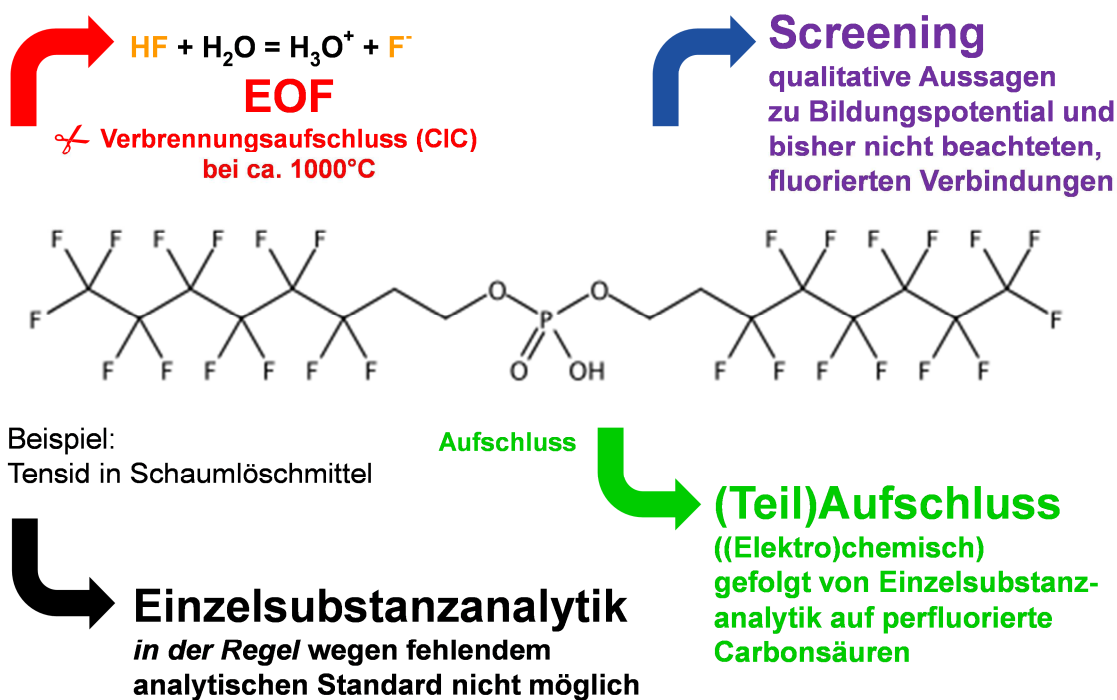


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Herangehensweisen der im vorgeschlagenen Projekt angewendeten analytischen Methoden zur Bestimmung von Präkursoren und deren Zwischenabbauprodukte.

Die praktischen Arbeiten wurden durch Literaturstudien zu biologischen Wirkungen von PFAS sowie dem historischen Einsatz der Verbindungen in Verpackungspapieren ergänzt.

In den nachfolgenden Kapiteln sind die Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen dargestellt. Eine Zusammenfassung und Interpretation am Ende des Berichts entwirft ein Gesamtbild des Kenntnisstandes nach Abschluss dieses Projekts.

3 Bereitstellung geeigneter Untersuchungsproben, Probennahme, Probenvorbehandlung

Um die analytische Bestimmungsgrenze für den Parameter EOF zu verbessern und analytische Nachweismethoden für weitere fluorhaltige (Vorläufer-)Verbindungen (Polyacrylate, Polyether, Abbauprodukte von Fluortelomeralkoholen) der PFAS in Böden und Pflanzen zu entwickeln, wurde in dem Verbundprojekt der Ansatz verfolgt, dass alle analytisch arbeitenden Partner für Methodenentwicklung und Methodvalidierung gleiches, möglichst einheitliches und homogen aufbereitetes Probenmaterial verwenden.

Es bestand daher Bedarf an relativ großen homogenen Materialmengen bei sehr begrenztem Zeitrahmen für deren Gewinnung und Aufbereitung. Zudem fiel der Schwerpunkt der Projektbearbeitung in den Winter und damit außerhalb der Vegetationszeit. Die analytischen Partner im Projekt benötigten das Probenmaterial möglichst schnell, um ausreichend Zeit für ihre Arbeiten zur Methodenentwicklung und -validierung zu haben. Die Durchführung von neu angelegten Gefäßversuchen war aus diesen Gründen nicht möglich. Es konnte aber auf ausreichend vorhandenes Probenmaterial aus bereits etablierten Gefäß- und Feldversuchen zurückgegriffen werden.

3.1 Aufwuchsversuche zum Transfer Boden-Pflanze

Gefäßversuche

Die Durchführung der Gefäßversuche erfolgte in der Vegetationshalle des LTZ Augustenberg am Standort Karlsruhe-Augustenberg (Höhenlage 150 m ü. NN, Jahresdurchschnittstemperatur 11,2 °C, durchschnittlicher Jahresniederschlag 790 mm). Für die Versuche wurden Kick-Brauckmann-Gefäße verwendet (Abbildung 4), die mit ca. 10 kg Versuchsboden befüllt waren. Für das EOFplus-Projekt wurde Aufwuchsmaterial von Deutschem Weidelgras (*Lolium perenne*) aus Gefäßversuchen zur Wirkung von Biokohle-Zusatz auf die Mobilität von PFAS verwendet, das in einem mit PFAS belasteten Boden (Hügelsheim) und in einem unbelasteten Boden (Rheinstetten-Forchheim, Tabelle 1 und Tabelle 2) ausgesät worden war. Für das EOFplus-Projekt wurde hierbei das Aufwuchsmaterial von vier Aufwüchsen der Kontrollvarianten (belasteter Boden ohne Biokohle-Zusatz und unbelasteter Boden ohne Biokohle-Zusatz) gepoolt und wie weiter unten beschrieben aufbereitet. Als Gießwasser wurde PFAS-freies entionisiertes Wasser aus der zentralen Umkehrosmoseanlage verwendet. Die Düngung erfolgte in praxisüblicher Höhe mit Mineraldüngern (anorganische Salze in Qualität z. A.).

Tabelle 1: Kenndaten der für die Gefäßversuche verwendeten Böden. Soweit zutreffend beziehen sich die Angaben auf die Trockenmasse. n. b.: nicht bestimmbar.

Standort	PFAS-Summe im Feststoff	Bodenart	pH-Wert	Organischer Kohlenstoff (C _{org})
	[µg kg ⁻¹]	[-]	[-]	[Massen%]
Rheinstetten-Forchheim	n. b. (<<5)	Lehmiger Sand	5,4	1,4
Hügelsheim	ca. 250	Lehmiger Sand	6,8	1,9

Tabelle 2: PFAS-Gehalte und deren Summe am Standort Hügelsheim (Mittelwert aus der Analyse von PFAS im Boden in 20 Versuchsgefäßen). Ergebnisse für die Einzelstoffe PFBA, PFBS, PFHxS und PFDS n. b. (< 5 µg/kg). Der Wert in Klammern für PFPeA ergibt sich, weil dieser Stoff in einigen Gefäßen über der BG bestimmbar war. Alle Angaben in µg/kg in der Trockenmasse.

Summe PFAS	PFPeA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnA	PFDoA	PFOS
254	(1,9)	5,8	4,8	21	12	153	15	35	5,7



Abbildung 4: Kick-Brauckmann-Gefäße mit Weidelgrasaufwuchs.

Feldversuche

Im Sommer 2015 wurden an zwei Standorten im Raum Rastatt PFAS-belastete Flächen gepachtet, um auf diesen im Freiland Exaktversuche zum PFAS-Transfer Boden-Pflanze durchzuführen. Ziel dieser Versuche ist es, den Verlauf der PFAS-Aufnahme unterschiedlicher Kulturen auf PFAS-belasteten Böden mit unterschiedlicher Bodenart unter Freilandbedingungen zu beobachten. In der wissenschaftlichen Literatur liegen dazu nur wenige Informationen vor, insbesondere nicht zum Transfer kurzkettiger PFCA. Bei Untersuchungen im Jahr 2014 hatte sich gezeigt, dass gerade kurzkettige PFCA bevorzugt in Pflanzenaufwüchsen gefunden werden, auch wenn deren Gehalt im Boden relativ gering ist. Inzwischen hat sich hier das Bild verändert, da man aufgrund der neueren Erkenntnisse nun vom Vorhandensein erheblicher Mengen an PFAS-Vorläufersubstanzen in den belasteten Böden ausgehen muss, die bisher mit der üblichen Standard-Analytik nicht erfasst werden.

Die Versuchsstandorte der Freilandversuche befinden sich zwischen den Gemeinden Baden-Baden und Rastatt in der Oberrheinischen Tiefebene. Das Standortklima ist gemäßigt warm mit einer durchschnittlichen Jahrestemperatur von ca. 10,5 °C und einer durchschnittlichen jährlichen Niederschlagsmenge von etwa 700 mm. Wichtige Bodeneigenschaften sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Bodeneigenschaften (Oberboden) an den Standorten der Freilandversuche des LTZ zum PFAS-Transfer in Ackerkulturen. Soweit zutreffend beziehen sich die Angaben auf die Trockenmasse.

Standort	Bodenart	Ackerzahl	pH-Wert	Organischer Kohlenstoff (C_{org}) in Massen%
Rheinstetten-Forchheim	Lehmiger Sand	31/33	6,7	1,5
Hügelsheim	Schluffiger Lehm	78	6,2	2,2

Tabelle 4 gibt für die drei Bodenschichten 0-30 cm, 30-60 cm und 60-90 cm einen Überblick über die PFAS-Gehalte im Feststoff der jeweils 24 Parzellen des Fruchtartenversuchs (Versuchsbeschreibung siehe unten) an beiden Standorten. Es zeigt sich an beiden Standorten eine sehr große Heterogenität der PFAS-Belastung, wobei eine leicht rechtschiefe Verteilung vorliegt. Der Median der PFAS-Summengehalte im Feststoff beträgt am Standort Hügelsheim im Oberboden 231 µg/kg, mit einer Schwankungsbreite von 132 µg/kg bis 559 µg/kg. Am Standort Steinbach ist die Variation der PFAS-Gesamtgehalte etwas geringer mit einer Schwankungsbreite von 141 µg/kg bis 353 µg/kg bei einem Median von 202 µg/kg. Die Tabelle zeigt auch, dass an beiden Standorten eine beträchtliche Verlagerung von PFAS in die Tiefe stattgefunden hat. Dies ist am Standort Hügelsheim mit dem leichteren Boden, dem geringeren Gehalt an organischem Kohlenstoff und etwas höheren PFAS-Gesamtgehalten im Oberboden deutlicher ausgeprägt als am Standort Steinbach.

Tabelle 4: Variation der PFAS-Gesamtgehalte (Summe Einzelstoffe) an den Versuchsstandorten Hügelsheim und Steinbach in µg/kg. n. b.: nicht bestimmbar (< 5 µg/kg).

Standort	Bodenschicht (Tiefe) in cm	Minimum	Maximum	Arithmetischer Mittelwert	Median
Hügelsheim	0-30	132	559	264	231
Hügelsheim	30-60	n. b.	258	80	49
Hügelsheim	60-90	8	171	57	47
Steinbach	0-30	141	353	211	202
Steinbach	30-60	14	118	66	65
Steinbach	60-90	n. b.	103	37	34

An beiden Standorten werden in einem Fruchtartenversuch jedes Jahr die Kulturen Mais (*Zea mays*), Sojabohne (*Glycine max* (L.) Merr.), Wintertriticale (×*Triticosecale*), Winterweizen (*Triticum* L.), Winterraps (*Brassica napus*) und Sommergerste (*Hordeum vulgare*) in vierfacher Wiederholung angebaut. Wo von der Fruchtartenfolge her möglich, wird als Winterzwischenfrucht Gelbsenf (*Sinapis alba*) angebaut. Aus diesen Versuchen ist inzwischen bekannt, dass bei allen angebauten Kulturarten eine Aufnahme von PFAS in die vegetativen Pflanzenteile erfolgt. Dabei werden die kurzkettigen PFCA (PFBA, PFPeA, PFHxA) gegenüber den Bodengehalten stark angereichert, während andere PFAS nur gelegentlich in niedrigen Konzentrationen in den Pflanzen detektiert werden können. Die Verlagerung in generative Pflanzenorgane erfolgt bei den verschiedenen Kulturarten sehr unterschiedlich. Bei Weizen, Triticale und vor allem Sojabohne ist ein hoher Transfer von PFAS auch in generative Pflanzenteile (Korn) zu beobachten. Bei Raps, Körnermais und Gerste ist die Verlagerung von PFAS in vegetative Pflanzenteile wesentlich geringer. Wegen der großen Bodenunterschiede hinsichtlich der PFAS-Belastung ist die Variation des PFAS-Transfers (Gehalte in der Pflanze) zwischen den Wiederholungen sehr groß. Auch zwischen den Standorten und den Erntejahren gibt es deutliche Unterschiede. In Tabelle 5 ist zur Orientierung der Median der PFAS-Gehalte im Erntegut der jeweils vier Wiederholungen für beide Standorte und die Erntejahre 2016 und 2017 dargestellt.

Tabelle 5: Transfer von PFAS (Summe Einzelstoffe, Median in µg/kg von jeweils vier Versuchsparzellen) in das Erntegut verschiedener ackerbaulicher Kulturen an den Versuchsstandorten Hügelsheim und Steinbach (Erntejahre 2016 und 2017). n. b.: nicht bestimmbar (<2 µg/kg).

Standort	Hügelsheim		Steinbach	
	2016	2017	2016	2017
Winterweizen	16	9,0	101	97
Wintertriticale	9,5	31	7,5	43
Sommergerste	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
Sojabohne	346	1064	279	1634
Körnermais	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
Winterraps	n. b.	n. b.	n. b.	4

3.2 Probenmaterial

Im August 2017 wurde unter Berücksichtigung der Erfahrungen aus Versuchen des LTZ zum Transfer von PFAS in Pflanzen und aus dem Vorernte-Monitoring mit den Projektpartnern festgelegt, welche Proben für die gemeinsamen Methodenentwicklungs- und Validierungsstudien verwendet werden sollen. Es sollte sich jeweils um belastete und unbelastete Proben mit der gleichen Probenmatrix handeln.

Die folgenden Probenmaterialien wurden ausgewählt:

- Unbelasteter Boden (Rheinstetten-Forchheim)
- Belasteter Boden (Hügelsheim)
- Winterweizen belastet und unbelastet
- Maisblätter belastet und unbelastet
- Maiskörner belastet und unbelastet
- Topinambur (*Helianthus tuberosus*, Knolle) belastet und unbelastet

Die Grundlagen dieser Entscheidung waren:

- möglichst ähnliche Böden (physikalische und chemische Eigenschaften) mit / ohne PFAS-Belastung
- Körner von Kulturen mit einem hohen (Winterweizen) und einem geringen (Mais) Transfer von PFAS in das Ernteprodukt
- Bei Mais: Vergleich Korn und Blätter
- Topinambur als eine Kultur, bei der das Ernteprodukt im Boden wächst und bei der im Vorernte-Monitoring ein wesentlicher Transfer von PFAS in die Knolle beobachtet wurde

tet wurde. Die Wahrscheinlichkeit, dass auch ein Transfer von PFAS-Vorläufersubstanzen erfolgt, ist hier gegeben. Im Gegensatz dazu wird bei Kartoffeln, die eine wesentlich höhere Bedeutung in Anbauumfang haben, eher kein Transfer von PFAS in die Knollen beobachtet (Ergebnisse aus dem Vorerntemonitoring und Versuchen). Die Topinambur-Knollen wurden geschält und ungeschält aufbereitet, um die Relevanz einer möglichen PFAS-Kontamination durch extern anhaftende Bodenpartikel abzuschätzen.

Im Winter 2017 wurde entschieden, zusätzlich Weidelgras aus Gefäßversuchen zu untersuchen, weil hier ein Transfer von PFAS-Vorläufersubstanzen in das vegetative Pflanzenmaterial als am wahrscheinlichsten eingeschätzt wurde.

Schließlich wurde noch auf Nachfrage einzelnen Projektpartnern Material aus den Versuchen für Methodenentwicklung und methodische Studien zur Verfügung gestellt. Das TZW erhielt im August 2017 belastetes und unbelastetes Weizenkorn aus Versuchen des LTZ. Dem IVV wurde belastetes Bodenmaterial von den Standorten Hügelsheim und Steinbach in frischem Zustand (gefroren) und getrocknet (Gefriertrocknung) zur Verfügung gestellt, um mögliche Verluste an flüchtigen PFAS beim Trocknen zu untersuchen. In Tabelle 6 sind alle Proben zusammengestellt.

Die Herstellung und Aufbereitung der Proben erfolgte wie nachfolgend beschrieben:

Boden

Gleichmäßiges Entnehmen des Bodens über die gesamte Probenahme­fläche mittels Probenstecher bis 30 cm Tiefe. Anschließend Sieben (< 2 mm) und Homogenisieren (Mischen von Hand) der Proben. Für den Projektpartner IVV wurden frische Proben direkt tiefgefroren und anschließend tiefgekühlt per Expressversand geliefert. Für alle Projektpartner wurde Bodenmaterial gefriergetrocknet (Verbleib mindestens 5 Tage bzw. bis zur Gewichtskonstanz) und anschließend nochmals homogenisiert. Anschließend wurde je Projektpartner ca. 1 kg trockener Boden abgewogen, in PE-Behälter mit Schraubverschluss gefüllt und dem TZW zum Versand an die Projektpartner übergeben.

Winterweizen (Körner)

Die Probe von belastetem Winterweizen wurde als Mischprobe aus Probenmaterial aus dem Vorernte-Monitoringprogramm und den Versuchen des LTZ am Standort Hügelsheim (Erntejahr 2016) gebildet. Die Probe von unbelastetem Winterweizen stammt aus der Ernte auf dem LTZ-Versuchsbetrieb Rheinstetten-Forchheim im Erntejahr 2017. Die Proben wurden im Erntezustand in einer Zentrifugalmühle gemahlen und durch Mischen von Hand homogenisiert. Je Projektpartner wurde ca. 1 kg Probenmaterial abgewogen, in PE-Behälter mit Schraubverschluss gefüllt und dem TZW zum Versand an die Projektpartner übergeben.

Tabelle 6: Übersicht der Proben, die für die Projektpartner hergestellt und aufbereitet wurden.

Bezeichnung LTZ	Probenart - PFAS-Belastung	Datum Versand	an Projektpartner
P017-01792-01	Winterweizen – belastet	18.08.2017	TZW
P017-01793-01	Winterweizen - unbelastet	18.08.2017	TZW
E-ST1d-B-TK	Boden Steinbach - belastet	09.10.2017	IVV
E-HÜ1b-B-TK	Boden Hügelsheim - belastet	09.10.2017	IVV
E-HÜ1b-B-GG	Boden Hügelsheim - belastet	19.10.2017	IVV,LTZ,TÜ,TZW,UFZ
E-FO-U-GG	Boden Forchheim - unbelastet	19.10.2017	IVV,LTZ,TÜ,TZW,UFZ
E-WE-B-OG	Winterweizen - belastet	19.10.2017	IVV,LTZ,TÜ,TZW,UFZ
E-WE-U-OG	Winterweizen - unbelastet	19.10.2017	IVV,LTZ,TÜ,TZW,UFZ
E-MB-B-OT	Maisblätter – belastet	21.11.2017	IVV,LTZ,TÜ,TZW,UFZ
E-MB-U-OT	Maisblätter - unbelastet	21.11.2017	IVV,LTZ,TÜ,TZW,UFZ
E-MK-B-GG	Maiskörner – belastet	21.11.2017	IVV,LTZ,TÜ,TZW,UFZ
E-MK-U-GG	Maiskörner – unbelastet	21.11.2017	IVV,LTZ,TÜ,TZW,UFZ
E-TO-B-WG	Topinambur – belastet (Vorversuch)	23.11.2017	LTZ
E-WG-B-GG	Weidelgras – belastet	22.01.2017	IVV,LTZ,TÜ,TZW,UFZ
E-WG-U-GG	Weidelgras - unbelastet	22.01.2017	IVV,LTZ,TÜ,TZW,UFZ
E-TO-B-GG	Topinambur - belastet	22.01.2017	IVV,LTZ,TÜ,TZW
E-TG-B-GG	Topinambur geschält – belastet	05.02.2018	IVV,LTZ,TÜ,TZW,UFZ
E-TS-B-GG	Topinambur Schale – belastet	05.02.2018	IVV,LTZ,TÜ,TZW,UFZ
E-TO-U-GG	Topinambur – unbelastet	05.02.2018	IVV,LTZ,TÜ,TZW,UFZ

Mais (Blätter und Körner)

Die Probe von unbelastetem Mais stammt aus den Aufwüchsen auf dem LTZ-Versuchsbetrieb Rheinstetten-Forchheim im Erntejahr 2017. Die Proben von belastetem Mais stammen aus dem PFAS-Freilandversuch am Standort Hügelsheim.

Die Blätter wurden durch Abschneiden der abgetrockneten Maisblätter (ohne Stängel) vor dem Drusch aus dem oberen Bereich der Pflanze gewonnen, um eine Kontamination mit Bodenmaterial weitgehend zu vermeiden. Kontaminationen durch Verwehungen sind jedoch nicht völlig auszuschließen. Anschließend wurden die Maisblätter weitere sieben Tage unter Dach an der Luft getrocknet. Danach erfolgte eine Vorzerkleinerung mit einem Standhäcksler und im Anschluss das Vermahlen in einer Kryomühle (Retsch GM 300) mit Trockeneis. Das Mahlgut wurde gesiebt (1,8 mm) und der Siebüberlauf nochmals vermahlen. Anschließend wurde die gesamte Probe durch Mischen in einem ausreichend großen Metallbehälter homogenisiert.

Die Maiskörner wurden mit dem Mähdrescher im Feld praxisüblich geerntet. Die Trocknung erfolgte in der Gefriertrocknungsanlage über mindestens 5 Tage bzw. bis zur Gewichtskonstanz. Anschließend wurde die Probe in einer Getreidemühle vermahlen und durch Mischen von Hand homogenisiert.

Je Projektpartner wurde ca. 1 kg Probenmaterial abgewogen, in PE-Behälter mit Schraubverschluss gefüllt und dem TZW zum Versand an die Projektpartner übergeben.

Topinambur

Die Ernte erfolgte manuell auf Praxisschlägen im Raum Rastatt, da die maschinelle Ernte der Schläge zu spät erfolgte (Januar / Februar des Folgejahres). Die geernteten Knollen wurden dann mit einer Bürste unter fließendem Wasser intensiv gesäubert. Nach dem Abtrocknen erfolgte eine Vorzerkleinerung der Knollen (Moulinex) auf eine Größe von maximal 10 mm. Dieses Material wurde in der Gefriertrocknungsanlage mindestens 5 Tage bzw. bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Im Anschluss wurde es in einer Kryomühle (Retsch GM 300) mit Trockeneis vermahlen. Das Mahlgut wurde gesiebt (1,8 mm) und der Siebüberlauf nochmals vermahlen. Anschließend wurde die gesamte Probe durch Mischen in einem ausreichend großen Behälter homogenisiert.

Je Projektpartner wurde ca. 1 kg Probenmaterial abgewogen, in PE-Behälter mit Schraubverschluss gefüllt und dem TZW zum Versand an die Projektpartner übergeben.

Topinambur geschält und Topinamburschale

Die Ernte und Reinigung der Knollen erfolgte wie oben beschrieben. Vor der Vorzerkleinerung (Moulinex) wurden die Knollen jedoch von Hand mit einem Küchenmesser geschält und anschließend die geschälten Knollen und die Schalen getrennt weiter verarbeitet (wie oben beschrieben).

Weidelgras

Da das Probenmaterial von Weidelgras nicht der Methodenentwicklung und Methodenvalidierung dienen sollte, wurde festgelegt, dass hier je Projektpartner auch eine geringere Probenmenge (deutlich weniger als 1 kg) ausreichend ist.

Der Aufwuchs in den Gefäßen wurde mit einer Schere ca. 2 cm über der Bodenoberfläche abgeschnitten. Anschließend erfolgt die Trocknung bei 60 °C in einem Umluft-Trockenschrank und die Vermahlung in einer Zentrifugalmühle (Retsch ZM200). Es wurde durch Mischen von Hand homogenisiert. Das Material wurde dann gleichmäßig auf die Projektpartner aufgeteilt, in PE-Behälter gefüllt und dem TZW zum Versand an die Projektpartner übergeben.

Analyse der PFAS-Gehalte in den Proben durch das LTZ

In allen wie oben beschrieben vorbereiteten Proben wurden die Gehalte an PFAS mit den am LTZ aktuell etablierten und validierten Verfahren analysiert. Die Ergebnisse sind für die Bodenproben in und für die Pflanzenproben in Tabelle 8 dargestellt.

Die belastete Bodenprobe aus Hügelsheim zeigt das übliche PFAS-Stoffmuster mit einem hohen Gehalt an PFDA und anderen langkettigen PFCA sowie bei der vorliegenden Probe auch Perfluorooctansulfonsäure (PFOS). Kurzkettige PFCA, wie sie überwiegend in den Pflanzenproben von belasteten Böden gefunden werden, können mit der angewandten Methode zur Einzelstoffanalytik im Boden-Feststoff nicht nachgewiesen werden.

Die PFAS-Gehalte in den Proben entsprechen den bisherigen Erfahrungen aus dem Vorernte-Monitoringprogramm und den Versuchen des LTZ. In der Probe Weizenkorn vom belasteten Standort Hügelsheim (E-WE-B-OG) werden wesentliche Gehalte an kurzkettigen PFCA nachgewiesen, während bei der Weizenprobe vom nicht belasteten Standort (E-WE-U-OG) keiner der analysierten Einzelstoffe in einer Konzentration oberhalb der Bestimmungsgrenze detektiert werden kann. Auch in Maisblättern vom belasteten Standort (E-MB-B-OT) werden hohe Gehalte an kurzkettigen PFCA nachgewiesen und zusätzlich PFOS. In den Maisblättern vom unbelasteten Standort (E-MB-U-OT) sowie in den Maiskörnern vom unbelasteten (E-MK-U-GG) und vom belasteten (E-MK-B-GG) Standort werden keine PFAS nachgewiesen. Die ungeschälten Topinamburknollen vom belasteten Standort (E-TO-B-GG) haben ebenfalls erhebliche Gehalte kurzkettiger PFCA. In ungeschälten Topinamburknollen vom unbelasteten Standort (E-TO-U-GG) werden keine PFAS nachgewiesen. Das Schälen von Topinamburknollen von einem belasteten Standort führt kaum zu einer Verringerung der PFAS-Gehalte. Die Schale (E-TS-B-GG) enthält im Gegensatz zum Inneren der Knolle (E-TG-B-GG) neben kurzkettigen PFCA auch geringe Gehalte an PFDA, möglicherweise aufgrund einer Kontamination mit Bodenmaterial, das meist hohe Gehalte an PFDA hat. Schließlich zeigt sich auch bei Weidelgras aus einem Gefäßversuche im Aufwuchs auf belastetem Boden (E-WG-B-GG) ein deutlicher Transfer von PFAS inklusive PFOA, während in Weidelgras von nicht PFAS-belastetem Boden (E-WG-U-GG) keine PFAS nachgewiesen werden.

Tabelle 7: PFAS-Gehalte (Summe Einzelstoffe in µg/kg) in einer Bodenprobe vom Standort Hügelsheim, die im Rahmen des EOFplus-Projektes vorbereitet und verteilt wurde. Für PFBA, PFPeA, PFHxA, PFHpA, PFBS, PFHxS und PFDS alle Ergebnisse n. b. (<5 µg/kg), daher nicht dargestellt.

Probe	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnA	PFDoA	PFOS	PFAS Summe
E-HÜ1b-B-GG	n. b.	n. b.	305	22	64	81	472

Tabelle 8: PFAS-Gehalte (Summe Einzelstoffe in µg/kg) in Pflanzenproben, die im Rahmen des EOFplus-Projektes vorbereitet und verteilt wurden. Für PFNA, PFUnA, PFBS, PFHxS und PFDS alle Ergebnisse n. b. (<2 µg/kg), daher nicht dargestellt.

Probe	PFBA	PFPeA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFDA	PFOS	PFAS- Summe
E-WE-B-OG	25	22	9	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	56
E-WE-U-OG	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
E-MB-B-OT	357	60	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	20	437
E-MB-U-OT	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
E-MK-B-GG	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
E-MK-U-GG	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
E-TO-B-GG	74	119	17	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	210
E-TO-U-GG	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.
E-TG-B-GG	98	172	22	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	292
E-TS-B-GG	89	163	24	n. b.	n. b.	8	n. b.	284
E-WG-B-GG	102	115	93	9	11	n. b.	n. b.	330
E-WG-U-GG	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.	n. b.

4 Methodenentwicklung und Ergebnisse

4.1 Summarische Analysemethoden

4.1.1 Extrahierbares organisch gebundenes Fluor (EOF)

Methodenentwicklung

Das Extraktionsprotokoll für Boden, das im Vorgängerprojekt (Lange et al., 2017) erarbeitet wurde, erlaubt eine Quantifizierung des EOF bis zu einer analytischen Bestimmungsgrenze von 50 µg/kg. Erklärtes Ziel dieses Vorhabens war, diese um einen Faktor 5 bis 10 zu verbessern. Das aus dem Vorgängerprojekt resultierende Protokoll der EOF-Bestimmung ist in Abbildung 5 und Abbildung 6 als Fließschema dargestellt.

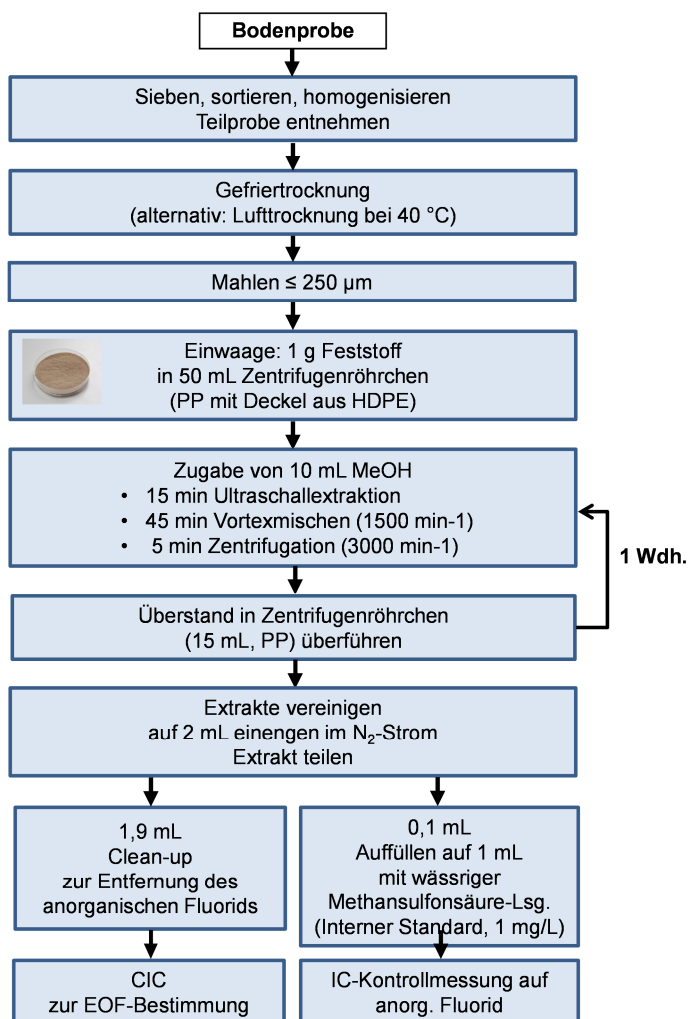


Abbildung 5: Schema der einzelnen Arbeitsschritte zur Bestimmung des EOF entsprechend dem Stand des Vorgängerprojekts.

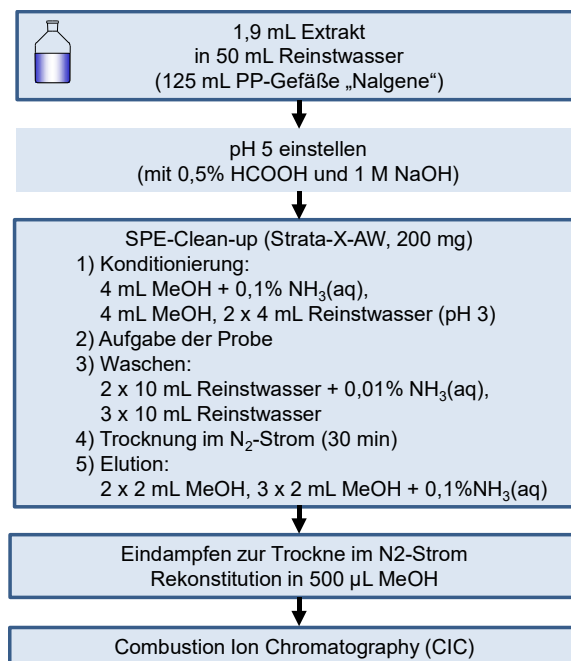


Abbildung 6: Arbeitsschritte des Clean-Up-Schritts zur Entfernung anorganischen Fluorids aus dem methanolischen Extrakt entsprechend dem Stand des Vorgängerprojekts.

Als mögliche Strategien für diese Umsetzung wurden die Verringerung des Methodenblindwerts sowie die Verwendung einer größeren Probenmenge für die Analytik innerhalb des Projektzeitraums verfolgt.

Um den Blindwert bei der EOF-Methode zu verringern, wurden zunächst weitere Qualitäten bzw. Produkte verschiedener Hersteller geprüft. Es wurde der Einfluss verschiedener Reinstwasserqualitäten hinsichtlich ihres Einflusses auf den Methodenblindwert miteinander verglichen. Diese umfassten Wässer, die mittels Laboranlagen mit Ionentauscher, Aktivkohlefiltration und UV-Bestrahlung aufbereitet wurden, sowie kommerziell erhältliches, hochreines Wasser, das in der Spurenanalytik zum Einsatz kommt. Dabei zeigten die unterschiedlichen Qualitäten keinen Einfluss auf den Blindwert, der im Mittel bei ca. 5 µg/kg TS lag. Auch ein Spülprotokoll mit organischem Lösungsmittel für die eingesetzten Extraktionsgefäße erbrachte nicht den gewünschten Erfolg. Außerdem wurden unterschiedliche Qualitäten von Methanol (MeOH, HPLC und LC-MS grade) hinsichtlich des Einflusses auf den Blindwert genauer untersucht. Bei letztgenannter Qualität wird bei der Herstellung, neben einem möglichst geringen UV-Signal, insbesondere auf die Entfernung von Spurenelementen und organischen Stoffen geachtet. Auch hier waren jedoch keine Unterschiede auf den EOF-Methodenblindwert festzustellen.

Im bisherigen EOF-Protokoll wird zur Entfernung von co-extrahierten, anorganischen Fluorid-Spezies (Fluorid, Fluoroaluminat-, Fluorosilicat-Komplexe etc.) nach der Extraktion ein Spülprotokoll bestehend aus 2 × 10 mL einer 0,01 % NH₄OH-Lösung gefolgt von

3 × 10 mL Reinstwasser eingesetzt. Aufgrund der guten Ergebnisse mit diesem Spülschritt wurde die Etablierung eines zusätzlichen Spülschritts mit einer konzentrierteren Ammoniaklösung bereits bei der Konditionierung der Kartuschen als erfolgsversprechend angesehen, zumal die Sorbensmaterialien von Festphasenkartuschen in der Vergangenheit bereits als potentielle Kontaminationsquellen identifiziert wurden (Stiles et al., 2007). Es konnte jedoch durch eine sukzessive Erhöhung des NH₄OH-Anteils im Wasser bis hin zu einer konzentrierten Ammoniak-Lösung (ca. 28 %–30 % lt. Hersteller) keine signifikante Verbesserung des Blindwerts erreicht werden. Allerdings wurde im Rahmen dieser Versuche festgestellt, dass das bisherige Spülprotokoll des beladenen Sorbens deutlich verkürzt werden kann. Ein zweimaliges Waschen des Sorbensmaterials mit jeweils 10 mL einer 0,01 % NH₄OH-Lösung reicht aus, um anorganisches Fluorid nach der Anreicherung vollständig von der Kartusche zu eluieren.

Da sämtliche Versuche zur Verbesserung des Blindwerts nicht den gewünschten Erfolg erbrachten, wurde in weiteren Versuchen versucht die Probeneinwaage zu erhöhen, um eine deutlich geringere Bestimmungsgrenze zu erreichen. Dies hatte allerdings eine erneute Anpassung der Extraktionsbedingungen sowie weitere Validierungsmaßnahmen zur Folge.

In orientierenden Versuchen wurden verschiedene belastete Böden aus dem Raum Rastatt/Baden-Baden bei unterschiedlichen Extraktionsmittel/Feststoff-Verhältnissen aufgearbeitet und analysiert. Die Versuche dienten einerseits dazu, die Praktikabilität dieser Vorgehensweise für das Arbeiten im Labor zu prüfen, und andererseits dazu mögliche negative Einflüsse einer höheren Einwaage, z. B. eine Beeinflussung der Extraktion oder des Clean-up-Schritts besser einschätzen zu können. Exemplarisch sind in Abbildung 7 die Ergebnisse für einen Boden mit einem EOF-Gehalt nahe der Bestimmungsgrenze und für einen mit mittlerem Belastungsniveau dargestellt. Wie zu erkennen ist, werden bei einer Einwaage von bis zu 5 g Boden, unabhängig vom Konzentrationsniveau der Böden, vergleichbare Ergebnisse erzielt. Ab einer Einwaage von 10 g wurden für alle untersuchten Böden tendenziell geringere EOF-Werte erhalten. Ob dies einer geringeren Extraktionseffizienz aufgrund eines ungünstigeren Verhältnisses von Extraktionsmittel und Boden oder einer Beeinflussung des Clean-up-Schritts geschuldet ist, wurde innerhalb dieses Projekts nicht näher beleuchtet. Die Handhabbarkeit der erhöhten Einwaage im Labor, z. B. hinsichtlich eines ausreichenden Überstands nach der Zentrifugation, ist gegeben (siehe exemplarisch Abbildung A1 im Anhang), weshalb die weiteren Qualitätssicherungsmaßnahmen und die Validierung mit einer Einwaage von 5 g Boden durchgeführt wurden.

Zusätzliche Versuche wurden auch mit Einwaagen ≤1 g sowie der Verwendung geringerer Aliquote bei der weiteren Probenaufreinigung und Verbrennung durchgeführt. Diese konnten ebenfalls belegen, dass bei den eingesetzten Mengen keine Beeinflussung der Messergebnisse festzustellen ist. Damit konnte bestätigt werden, dass das hinsichtlich der Probeneinwaage angepasste methodische Vorgehen auch auf hochbelastete Böden anwendbar ist.

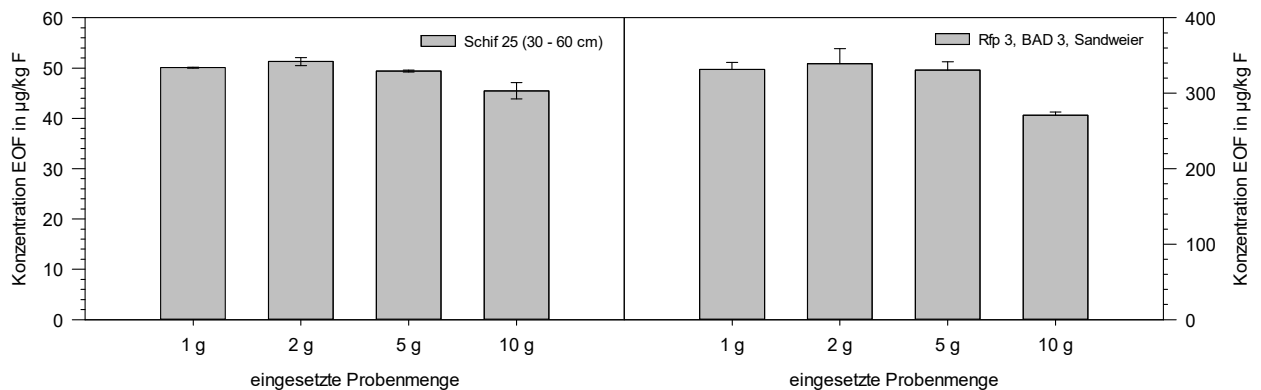


Abbildung 7: Ergebnisse der EOF-Analysen für zwei belastete Bodenproben bei unterschiedlichen Einwaagen.

Ein wichtiger Schritt zur Vermeidung falsch-positiver Ergebnisse bei der EOF-Analytik ist die Abtrennung des co-extrahierten anorganischen Fluorids bei der anschließenden Festphasenanreicherung (SPE). Im Vorprojekt wurde bereits festgestellt, dass bei diesem Schritt Fluorid-Konzentrationen bis zu 1 mg/L erfolgreich abgetrennt werden können. Durch die Erhöhung der Probenmenge wurde allerdings eine Überprüfung notwendig, ob bei dieser Einwaage anorganisches Fluorid in Mengen extrahiert wird, die über der maximal abtrennbaren Konzentration liegen. Hierfür wurden 5 g verschiedener Böden zunächst mit dem EOF-Analysenprotokoll aufgearbeitet. Aus dem auf 2 mL eingeeengten SPE-Extrakt wurde ein Aliquot von 100 µL entnommen, mit Reinstwasser auf 1 mL aufgefüllt und mittels Ionenchromatographie-Leitfähigkeitsdetektion (IC-LF) quantifiziert. Ein entsprechendes Chromatogramm ist in Abbildung 8 dargestellt. Es ist zu erkennen, dass bei der Retentionszeit von Fluorid bei ca. 13 min kaum Matrixkomponenten co-eluierten. Die quantifizierte Konzentration in der Messlösung liegt bei ca. 100 µg/L und damit, unter Berücksichtigung aller Anreicherungsschritte und Verdünnungen, um einen Faktor 25 unter der maximal abtrennbaren Menge an anorganischem Fluorid. Damit bestätigen diese Versuche die Ergebnisse aus dem Vorprojekt, dass aus den bisher untersuchten Böden bei den angewendeten Extraktionsbedingungen kaum anorganisches Fluorid extrahiert wird und dieses bei der Probenvorbereitung sicher abgetrennt werden kann.

Bei der Überprüfung der Wiederfindungen von polyfluorierten Alkylphosphateestern (PAP) fiel nach ersten Versuchen auf, dass diese bei einigen Vertretern im Gegensatz zu Beobachtungen im Vorprojekt deutlich geringer waren. Bei der Ursachenanalyse wurde eine unübliche lange Standzeit der Proben vor dem SPE-Clean-up-Schritt als möglicher Grund identifiziert. Aufgrund eines Gerätedefekts konnten die bereits für den Clean-up-Schritt mit Reinstwasser verdünnten Bodenextrakte (Wasseranteil >95 %) nicht sofort analysiert werden und mussten deshalb über mehrere Tage zurückgestellt werden. Aus diesem Grund wurden nachfolgend Bodenextrakte generiert, diese mit PAP aufdotiert, analog des Analysenprotokolls für den Clean-up-Schritt verdünnt und angesäuert und nach unterschiedlichen Standzeiten mittels Combustion Ion Chromatography (CIC) analysiert.

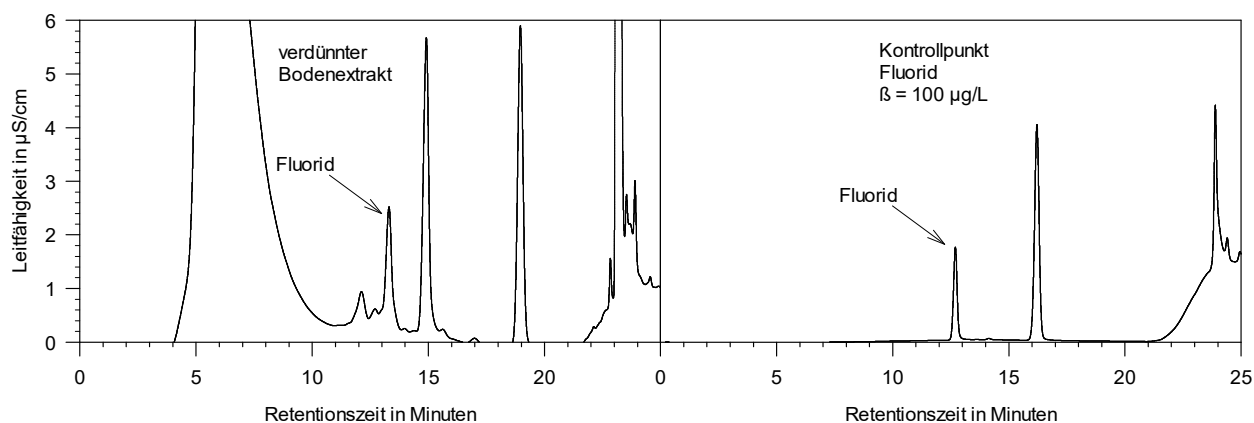


Abbildung 8: Leitfähigkeitsmessung eines verdünnten (1:10) Extraktes vor dem Clean-up-Schritt mittels SPE aus einer Extraktion von 5 g Boden (links) und eines Kontrollpunktes mit einer Konzentration von 100 µg/L (rechts).

Wie in Abbildung 9 zu erkennen ist, weisen alle drei PAP spätestens nach 5 Tagen eine deutlich reduzierte Wiederfindung im Vergleich zu einer sofortigen Probenaufarbeitung auf. Ob die Verluste z. B. einer Anreicherung dieser oberflächenaktiven Substanzen an der Flüssigkeits/Luft-Grenzfläche, einer Adsorption der Verbindungen an die Wandung der Probengefäße oder einer Hydrolyse geschuldet sind, wurde im Projektverlauf nicht weiter beleuchtet. Da es sich bei den PAP aber nachweislich um eine wichtige Verbindungs-klasse in den PFAS-kontaminierten Böden der Region Rastatt/Baden-Baden handelt, stellen diese Ergebnisse wichtige Erkenntnisse für das Vorgehen im Labor dar, um Minderbefunde zu vermeiden.

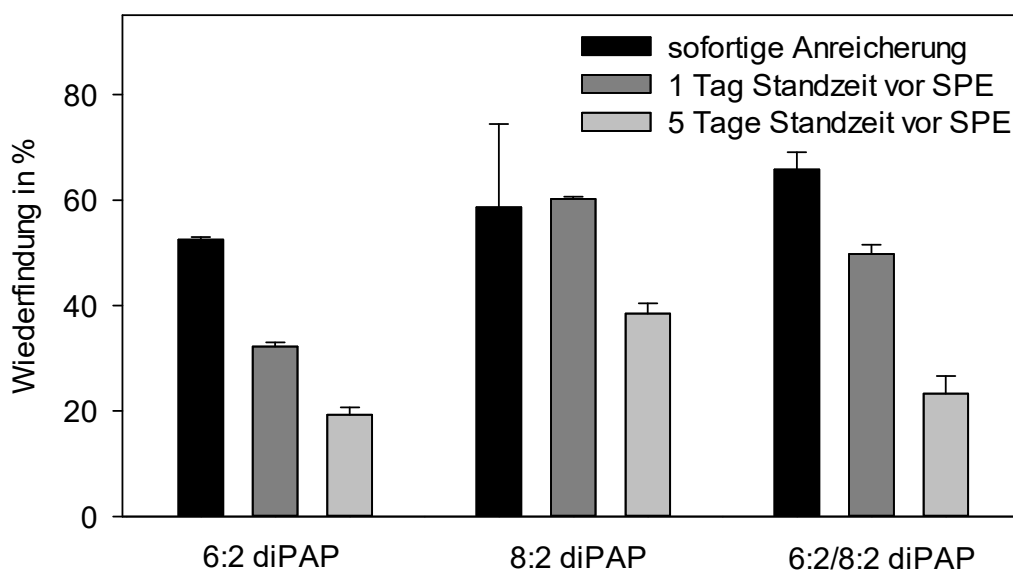


Abbildung 9: Wiederfindung von PAP nach unterschiedlichen Standzeiten in wässriger Lösung (Wassergehalt >95 %).

Neben der Verbesserung der Bestimmungsgrenze für EOF in Bodenproben war eine Weiterentwicklung des Parameters zur Analyse von Pflanzenbestandteilen ein zentraler Punkt des EOFplus-Vorhabens. Aufgrund des zuvor bereits erbrachten Nachweises von PAP in ausgewählten Bodenproben war eine Abschätzung des Transfers von fluorhaltigen Verbindungen vom Boden in darauf angebaute Nutzpflanzen im Sinne eines vorbeugenden Verbraucherschutzes von großem Interesse. Proben für die Extraktionsversuche mit Pflanzenbestandteilen wurden wie oben beschrieben vom LTZ Augustenberg u. a. durch laufende Feldversuche und im Rahmen von kontrollierten Aufwuchsversuchen generiert.

Zunächst wurden in allen Matrices Wiederfindungsversuche mit dem Kontrollstandard PFBS auf einem Konzentrationsniveau von 300 µg/kg F und mit 1 g Pflanzenmaterial durchgeführt. Für Weizen- und Maiskorn sowie für Topinamburknolle wurden zufriedenstellende Wiederfindungen zwischen 70 % und 80 % erreicht. Die Wiederfindungen für die untersuchten blättrigen Matrices lagen lediglich bei 50 % ± 10 % für Maisblätter und 62 % ± 1,6 % für Weidelgras (Abbildung 10). Für jede Matrix wurden jeweils Proben belasteter und unbelasteter Standorte aufdotiert und für die Berechnung der Wiederfindungen deren Grundbelastung vom ermittelten Ergebnis subtrahiert. Überraschend dabei waren die deutlich unterschiedlichen Wiederfindungen in belasteten Maisblättern im Vergleich zur unbelasteten Matrix. Es ist anzunehmen, dass nicht die Belastungssituation der landwirtschaftlichen Fläche mit organischen Fluorverbindungen, sondern vielmehr die spezielle Charakteristik des jeweiligen Standortes sowie Aufwuchs- und Witterungsbedingungen bzw. die Standzeit der Pflanzen Einflussfaktoren für die Entstehung einer unterschiedlichen Pflanzenmatrix waren.

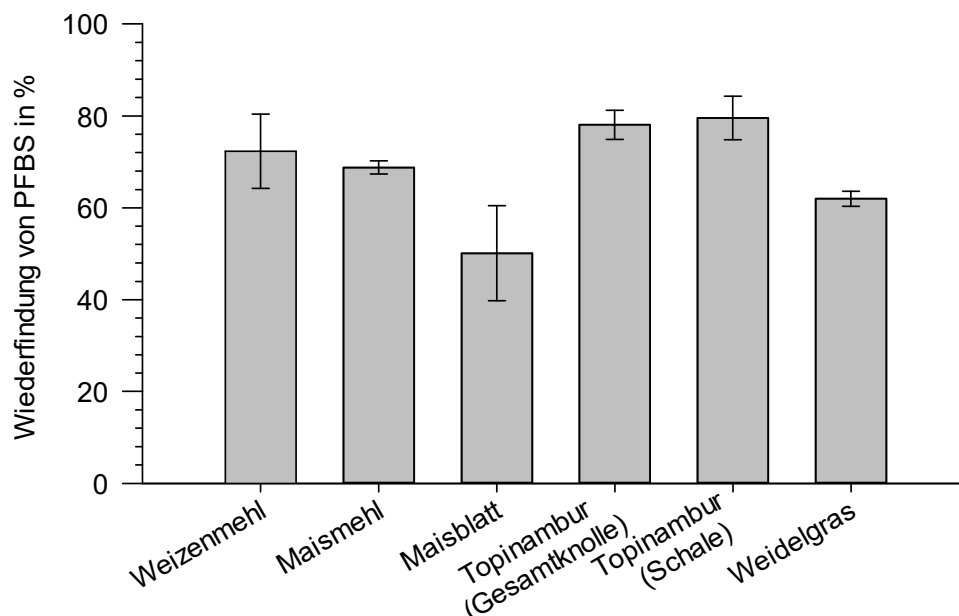


Abbildung 10: Wiederfindung des Kontrollstandards PFBS über das Gesamtverfahren in unterschiedlichen pflanzlichen Matrices (Einwaage 1 g, n = 4), die sowohl auf mit PFAS belasteten wie auf unbelasteten Standorten angebaut wurden.

Bereits bei den ersten Experimenten mit Pflanzenmaterial wurde deutlich, dass die Probenvorbereitung, die für Bodenproben angewandt wird, nicht direkt auf pflanzliche Matrices übertragen werden kann. Sämtliche Proben waren nach der Extraktion noch deutlich gefärbt und wiesen trotz Zentrifugation eine sichtbare Trübung auf. Aus diesem Grund wurde die Zentrifugation nach der Extraktion optimiert und zwei weitere Zentrifugationsschritte (nach Einengen des Extraktes und vor der CIC-Messung) implementiert, so dass sich das finale Analysenprotokoll in dieser Hinsicht von dem für die Anwendung auf Bodenproben unterscheidet. Trübstoffe konnten durch diese Maßnahme vollständig entfernt werden, und es wurden klare aber immer noch gefärbte Extrakte erhalten (Abbildung 11). Weitere Maßnahmen, z. B. Versuche störende Matrixbestandteile wie Wachse/Fette und Blattfarbstoffe wie Chlorophyll u. a. durch Ausfrieren abzutrennen, erbrachten nicht den gewünschten Erfolg.



Abbildung 11: Messfertige Extrakte von Maiskorn (links) und Maisblättern (rechts) nach Extraktion und Clean-up-Schritt.

Die Verwendung von Probeneinwaagen >1 g zur Verbesserung der Bestimmungsgrenze war für einige pflanzliche Matrices mit praktischen Limitierungen verbunden. Durch die geringe Dichte, insbesondere der blättrigen Matrices, ist die Einwaage eines im Vergleich zu Boden größeren Volumens notwendig. Dies führt dazu, dass die Probenmatrix durch das Extraktionsmittel nicht in ausreichendem Maße benetzt werden kann und kein ausreichender Überstand nach der Zentrifugation für die weitere Aufarbeitung zur Verfügung steht. Bei Weizen- und Maiskorn führten größere Probenmengen außerdem zum Teil zu einer kompletten Verblockung der für den Clean-up-Schritt eingesetzten SPE-Kartuschen (Abbildung A2 im Anhang).

Auch bei der Analyse von Pflanzenproben musste im Rahmen der Methodenentwicklung sichergestellt werden, dass co-extrahiertes in anorganischen Spezies vorliegendes Fluorid erfolgreich abgetrennt werden kann. Bei diesem Vorgehen wird bei Böden ein Aliquot des Extraktes mit Wasser verdünnt und mittels IC-LF gemessen, um eine Unterschreitung der

garantiert abtrennbaren Konzentration des anorganischen Fluorids im vorliegenden Extrakt zu verifizieren. Die Matrixbelastung bei Pflanzenextrakten war allerdings so groß, dass zur Retentionszeit von Fluorid Matrixkomponenten mit hoher Signalintensität eluierten (Abbildung 12, links). Somit war eine sichere Quantifizierung nicht mehr gegeben. Zur Quantifizierung des maximal extrahierbaren Fluorids wurde deshalb versucht Pflanzenproben direkt mittels CIC zu verbrennen und zu analysieren (bei ermittelten Gehalten <50 mg/kg TS kann die Extraktion für den Clean-up-Schritt kritischer Gehalte an anorganischem Fluorid sicher ausgeschlossen werden). Bei Verwendung der CIC traten deutlich weniger störende Matrixkomponenten auf, was zumindest die sichere Quantifizierung des Gesamtfluors der Probe erlaubt. Allerdings kam es bei der Direktverbrennung von Probenmengen $>0,1$ g zu deutlich sichtbaren Kontaminationen an der Gasableitung der CIC-Einheit, die einen enormen Wartungsaufwand bedeutete (Abbildung A3). Deshalb ist dieses Vorgehen für den Routinebetrieb nur für exemplarische Messungen sinnvoll, zumal von vergleichsweise geringen Mengen an Fluorid in pflanzlichen Matrices ausgegangen werden kann. Die Gesamtaufnahme an Fluorid aus Lebensmitteln, also auch aus Pflanzen, beträgt in Deutschland lediglich $400 - 500$ μg am Tag (BGVV, 2002). Für unterschiedlichste Obst- und Gemüsesorten werden meist Fluorid-Gehalte berichtet, die deutlich unter der getesteten Maximalkonzentration von 50 mg/kg TS an anorganischem Fluorid liegen (Walters et al., 1983; Gupta und Banerjee, 2011; Gautam et al., 2010), die sicher bei der Probenvorbereitung entfernt werden kann.

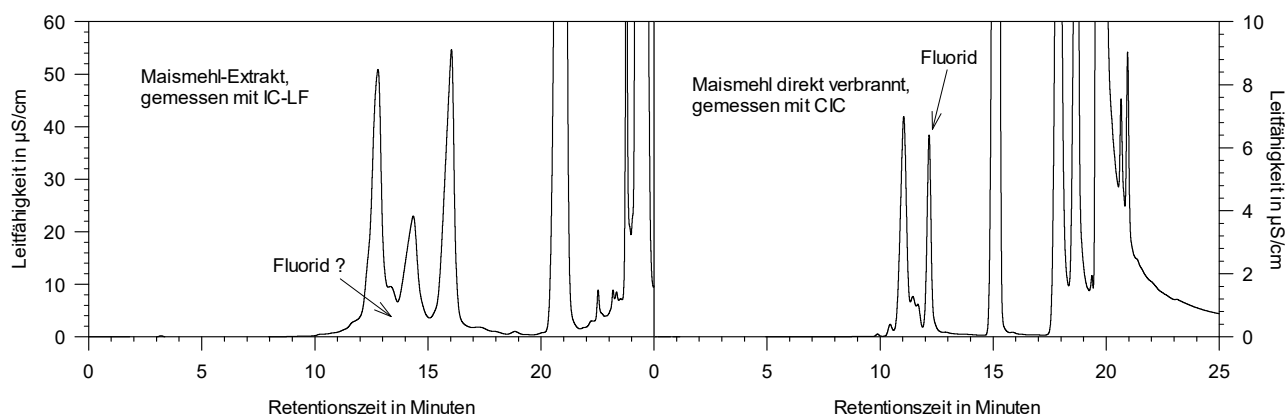


Abbildung 12: Ionenchromatogramm eines verdünnten (1:10) Probenextraktes vor dem Clean-up-Schritt mittels SPE und Verbrennung aus einer Extraktion von Maiskorn (links) und einer Direktverbrennung der Probe mittels CIC (rechts).

Validierung

Gemeinsam mit der Projektbegleitgruppe wurde beschlossen, die Validierung für Boden vom unbelasteten Standort Forchheim sowie für Maiskorn und Maisblatt als repräsentative Matrices für Boden, Korn und blättriges Pflanzenmaterial durchzuführen.

Die eingesetzten Probenmengen wurden aus den oben aufgeführten Gründen auf 5 g für Boden, 1 g für Maiskornmehl und 2 g für Maisblätter festgelegt. Neben einer Empfindlichkeitssteigerung wurde auch eine verbesserte Kenntnis der über den Summenparameter EOF erfassbaren Verbindungen angestrebt. Hierzu wurde anhand von Referenzverbindungen exemplarisch die Extraktionsausbeute für per- und polyfluorierte Carbon- und Sulfonsäuren geprüft, die mittels Einzelstoffanalytik quantifiziert werden können. Diese Daten sind wichtige Kenngrößen zur Beurteilung der durch den EOF erfassbaren Verbindungen im Hinblick auf Ergebnisse der Einzelstoffanalytik.

Für diese Versuche wurden die Proben der für die Validierung ausgewählten Matrices und Weizenkorn mit einer definierten PFAS-Konzentration aufdotiert (60 ng absolut) und über das Gesamtverfahren aufbereitet. Interne Standards wurden nach der Elution der Analyten beim Clean-up-Schritt zugegeben, um Matrixeffekte bei der massenspektrometrischen Detektion rechnerisch auszugleichen und somit eine Bewertung ausschließlich matrixbedingter Verluste während Extraktion und dem Clean-up-Schritt zu erfassen. Die Wiederfindung wurde anschließend durch die Quantifizierung über eine externe Kalibrierung ermittelt. Wie Abbildung 13 zu entnehmen ist, liegen die Wiederfindungen insbesondere für kurzkettige perfluorierte Carbonsäuren sowie einige polyfluorierte Vertreter z. T. unter 50 %. Durch die Mitführung einer Probe über das Gesamtverfahren, die keine Matrix enthielt, ist zu erkennen, dass die Probenmatrix die Extraktion der Verbindungen und den Clean-up-Schritt der Extrakte in den wenigsten Fällen signifikant beeinflusst.

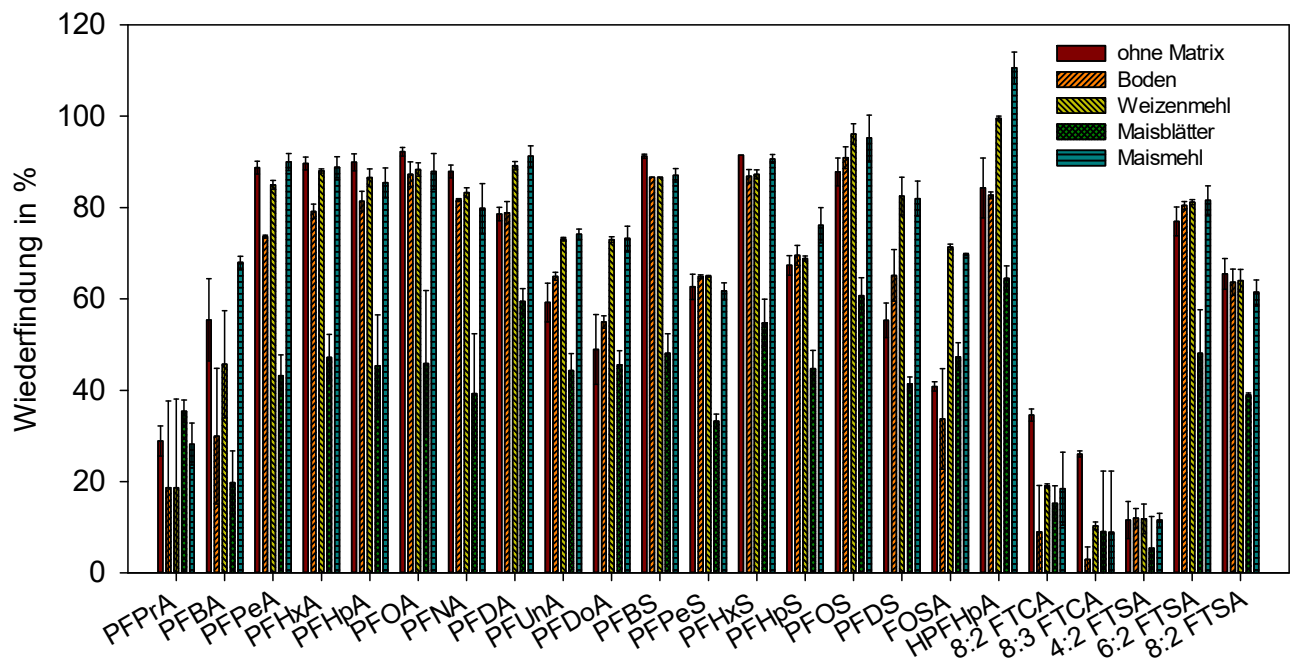


Abbildung 13: Wiederfindungen verschiedener PFAS unter Berücksichtigung von Extraktion und Clean-up-Schritt des EOF-Analysenprotokolls. Analyse mittels LC-MS/MS in verschiedenen Matrices. Boden = 12 µg/kg, Maisblätter = 30 µg/kg, Maismehl/Weizenmehl = 60 µg/kg.

Die im Rahmen der Vorversuche mit der Referenzverbindung PFBS erzielten Erkenntnisse können auf ein breiteres Analytenspektrum übertragen werden. Die mittlere Wiederfindung aller hier untersuchten Verbindungen liegt für den Referenzboden bei ca. 70 % für Maiskorn und für Weizen bei ca. 80 %. Die durchschnittliche Wiederfindung in den deutlich stärker gefärbten Extrakten der Maisblätter lag dagegen nur bei ca. 45 %. Offenbar werden hier Matrixbestandteile co-extrahiert, die die Wiederfindung der Zielverbindungen reduzieren. Die Wiederfindungen in Mais- und Weizenkorn waren insgesamt vergleichbar (was ebenso auch für den Vergleich von Weidelgras mit Maisblättern für die Wiederfindung von PFBS gilt), dennoch sollten analoge Experimente für noch nicht untersuchte Matrices vor der ersten Analyse durchgeführt werden.

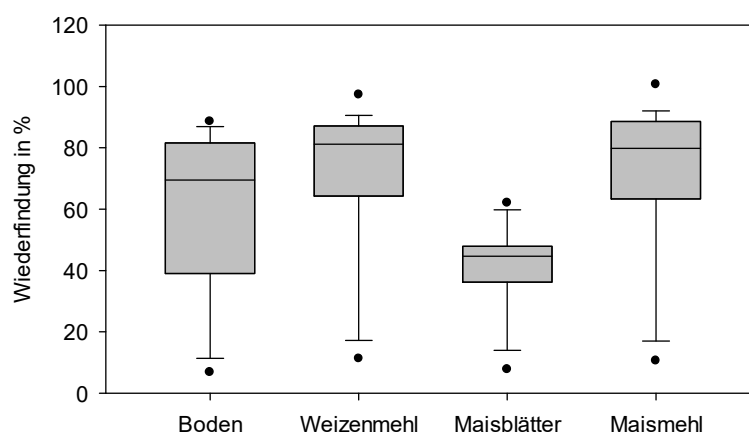


Abbildung 14: Wiederfindung der untersuchten 22 per- und polyfluorierten Carbon- und Sulfonsäuren und FOSA in unterschiedlichen Matrices. Die jeweils obere und untere Begrenzung der Boxen beschreibt den Bereich zwischen dem 1. Quartil und dem 3. Quartil. Die Linie in der Box gibt den Median an, die Whisker das 5- und das 95-Perzentil, die Punkte Minimal- und Maximalwert.

Für die drei Matrices Boden, Maismehl und Maisblatt wurde eine äquidistante Kalibrierung mit >10 Kalibrierpunkten über das Gesamtverfahren durchgeführt. Die Berechnung der Bestimmungsgrenzen erfolgte gemäß DIN 32645. Darüber hinaus wurde geprüft, ob eine Aufstockung der Proben in Höhe der jeweiligen Bestimmungsgrenze sich signifikant vom Methodenblindwert unterscheidet. Falls dies nicht der Fall war, wurde die Bestimmungsgrenze entsprechend nach oben korrigiert. Das Bestimmtheitsmaß der linearen Regression von >0,99 für die Matrices Boden und Maiskorn zeigt die sehr geringe Schwankungsbreite. Lediglich für die Matrix Maisblatt ist die Streuung etwas größer, aber auch hier werden akzeptable Werte erreicht. Gemäß statistischer Auswertung wurde für Boden eine Bestimmungsgrenze von 5 µg/kg TS errechnet. Wie anhand der Kalibriergeraden für Boden zu erkennen ist, liegt die Signalfäche dieses Konzentrationsniveaus aber lediglich um den Faktor 2 über der des Methodenblindwerts (Abbildung 15). Um einen deutlicheren Abstand zum Blindwert zu erreichen, wurde die Berichtsbestimmungsgrenze für EOF aus Boden auf 10 µg/kg festgelegt. Für pflanzliche Matrices wird eine Bestimmungsgrenze von 25 µg/kg erreicht. Ein vereinfachter Workflow des modifizierten EOF-Analyseverfahrens ist in Abbildung 16 dargestellt.

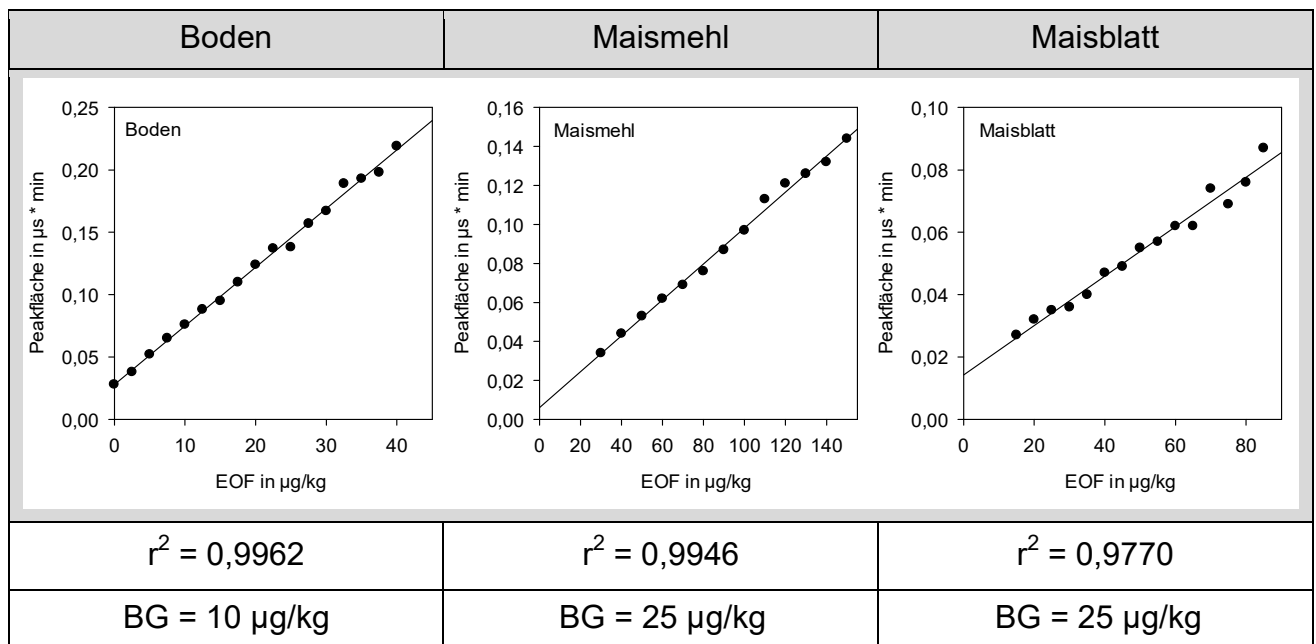
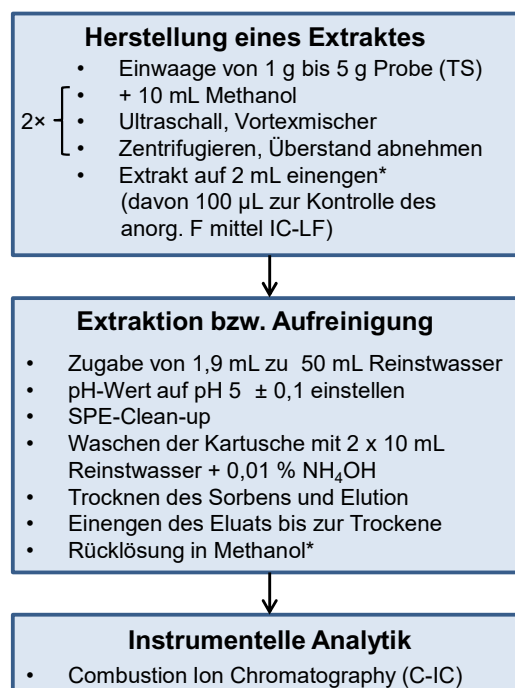


Abbildung 15: Kalibriergeraden für die Modellverbindung PFBS über das EOF-Gesamtverfahren und zugehörige Validierungsparameter für die Matrices Boden, Maismehl und Maisblatt, r^2 = Bestimmtheitsmaß, BG = Bestimmungsgrenze.



*zusätzlicher Zentrifugationsschritt bei pflanzlichen Matrices

Abbildung 16: Schema der einzelnen Arbeitsschritte zur Bestimmung des EOF entsprechend dem Stand am Ende des EOFplus-Vorhabens.

Ergebnisse der EOF-Bestimmungen an realen Proben

Die validierten Methoden wurden auf unterschiedliche Bodenproben aus Mittel- und Nordbaden sowie auf verschiedene Pflanzenarten, die von belasteten und unbelasteten Standorten stammten, angewendet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 17 dargestellt.

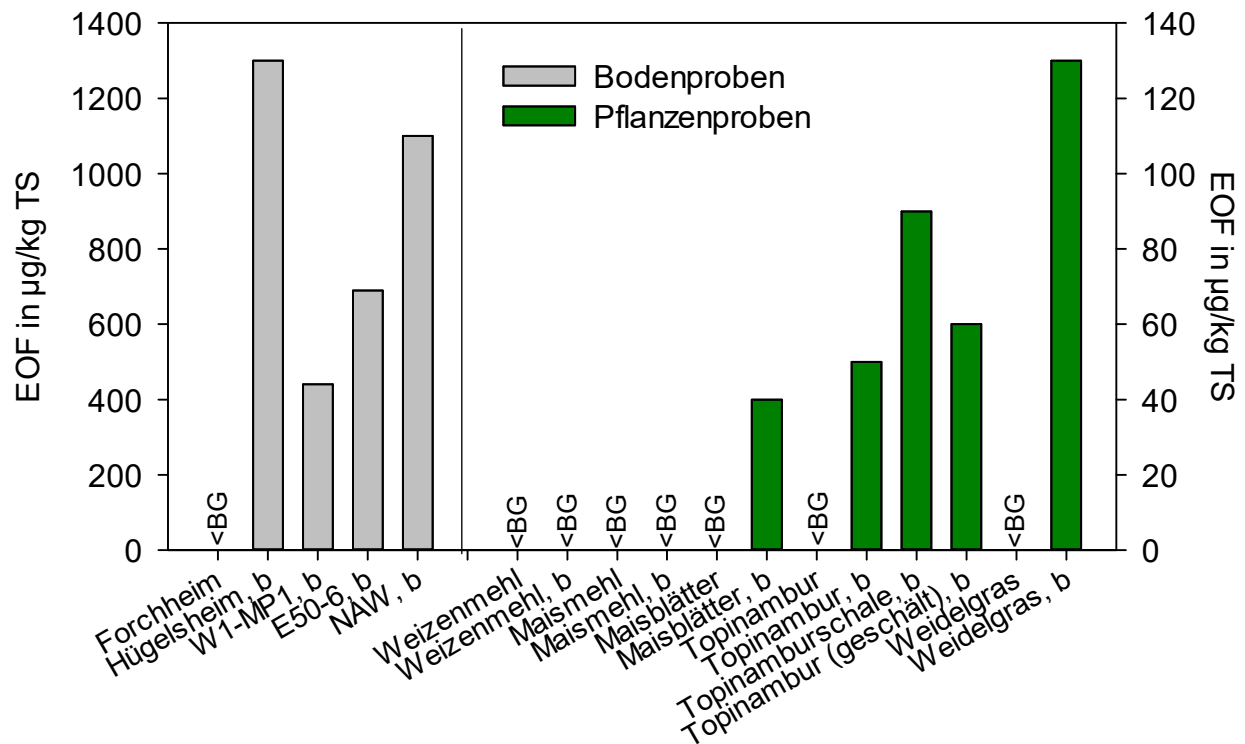


Abbildung 17: EOF-Gehalte in Boden- und Pflanzenproben. b = Standort mit PFAS-Belastung.

Beim bisher als unbelastet eingestuften Referenzboden aus Forchheim konnte auch mit der verbesserten Bestimmungsgrenze weiterhin keine EOF-Belastung festgestellt werden, wohingegen die restlichen Bodenproben EOF-Gehalte zwischen 440 µg/kg und 1300 µg/kg aufwiesen.

In sämtlichen Pflanzenproben, die auf unbelasteten Standorten angebaut worden waren, konnte kein EOF nachgewiesen werden. Dies war auch für Mais- und Weizenkorn von den Standorten mit einer nachweislichen EOF-Bodenbelastung der Fall. In Maisblättern von einem belasteten Standort und in Weidelgras aus Aufwuchsversuchen mit belastetem Bodenmaterial wurden hingegen EOF-Gehalte von 40 µg/kg TS bzw. 130 µg/kg TS bestimmt. Von Topinambur eines belasteten Anbaugebiets wurden die gesamte Knolle, die geschälte Knolle sowie deren Schale untersucht. Ähnlich wie bei den blättrigen Matrices war hier ein deutlicher Übergang des EOF in die Knolle zu beobachten. In Gesamtknolle und geschälter Knolle wurden 50 µg/kg TS bzw. 60 µg/kg TS EOF nachgewiesen, in der Schale ca. 90 µg/kg TS.

Die Anreicherung in den blättrigen Matrices könnte der Transpiration der Pflanzen über die regulierbaren Spaltöffnungen der Blätter und der damit verbundenen Anreicherung von mit

dem Wasser transportierten fluorierten Verbindungen geschuldet sein. Mais benötigt dabei weniger Wasser zur Ertragsbildung als Weizen. Grundsätzlich wurde bereits gezeigt, dass der Gesamtwasserverbrauch verschiedener Kulturpflanzenbestände auch stark von der Dauer ihrer Wachstumsperiode abhängig ist. In Feldversuchen betrug er beispielsweise für das fast ganzjährig wachsende Weidelgras nahezu 700 mm (Roth et al., 2005). Auch Winterweizen weist eine ähnlich lange Wachstumszeit auf. Feldgemüse wie Zwiebeln oder Kohl verbrauchen aufgrund ihrer deutlich kürzeren Wachstumsperiode auch weniger Wasser (< 350 mm). Darüber hinaus können weitere Faktoren wie der Anbau unter Folie den Wasserverbrauch erheblich beeinflussen. Da beim EOF als Summenparameter nicht bekannt ist, welche fluorierten Verbindungen zum Ergebnis beitragen, wird eine Plausibilisierung in diesem Fall erschwert (siehe hierzu auch Diskussion in Kapitel 4.2.2).

4.1.2 TOP-Assay

Der *total oxidizable precursor* (TOP)-Assay ist ein oxidatives Aufschlussverfahren, bei dem durch Thermolyse von Peroxodisulfat im alkalischen Milieu Hydroxylradikale erzeugt werden. Diese können in Folgereaktionen schwer erfassbare und daher oftmals nicht näher definierte PFAS-Gemische in Verbindungen transformieren, vorwiegend in PFCA, die anschließend mittels Standardmethoden erfassbar sind (Houtz und Sedlak, 2012). Im Folgenden wird die Methodenentwicklung für eine effektive Umsetzung solcher Vorläuferverbindungen (Präkursoren) aus Boden- und Pflanzenextrakten mittels TOP-Assay beschrieben. Des Weiteren stand eine Erweiterung des Analytenspektrums um die kurz-kettigsten Vertreter der PFCA im Fokus der Methodenentwicklung.

Die während der hier beschriebenen Experimente erzeugten aufgeschlossenen Proben wurden mittels Kopplung von Ionenchromatographie und Tandem-Massenspektrometrie (IC-MS/MS) sowie Umkehrphasenflüssigchromatographie und Tandem-Massenspektrometrie (RP-LC-MS/MS) untersucht. Als Zielverbindungen des TOP-Assays wurden PFCA mit Kettenlängen von C₂ (TFA) bis C₁₄ (PFTeDA) sowie PFSA (PFBS, PFPeS, PFHxS, PFHpS, PFOS, PFDS) in die Methodik integriert, darüber hinaus einige ausgewählte Vorläufer. Zur Qualitätssicherung wurden interne Standards (sofern kommerziell verfügbar) verwendet. In diesem Arbeitspaket standen maßgeblich die Optimierung des TOP-Assays an sich sowie die erweiterte Probenvorbereitung im Mittelpunkt. Da es sich bei der anschließenden instrumentellen Analytik weitestgehend um Standardmethoden handelt, wird im Weiteren nicht auf die chromatographischen Nachweismethoden eingegangen.

Anpassung der Probenvorbereitung (nach erfolgtem TOP-Assay) für die Integration weitere Analyten

Der in der Literatur beschriebene TOP-Assay berücksichtigt nicht die potenzielle Entstehung von PFCA mit einer Kettenlänge <C₄ (Houtz et al., 2013). Da möglicherweise nicht unerhebliche Mengen an TFA und PFPrA beim TOP-Assay entstehen, birgt deren Nichtberücksichtigung das potenzielle Risiko einer Unterschätzung des tatsächlichen

Vorläuferpotenzials. Daher war die Integration dieser kurzkettigen Vertreter der PFCA in die Methodik ein wichtiges Ziel. In früheren Publikationen zum TOP-Assay wird die Durchführung des Aufschlusses mit 60 mmol/L Peroxodisulfat in Gegenwart von 150 mmol/L Natronlauge beschrieben (Houtz und Sedlak, 2012; Houtz et al., 2013). Im Verlauf der Reaktion ist daher mit der Entstehung von Gehalten an Sulfat zu rechnen, die die Gehalte der erwarteten Zielsubstanzen in erheblichem Maße (d. h. einige Größenordnungen) übersteigen. Für die Anreicherung der Analyten und die Matrixabtrennung wird üblicherweise ein schwacher Anionenaustauscher verwendet. Janda et al. zeigten bereits, dass anorganische Anionen (Chlorid, Sulfat) die Anreicherung von TFA an schwachen Anionenaustauschern massiv stören können (Janda et al., 2018). Vorversuche mit bereits abgeschlossenen Aufschlusslösungen des TOP-Assays bestätigten die Annahme, dass die Wiederfindung vor allem von kurzkettigen PFCA bei dieser Art der Probenvorbereitung ungenügend ist. Vermutlich ist dies die Ursache dafür, dass TFA und PFPrA in der Methodenentwicklung bisheriger Arbeiten zum Thema TOP-Assay nicht berücksichtigt wurden.

Ein weiterer Aspekt ist die anschließende Bestimmung von TFA. Bei der hier bevorzugten IC-MS/MS-Analytik (Scheurer et al., 2017) können hohe Salzgehalte sowohl die ionenchromatographische Trennung als auch die MS-Detektion empfindlich stören. Daher musste zunächst eine geeignete Methode entwickelt werden, um (i) alle beabsichtigten Analyten aus den Aufschlusslösungen zu isolieren und (ii) gleichzeitig anorganische Anionen (v. a. Sulfat) effektiv abzutrennen. Da TFA der vermutlich kritischste Parameter bei der weiteren Probenvorbereitung ist, wurde das Verfahren zunächst für diese Substanz optimiert. Als vielversprechender Ansatz wurde eine Trocknung der Aufschlusslösung mittels Rotationsvakuumverdampfer mit anschließender Extraktion des TFA aus dem Trockenrückstand mit geeigneten organischen Lösungsmitteln angesehen.

Für die Extraktionsversuche wurden Aceton und Acetonitril (ACN) herangezogen. Beide Lösungsmittel sollten das Potenzial besitzen, TFA möglichst vollständig aus dem Salzurückstand zu extrahieren, ohne nennenswerte Mengen anorganischer Salze zu lösen. Für die Bewertung der Salzabtrennung wurden 10-mL-Aliquote einer abreagierten Aufschlusslösung (20 h Reaktionsdauer) mittels Rotationsvakuumverdampfer zur Trockene eingengt. Die Rückstände wurden jeweils zweifach mit 1 mL des jeweiligen Lösungsmittels versetzt und möglichst fein im Lösungsmittel verteilt. Die Extrakte wurden mittels Pasteurpipette vom Salzurückstand abgetrennt, bis zur Trockene im N₂-Strom eingengt und in Wasser rückgelöst. Zur Bestimmung der TFA-Wiederfindung wurde dieses Experiment mit vordotierten (10 ng TFA) Aufschlusslösungen wiederholt. Die Messextrakte wurden auf Sulfat (IC-LF) bzw. TFA (IC-MS/MS) analysiert und deren Wiederfindung berechnet. Alle Versuche wurden als Triplikate durchgeführt. Sowohl ACN als auch Aceton erlauben bei dieser Vorgehensweise eine praktisch vollständige Abtrennung der Salzmatrix (> 99,99 %) bei gleichzeitig hoher Extraktionsausbeute von TFA (86–94 %). Bei den Tests mit Aceton fiel beim Lösungsmittelwechsel eine schwerflüchtige Flüssigkeit auf – vermutlich ein Wasser-Isophoron-Gemisch (Conant und Tuttle, 1921) – was insgesamt zu einem

größeren Zeitaufwand während der Probenvorbereitung verglichen mit den ACN-Experimenten führte. Aus diesem Grund wurde die finale Methode auf Basis von ACN weiterentwickelt.

Die im Projektverlauf optimierte Methodik der erweiterten Probenvorbereitung lautet wie folgt: Eine Mischung aus internen Standards wird auf den Trockenrückstand gegeben. Die Analyten werden mit ACN in zwei Stufen aus dem Trockenrückstand extrahiert. Bei der ersten Stufe werden nach Zugabe von 20 µL Reinstwasser (zum Anlösen der Salze) 1,4 mL ACN in das Reagenzglas mit den Trockenrückständen gegeben und der Rückstand mit Hilfe eines Spatels vollständig von den Wänden der Reagenzgläser entfernt und zerkleinert. Nach Zugabe von 6–7 Glaskugeln (Ø 3 mm) – die Glaskugeln erleichtern das Zertrümmern größerer Salzkristalle bei der Extraktion – wird die Probe für 30 min bei ca. 1900 U/min auf einem Vortex-Schüttler gemischt. Der Überstand wird in ein 2-mL-Zentrifugengefäß aus Polypropylen (PP) gegeben, dieses wird zentrifugiert (10 min bei 12.000 × g) und der Überstand in ein 2-mL-Zentrifugengefäß überführt. Nach Wiederholung des Extraktionsvorgangs mit 0,7 mL ACN und einer Durchmischungszeit von ca. 10 s auf einem Vortex-Schüttler werden die Überstände vereinigt und das Lösungsmittelvolumen im Stickstoffstrom bei 33–34 °C bis zur Trockene eingeeengt. Durch Zugabe von 1 mL eines Gemischs aus MeOH und Wasser (9:1, v/v) werden die Analyten rückgelöst, homogenisiert und zur Messung in ein 1,5-mL-Vial (PP) mit Schraubdeckel überführt. Der hohe MeOH-Anteil ist notwendig, um die langkettigen Analyten in Lösung zu bringen. Aus diesem Extrakt können prinzipiell alle integrierten Analyten bestimmt werden. Für die RP-LC-MS/MS-Methode wurde aufgrund des hohen MeOH-Anteils allerdings ein spezielles Injektorprogramm entwickelt, um die Retention vor allem kürzerkettiger Analyten (PFPrA, PFBA) auf der Trennsäule zu verbessern.

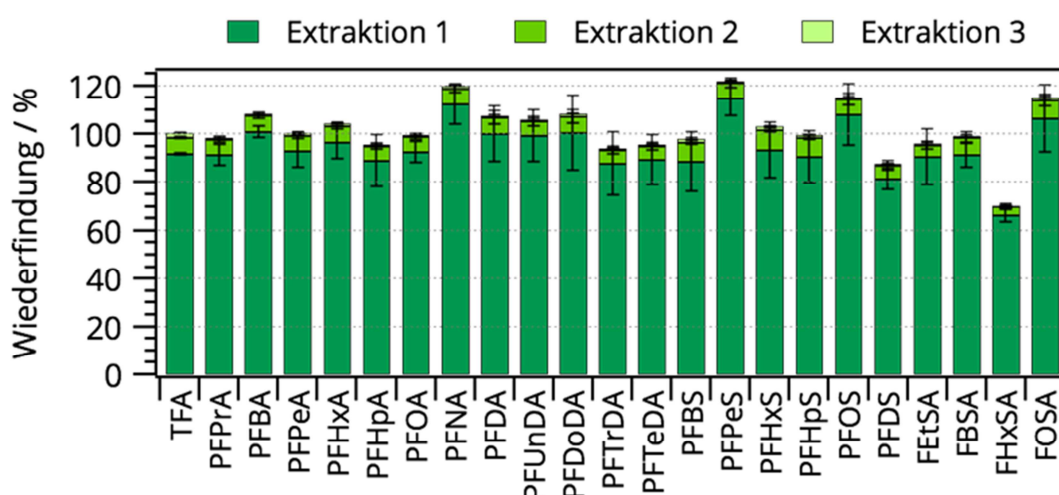


Abbildung 18: Absolute Extraktionswiederfindungen nach dreistufiger Extraktion der dotierten Analyten aus einer matrixfreien Aufschlusslösung.

Die Wiederfindungen aller Analyten sind in Abbildung 18 dargestellt. Dort abgebildet sind die Ergebnisse einer dreistufigen Extraktion (1,4/0,7/0,7 mL). Da der dritte Extraktions-

schritt zu keiner nennenswerten Verbesserung der Extraktionsausbeute führte, wurde im Hinblick auf eine Lösungsmittelsparung darauf verzichtet. Mit Ausnahme von FHxSA liegen die absoluten Wiederfindungen bereits nach zweistufiger Extraktion im sehr guten Bereich von 80–120 %.

Extraktion der Präkursoren aus Boden und Pflanzenmaterial

Eine Anwendung des TOP-Assays auf Extrakte von Pflanzenmaterial ist in der Literatur noch nicht beschrieben worden; eine erste Anwendung des TOP-Assays auf Bodenextrakte ist bereits dokumentiert (für PFCA > C₄) (Houtz et al., 2013). Um einen unmittelbaren Bezug zu den EOF-Analyseergebnissen herstellen zu können, werden die Präkursoren allerdings mittels reinen MeOH anstelle von basischem MeOH aus der Feststoffmatrix extrahiert.

Ein Probenaliquot von 0,5 g TS wird in ein 50-mL-Zentrifugengefäß aus PP eingewogen und mit 5 mL MeOH extrahiert. Der Extraktionsvorgang beinhaltet eine kurze Durchmischung (5 s) mit einem Vortex-Schüttler, 15 min Ultraschallbehandlung bei 25 °C und weitere 30 min Durchmischung auf einem Kreisschüttler bei Raumtemperatur. Nach 5 min Zentrifugation bei 3000 U/min (bzw. 2968 × g) wird der Überstand in ein 15-mL-Zentrifugengefäß aus PP überführt. Der Extraktions- und Zentrifugationsvorgang wird mit 5 mL frischem MeOH wiederholt und der entstandene Überstand mit dem bereits abgetrennten Extrakt vereint. Der erhaltene Gesamtextrakt wird im N₂-Strom bei 33–34 °C auf ein Volumen von < 5 mL eingengt und anschließend auf 5 mL aufgefüllt. Daraus resultiert ein Extrakt mit 0,1 g Probenaliquot pro mL Extrakt, der anteilig und nach einer an die Probenmatrix angepassten weiteren Vorbehandlung dem TOP-Assay zugeführt wird.

Anpassung des TOP-Assays an Extrakte aus Bodenmaterial

In der Originalpublikation zum TOP-Assay (Houtz und Sedlak, 2012) wurden Oberflächenabfluss-Proben mit 60 mM Kaliumperoxodisulfat (K₂S₂O₈) und 150 mM Natronlauge (NaOH) über einen Zeitraum von 6 h auf 85 °C erhitzt. Unter diesen Rahmenbedingungen sollten ca. 95 % des eingesetzten Peroxodisulfats abreaktiert sein. In eigenen Vorversuchen, die mit ausgewählten Präkursoren (4:2 Fluortelomersulfonsäure (4:2 FTSA) und 6:2 FTSA) analog dem Originalprotokoll durchgeführt wurden, traten allerdings bereits ohne Matrixbestandteile z. T. hohe Streuungen in den Produktkonzentrationen der Dreifachbestimmung auf (zwischen 8,5 % relative Standardabweichung (RSD) für PFPeA und 45 % für PFHxA), die für eine mangelnde Robustheit des angewendeten Aufschlussverfahrens sprechen. In Gegenwart einer komplexen Matrix, wie sie sehr wahrscheinlich bei Extrakten aus Boden- und Pflanzenmaterial anzutreffen ist, dürfte dieser Effekt vermutlich noch deutlicher hervortreten. Es wurde daher untersucht, ob sich eine längere Reaktionsdauer mit dem Ziel einer vollständigen Thermolyse des eingesetzten Peroxodisulfats positiv auf die Reproduzierbarkeit der Produktkonzentrationen und damit auf die Robust-

heit der Aufschlussmethode auswirkt. Mit einer Reaktionszeit von 20 h wurden bei sonst unveränderten Versuchsbedingungen Standardabweichungen zwischen 0,8 % und 6,7 % erhalten, weshalb diese Zeitspanne bei der weiteren Methodenoptimierung und der finalen Methode aufgewendet wurde.

Im Rohextrakt liegen neben den zu oxidierenden PFAS auch weitere co-extrahierte Verbindungen vor, welche während des Aufschlusses in Konkurrenz zu den eigentlichen Zielsubstanzen – den Präkursoren – stehen und über Nebenreaktionen eine quantitative Bildung der entsprechenden PFCA verhindern können. Ein stark matrixabhängiger Stoffumsatz würde die Aussagekraft eines Ergebnisvergleichs unterschiedlicher Standorte und/oder Matrices erheblich schwächen, weshalb auch dahingehend eine Methodenoptimierung notwendig wurde. Daher wurde der Einfluss der eingesetzten Probenmenge auf die maximalen Produktkonzentrationen mittels der Verwendung unterschiedlicher Extraktaliquote (diese entsprachen 0,5 g, 0,2 g und 0,1 g Boden) eines belasteten Modellbodens überprüft. In den Extrakten befindliches MeOH wurde vor Zugabe der Reagenzien vorsichtig im Stickstoffstrom bei ca. 35 °C entfernt. Dies fand bereits in den Aufschlussgefäßen statt, in die nach diesem Arbeitsschritt die Aufschlusslösung gegeben wurde.

Die erzielten PFCA-Gehalte der Reaktionsansätze mit 0,5 g Teilprobe fielen im Mittel 16 % niedriger als die Gehalte mit 0,2 g und sogar 21 % niedriger als die 0,1-g-Ansätze aus. Daraus wurde abgeleitet, dass co-extrahierte Verbindungen im Fall der Teilproben mit 0,5 g und 0,2 g Bodenäquivalenten zu einer unvollständigen Transformation vorhandener Präkursoren führen. Demnach wurden Teilproben entsprechend 0,1 g TS als geeignet befunden und für das weitere Vorgehen festgelegt. Geringere Probenäquivalente sollten unter Berücksichtigung des hohen Verdünnungsfaktors nur in Ausnahmen (d. h. bei Hinweisen auf unvollständige Oxidation wie z. B. einer weiterbestehenden Färbung der Lösung nach dem Aufschluss) in Betracht gezogen werden.

Anpassung des TOP-Assays an Extrakte aus Pflanzenmaterial

In ersten Aufschlussexperimenten mit Weizenextrakten zeigte sich, dass eine Verwendung des methanolischen Rohextrakts (nach Entfernung des MeOH) für den TOP-Assay nicht unmittelbar geeignet ist. Unbelastete Weizenproben, die mit FASA dotiert wurden, lieferten keine reproduzierbaren PFCA-Konzentrationen. Selbst bei Verwendung einer Teilprobe von 0,1 g TS (analog der entwickelten Methodik für die Anwendung auf Bodenextrakte) betrug die Streuung (RSD) bei der Transformation zu beispielsweise PFHxA 60 %. Es wurden daher ausgewählte Methoden zur Aufreinigung des Rohextrakts untersucht. Folgende Möglichkeiten wurden getestet:

1. Adsorptive Aufreinigung mit ENVICarb (graphitierter Kohlenstoff), dispersiv
2. Ausfrieren von organischen Bestandteilen bei -20 °C
3. Mechanische Reinigung durch einen zweiten Zentrifugationsschritt: Länger und mit höherer g-Zahl als bei Herstellung des Rohextrakts, (20 min, 16.000 × g).

Als pflanzliche Matrices wurden Weizenkorn (Mehl), Maiskorn (Mehl) und Maisblätter für diese Versuche ausgewählt. Es konnte gezeigt werden, dass alle drei Methoden der erweiterten Matrixabtrennung zu ähnlich zufriedenstellend bis sehr gut reproduzierbaren Ergebnissen (2–33 % RSD) führen. Aufgrund der einfachen Durchführung und Handhabung wurde im weiteren Verlauf der zusätzliche Zentrifugationsschritt favorisiert.

Workflow des TOP-Assays für Boden- und Pflanzenmaterial

Ein vereinfachter Workflow des entwickelten Verfahrens ist in Abbildung 19 dargestellt.

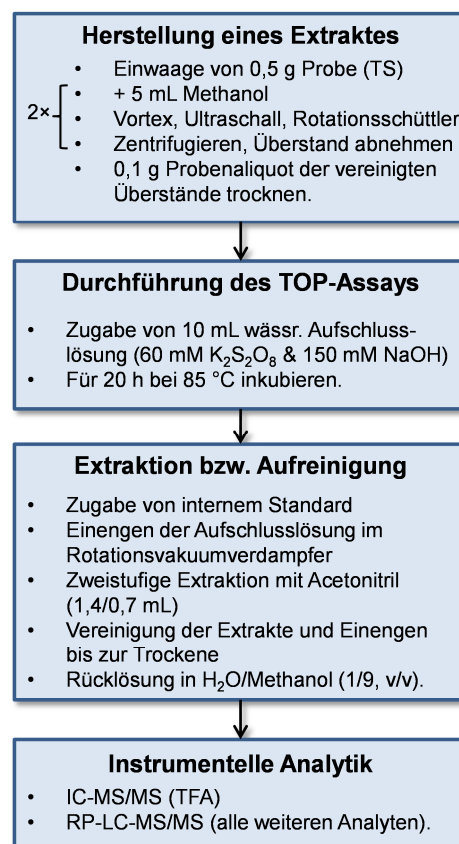


Abbildung 19: Vereinfachter Workflow des entwickelten Verfahrens.

Validierung des entwickelten Verfahrens

Je nach vorliegender Vorläuferverbindung können aus ihr während der Oxidationsprozesse im TOP-Assay mehrere Reaktionsprodukte entstehen und nebeneinander im finalen Messextrakt vorliegen. Der Wunsch nach eindeutiger Zuordnung und quantitativer Betrachtung unbekannter Vorläufer ist daher nicht realistisch, weshalb der Versuch einer klassischen Ableitung von Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (NG und BG) hinsichtlich der Vorläufer nicht sinnvoll bzw. möglich ist. Daher wurden zunächst die BG der PFCA im finalen Messextrakt für beide verwendeten Analysemethoden mittels Kalibrierung im unteren Arbeitsbereich ermittelt (IC-MS/MS: 11 Konzentrationsniveaus zwischen 0,01 µg/L und 0,25 µg/L; RP-LC-MS/MS: 13 Konzentrationsniveaus zwischen 0,01 µg/L und 0,30 µg/L). Zusätzlich wurde das Signal/Rausch (S/R)-Verhältnis der jeweilig berechneten BG überprüft. Sollte die mittels Kalibriergeradenverfahren ermittelte BG kein S/N-Verhältnis von ≥ 10 erreicht gehabt haben, wurde die BG entsprechend des S/N-Verhältnisses angehoben. Dies war für PFPrA und PFPeA der Fall. Mit Ausnahme von PFOA (0,11 µg/L), PFPrA (0,15 µg/L) und PFBA (0,17 µg/L) lagen die BG im Bereich $< 0,1$ µg/L. Die Linearität (ausgedrückt als r^2) war mit Ausnahme von PFUnDA und PFTrDA (beide 0,988) $> 0,99$. Ein Messwert von 0,1 µg/L entspricht bei Verwendung eines 0,1-g-Feststoffaliquots in einem TOP-Assay mit 10 mL Nennvolumen und anschließender Aufkonzentration einem Gehalt von 1 µg/kg TS.

Für eine Gesamtabstschätzung von Extraktions- und Oxidationseffizienz der entwickelten TOP-Assay-Methode wurden vier exemplarische Vorläufersubstanzen ausgewählt (FEtSA, FBSA, FHxSA, FOSA), die jeweils zu nur einer definierten PFCA transformiert werden. Diese wurden in z. T. unterschiedlichen Konzentrationsniveaus der jeweiligen Matrix noch vor der Extraktion hinzugegeben, extrahiert und dem TOP-Assay zugeführt (0,1 g Probenaliquot). Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 dargestellt. Der starke Überbefund des TFA in Maiskorn ist dem hohen Hintergrundwert in der unbelasteten Probe geschuldet. Unter Berücksichtigung der Komplexität des Verfahrens und des hohen Gesamtaufwandes sind die Ergebnisse insgesamt als zufriedenstellend zu bewerten.

Tabelle 9: Wiederfindung ausgewählter Vorläuferverbindungen als PFCA (in %) in verschiedenen Matrices; verschiedene Dotierungsniveaus der Vorläufer.

Probenmatrix Dotierungsniveau (µg/kg TS)	Boden		Maiskorn (Mehl)	Maisblatt
	25	50	50	400
Transformation				
FEtSA → TFA	97	79	160	61
FBSA → PFBA	67	64	92	60
FHxSA → PFHxA	87	81	71	51
FOSA → PFOA	112	93	70	64

Analyseergebnisse der Bodenproben

Die fünf im Projekt ausgewählten Bodenproben wurden dem TOP-Assay unterzogen. Die Probe E-FO-U-GG aus Forchheim, die als unbelastet gekennzeichnet war, enthielt erwartungsgemäß vor TOP-Assay keine der Analyten. Im TOP-Assay wurden allerdings Spuren ($< 3 \mu\text{g}/\text{kg TS}$) von TFA, PFHpA und PFOA gebildet. Die Gehalte der als belastet gekennzeichneten Bodenproben vor und nach TOP-Assay sind in Abbildung 20 bis Abbildung 23 dargestellt. Die zum Teil sehr starke PFCA-Freisetzung (F-Gehalt der Proben stieg um Faktor 3 bis 5 durch den TOP-Assay (s. Tabelle 10)) zeigt die Anwesenheit signifikanter Gehalte entsprechender Vorläuferverbindungen.

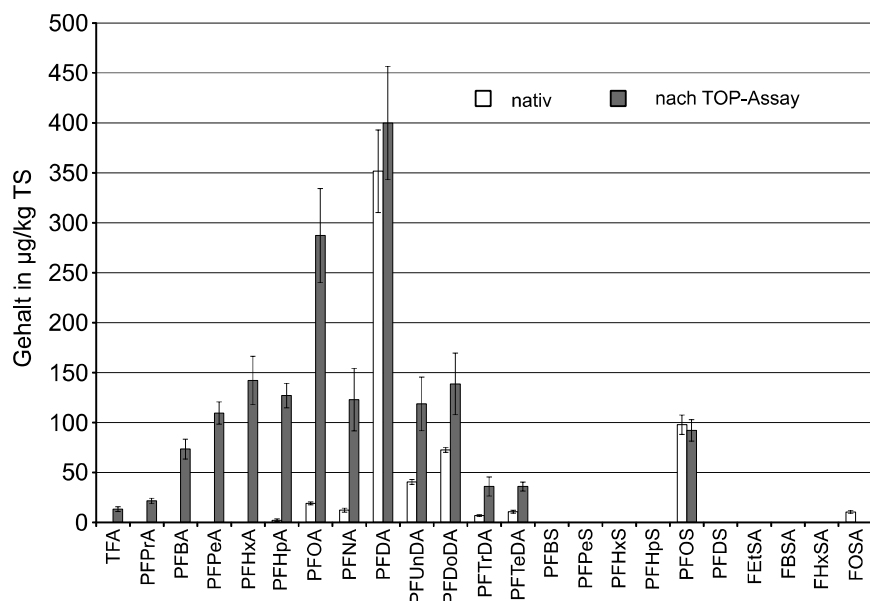


Abbildung 20: Gehalte ausgewählter PFAS vor und nach TOP-Assay in der Probe Hügelsheim, b (E-HÜ1b-B-GG).

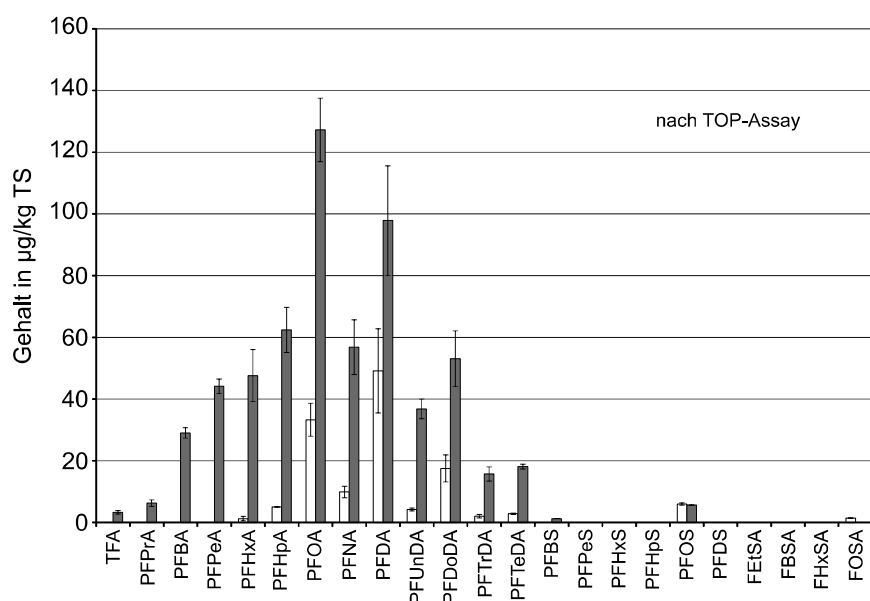


Abbildung 21: Gehalte ausgewählter PFAS vor und nach TOP-Assay in der Probe Wi-MP1, b.

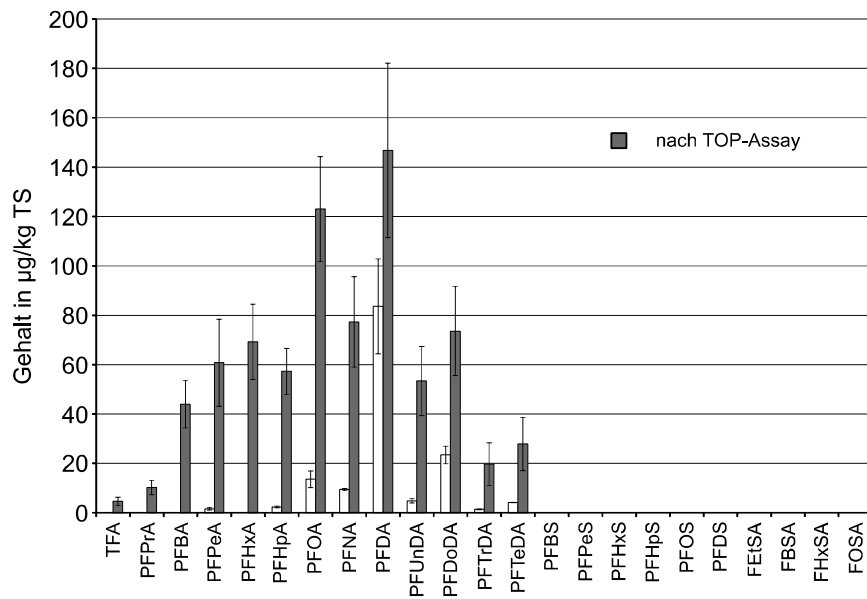


Abbildung 22: Gehalte ausgewählter PFAS vor und nach TOP-Assay in der Probe E50-6, b.

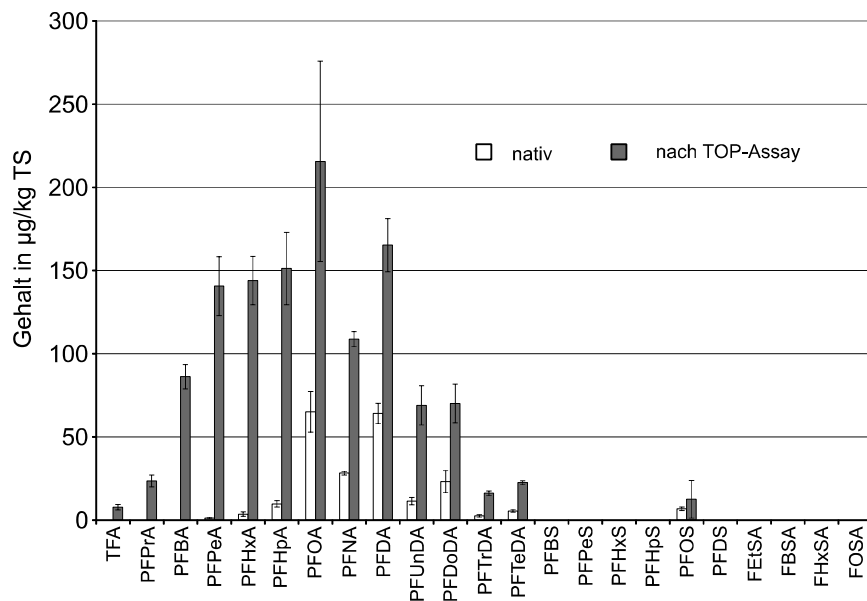


Abbildung 23: Gehalte ausgewählter PFAS vor und nach TOP-Assay in der Probe NAW, b.

Tabelle 10: F-Gehalte der Bodenproben, berechnet aus PFAA-Konzentrationen vor und nach TOP-Assay

	F-Gehalt in µg/kg TS*	
	Vor TOP-Assay	Nach TOP-Assay
Forchheim (E-FO-U-GG)	1,1	4,8
Hügelsheim (E-HÜ1b-B-GG)	430	1200
Wi-MP1, b	93	410
E50-6, b	100	530
NAW, b	160	840

*Berechnet aus Ergebnissen der Einzelstoffanalytik wie in diesem Kapitel beschrieben.

Analyseergebnisse der Pflanzenproben

In einigen Proben von unbelasteten Standorten (Mais Korn, Maisblatt und Weizen Korn) konnten keine signifikanten Konzentrationszuwächse bei der Anwendung des TOP-Assays beobachtet werden. PFCA-Gehalte von Mais- und Weizenproben eines belasteten Standortes sowie von Weidelgrasproben eines belasteten und unbelasteten Standortes vor und nach TOP-Assay sind in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: PFAA-Gehalte von Mais- und Weizenproben eines belasteten Standortes (b) sowie von Weidelgrasproben eines belasteten und unbelasteten (ub) Standortes vor (nativ) und nach TOP-Assay (TOP); Gehalte in µg/kg TS.

Analyt	Mais Korn, b		Maisblatt, b		Weizen Korn, b		Weidelgras ub		Weidelgras b	
	E-MK-B-GG		E-MB-B-OT		E-WE-B-OG		E-WG-U-GG		E-WE-B-OG	
	nativ	TOP	nativ	TOP	nativ	TOP	nativ	TOP	nativ	TOP
TFA	90	154	237	377	34	31	109	122	125	103
PFPrA	.*	-	114	65	16	5,8	10	14	12	54
PFBA	-	-	214	269	15	22	-	6	51	113
PFPeA	-	-	41	51	8,7	14	-	-	115	118
PFHxA	-	-	3,2	1,5	3,8	6,4	-	-	82	87
PFHpA	-	-	-	2,4	-	-	-	-	16	37
PFOA	-	-	1,1	2,8	-	-	-	-	9,5	20
PFNA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PFDA	-	-	1,3	2,2	-	-	-	-	-	-
PFUnDA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PFDoDA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PFTTrDA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PFTeDA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PFOS	-	-	18	21	-	-	-	-	-	-

* < BG

Die PFCA-Gehalte in Topinamburproben (Knolle) können Tabelle 12 entnommen werden. Die Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass Pflanzen prinzipiell in der Lage sind, (mobile) Vorläuferverbindungen aufzunehmen. Insgesamt sind die Konzentrationszuwächse (und damit die Gehalte möglicher Vorläufer) aber auf einem vergleichsweise niedrigen Niveau.

Tabelle 12: PFCA-Gehalte von Topinamburproben (Knolle) vor (nativ) und nach TOP-Assay (TOP); Gehalte in µg/kg TS.

Analyt	Unbelastet (gesamt)		Belastet (gesamt)		Belastet (geschält)		Belastet (Schale)	
	E-TO-U-GG		E-TO-B-GG		E-TG-B-GG		E-TS-B-GG	
	nativ	TOP	nativ	TOP	nativ	TOP	nativ	TOP
TFA	12	23	116	145	126	155	106	129
PFPrA	.*	-	19	23	22	23	36	30
PFBA	-	-	59	74	67	90	85	105
PFPeA	-	-	90	82	116	120	134	121
PFHxA	-	-	17	6,1	18	-	20	-
PFHpA	-	-	-	-	-	-	-	-
PFOA	-	-	-	-	-	-	-	-
PFNA	-	-	-	-	-	-	-	-
PFDA	-	-	-	-	-	-	-	-
PFUnDA	-	-	-	-	-	-	-	-
PFDoDA	-	-	-	-	-	-	-	-
PFTTrDA	-	-	-	-	-	-	-	-
PFTeDA	-	-	-	-	-	-	-	-
PFOS	-	-	-	-	-	-	-	-

* < BG

Tabelle 13: F-Gehalte der Pflanzenproben, berechnet aus PFAA-Konzentrationen vor und nach TOP-Assay

	Kennung	F-Gehalt in µg/kg TS*	
		Vor TOP-Assay	Nach TOP-Assay
Weizenkorn, b	E-WE-B-OG	43	46
Maiskorn, b	E-MK-B-GG	45	77
Maisblätter, b	E-MB-B-OT	360	447
Weidelgras	E-WG-U-GG	60	73
Weidelgras, b	E-WE-B-OG	247	326
Topinambur (gesamt)	E-TO-U-GG	6	12
Topinambur, b (gesamt)	E-TO-B-GG	175	189
Topinambur, b (geschält)	E-TG-B-GG	204	224
Topinambur, b (Schale)	E-TS-B-GG	227	225

4.1.3 Elektrochemische Oxidation

Mit Hilfe der elektrochemischen Oxidation sollte ein weiterer Parameter zur Ermittlung des Freisetzungspotenzials von PFCA aus polyfluorierten Präkursoren als Ergänzung zum TOP-Assay etabliert werden. Im TOP-Assay werden durch thermische Zersetzung von Peroxodisulfat Sulfatradikale und Hydroxylradikale gebildet, welche als Oxidationsmittel für die Zersetzung der Präkursoren und die Freisetzung der PFCA dienen. Nachteile des Ansatzes wie lange Prozesszeiten, starke Matrixeinflüsse sowie hohe Salzkonzentrationen in den Proben sollten durch einen alternativen elektrochemischen Ansatz vermieden werden. Dafür wurde eine elektrochemische Zelle mit einer bordotierten Diamantelektrode (BDD) als Anode und einem Volumen von 14 mL verwendet. Die BDD-Elektrode hat eine hohe chemische und mechanische Stabilität, wodurch sie selbst nicht oxidiert wird, aber eine hohe OH-Radikalbildungsrate zeigt. Als Elektrolyt wurde eine 20 mM Ammoniumformiat-Lösung verwendet, welche für Versuche mit höherem Radikalbildungspotenzial durch 20 mM Natriumsulfat-Lösung ausgetauscht wurde. Für eine möglichst optimale Ausbeute wurden die Parameter pH-Wert, Spannung, Zeit und Zugabe von Sulfatradikalen variiert. Als Modellsubstanzen dienten FOSA und 6:2/8:2 diPAP.

Aufgrund des erwarteten höheren OH-Radikalbildungspotenzials wurden die Versuche bei pH 7 und pH 9 zunächst mit der Modellsubstanz FOSA bei 100 µg/L durchgeführt. Es zeigte sich, dass bei 1,5 V der FOSA-Abbau bei pH 9 nach 20 min um 5 % und nach 60 min um 15 % höher war als bei pH 7. Auch die Transformationsprodukte PFOS, PFOA und PFHpA zeigten eine höhere Ausbeute bei pH 9, weshalb die nachfolgenden Versuche bei pH 9 durchgeführt wurden.

Beispielhaft wird an zwei elektrochemischen Abbauversuchen von 50 µg/L 6:2/8:2 diPAP das Bildungspotenzial für PFCA bei einer Spannung von 3 V und einem pH-Wert von 9 gezeigt. Im ersten Versuch EC 1 wurde mit elektrochemisch erzeugten Hydroxylradikalen über acht Stunden in 20 mM Ammoniumformiat-Lösung gearbeitet. Im zweiten Versuch EC 2 wurde mit elektrochemisch erzeugten Sulfat- und Hydroxylradikalen über einen Zeitraum von nur einer Stunde in 20 mM Natriumsulfat-Lösung gearbeitet. Die Ergebnisse sind jeweils in der Abbildung 24 und Abbildung 25 dargestellt.

Während im Versuch EC 1 nach drei Stunden mehr als 80 % des Präkursors 6:2/8:2 diPAP abgebaut wurde, zeigte sich im Versuch EC 2 durch die erhöhte Konzentration der elektrochemisch gebildeten Sulfatradikale ein beschleunigter Abbau, wobei in nur 30 Minuten mehr als 80 % des Präkursors umgesetzt wurden. Als Transformationsprodukte bildeten sich in beiden Versuchen durchweg perfluorierte Säuren, die durch Oxidation der 6:2 und 8:2 Fluortelomeralkohol (FTOH)-Seitenketten des Präkursors gebildet werden. Dementsprechend wurden in beiden Experimenten die höchsten Konzentrationen für PFOA, PFHpA und PFHxA bei ähnlichen Konzentrationsverhältnissen gefunden. Zusätzlich wurde PFPeA nachgewiesen, im Vergleich zu PFOA jedoch in Konzentrationen, die um den Faktor 50 (EC 1) bis 100 (EC 2) kleiner waren. Der elektrochemische Abbau des 6:2/8:2 diPAP zeigte somit die präferentielle Bildung der PFCA aus der perfluorierten

Kette (PFOA, PFHxA) und der um eine weitere CF_2 -Einheit verkürzten Kette (PFHpA, PFPeA) der 6:2 FTOH bzw. 8:2 FTOH. In der Massenbilanz werden von den diPAP-Präkursoren 0,006 nmol/L PFCA erwartet. In den Versuchen EC 1 und EC 2 wurden jeweils 0,01 nmol/L und 0,003 nmol/L PFCA detektiert und damit in EC 1 eine Überbestimmung und in EC 2 eine Ausbeute von etwa 50% erzielt.

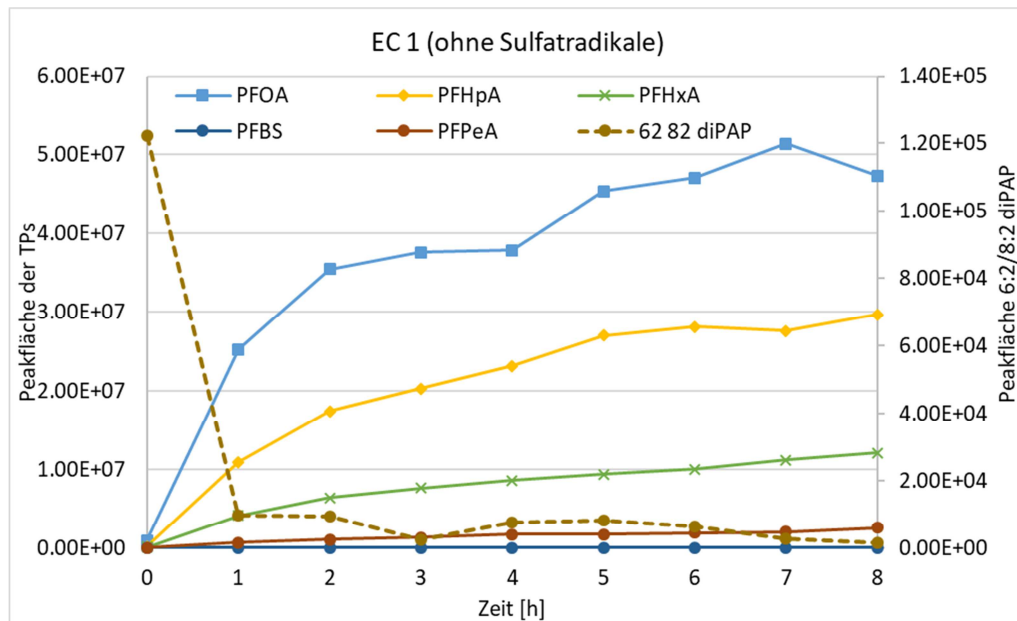


Abbildung 24: Elektrochemischer Abbau von 6:2/8:2 diPAP und Bildung von PFCA bei 3 V und pH 9 über 8 h (Versuch EC 1).

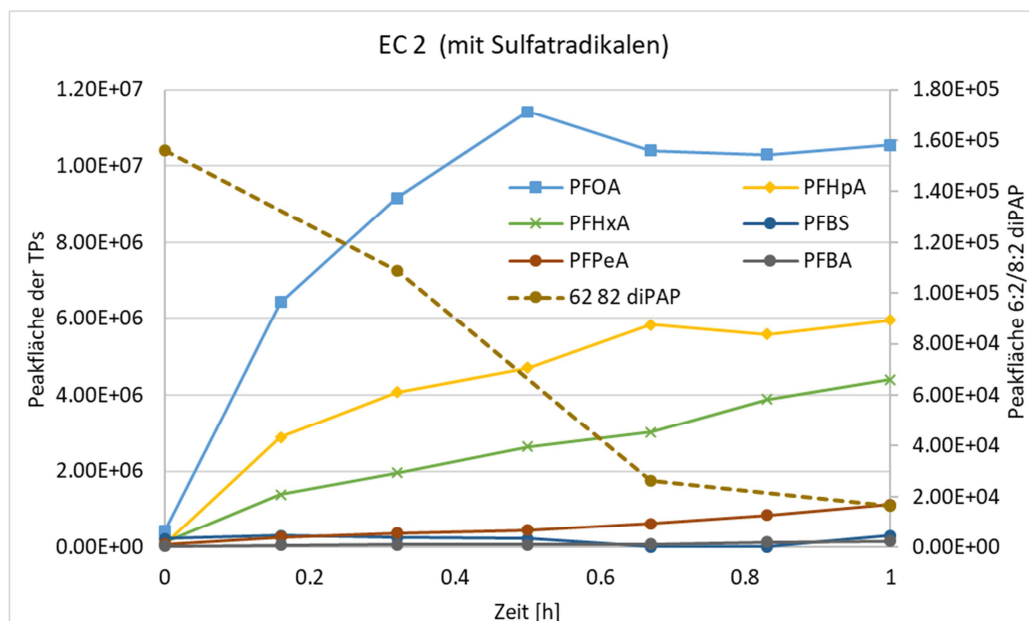


Abbildung 25: Elektrochemischer Abbau von 6:2/8:2 diPAP und Bildung von PFCA unter Zugabe von Sulfatradikalen bei 3 V und pH 9 über eine Stunde (Versuch EC 2).

Vergleicht man die Ergebnisse der beiden elektrochemischen Versuche EC 1 und EC 2, wird deutlich, dass durch die erhöhte Radikalkonzentration bei Zugabe von Sulfat sehr viel kürzere Reaktionszeiten von etwa einer Stunde bis zur Ausbildung eines Konzentrations-Plateaus für die PFCA realisiert werden können als ohne Zugabe einer Komponente zur Förderung der Radikalbildung. In EC 1 wurden dafür sieben bis acht Stunden als Reaktionszeit benötigt. Die Gesamtausbeute an PFCA ist in EC 2 aber geringer im Vergleich zum Versuch EC 1. Dies kann mit der weiteren Transformation der gebildeten PFCA in Anwesenheit höherer Radikalkonzentrationen erklärt werden.

Mit der elektrochemischen Methode wurden vor allem die primären Reaktionsprodukte gebildet, die sich zur Charakterisierung des Präkursors eignen, aber auch weitere Abbauprodukte in Abhängigkeit der verwendeten Stromdichten und der gebildeten Radikalkonzentrationen (Abbildung 26, Niu et al. 2012). Das Spektrum der gebildeten PFCA deckt sich mit dem der aeroben Bioabbauprodukte von 6:2 diPAP und 8:2 diPAP (Liu und Liu, 2016). Die Autoren detektierten PFPeA und PFHxA als Hauptabbauprodukte von 6:2 diPAP sowie PFOA für 8:2 diPAP.

Zusammenfassend verdeutlichen die Ergebnisse zunächst die prinzipielle Anwendbarkeit der elektrochemischen Oxidation an bordotierten Diamantelektroden zur Charakterisierung des Bildungspotenzials von PFCA. Eine Kombination mit der Sulfat-Radikalchemie erscheint sehr vielversprechend. Dieser Ansatz erfordert jedoch noch eine weitere Optimierung der Prozessparameter, vergleichende Untersuchungen zum TOP-Assay mit verschiedenen Präkursoren und die Analyse von Realproben.

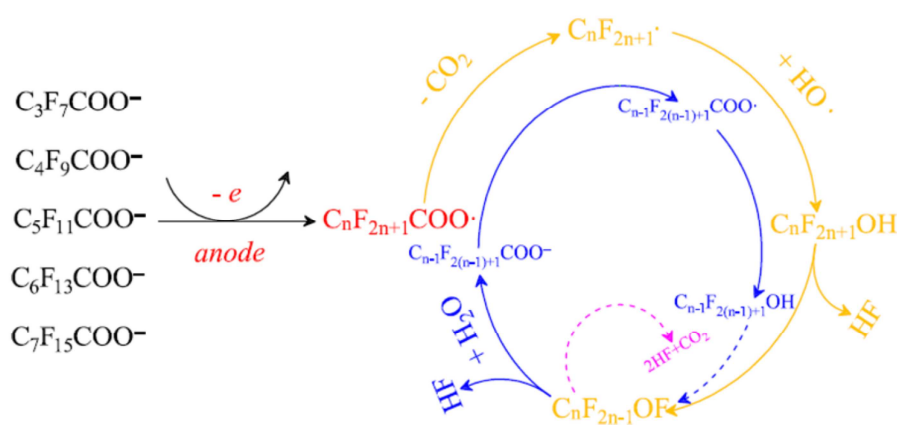


Abbildung 26: Schema für den Mechanismus des elektrochemischen Abbaus von PFCA (Abb. aus Niu et al., 2012).

4.2 Einzelstoffanalytik

4.2.1 Polyfluorierte Alkylphosphatester (PAP und diSamPAP)

Quantifizierung von PAP aus Boden (Nürnberg et al., 2018)

PAP wurden in der Vergangenheit vor allem bei der Herstellung fettdichter Papiere verwendet, die im Lebensmittelbereich eingesetzt werden (D'eon et al., 2009). Sie können als mono-, di- und trisubstituierte Polyfluoralkylphosphatester mit verschiedenen Fluoralkylkettenlängen auftreten und zu PFCA abgebaut werden (Ding et al., 2012). Perfluorooctansulfonamidoethanol-basierte Phosphatester (SAmPAP) wurden seit 1974 ebenfalls für Papiere, die für den Kontakt mit Lebensmitteln zugelassen sind, genutzt und galten in Nordamerika bis zum Auslaufen der Produktion im Jahre 2002 als Chemikalien mit hohem Produktionsvolumen (Benskin et al., 2013; Begley et al., 2008). Formulierungen bestanden meist aus 10 % mono-, 85 % di- und 5 % trisubstituierten Phosphatestern von *N*-Ethyl-Perfluorooctansulfonamidoethanol, die gemeinschaftlich als SAmPAP bezeichnet werden (Lee und Mabury, 2011 und darin aufgeführte Referenzen). SAmPAP sind seit einigen Jahren auch deshalb in den Fokus wissenschaftlicher Untersuchungen gerückt, da sie in der Umwelt über mehrere Zwischenstufen zu PFOS abgebaut werden können. PAP und SAmPAP gelangten nach dem derzeitigen Kenntnisstand wahrscheinlich durch das Aufbringen von Kompost, welcher mit Papierschlämmen vermischt ist, auf die belasteten Flächen im Raum Rastatt-Baden-Baden und im Raum Mannheim.

Ausgangspunkt der im Rahmen des hier vorgestellten Projektes durchgeführten Arbeiten waren die Ergebnisse eines Auftrages der Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg (LUBW), bei dem eine Methode für die Quantifizierung von PAP sowie SAmPAP aus Boden entwickelt wurde (Nürnberg et al., 2018). Dabei wurden insgesamt 9 Zielverbindungen betrachtet – sieben PAP (6:2, 8:2 und 10:2 monoPAP; 6:2, 8:2 und 6:2/8:2 diPAP und 6:2 triPAP) und zwei SAmPAP (monoSAmPAP und diSAmPAP). Die Zielverbindungen wurden mittels Flüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (Triple Quad 6500+ von Sciex) bei negativer Elektrospray-Ionisierung analysiert. Die chromatographische Auftrennung wird mit einer Acquity UPLC BEH C18-Säule von Waters und einem Gradientensystem aus Reinstwasser und MeOH (beide mit 0,1 % NH₄OH) erreicht.

Es wurden zwei verschiedene Extraktionsverfahren etabliert. Bei der ersten Extraktionsmethode, die sich am Protokoll zur Bestimmung des EOF orientiert, wurde eine Bodeneinwaage von 1 g eingesetzt. Der Hauptunterschied zur EOF-Methode ist, dass der methanolische Extrakt bis zur Trockene eingengt und anschließend mit 1 mL basischem MeOH (+0,1 % NH₄OH) rückgelöst wird. Die zweite Methode wurde für die Extraktion der monoPAP und von monoSAmPAP angewandt, da hier bessere, wenn auch sehr geringe Extraktionsausbeuten erzielt wurden. Dabei wurde 2,5 g Boden mit 4 mL Methyl-*tert*-butylether (MTBE) und 1 mL Essigsäure (1 M) mittels Ultraschallbad und Horizontal-schüttler extrahiert.

Die Validierung der entwickelten Methode ergab, dass für die drei monoPAP und monoSAmPAP keine quantitative Bestimmung möglich ist. Der Grund dafür ist die sehr geringe absolute Wiederfindung über das Gesamtverfahren (< 5 %), welche zu sehr hohen Bestimmungsgrenzen führte, da die Signalintensitäten im Bereich des ermittelten Blindwertes lagen.

Der Vergleich der Wiederfindungen der übrigen PAP und von diSAmPAP zeigte, dass eine vollständige Extraktion aller Substanzen erreicht wird. Allerdings führten Matrixeffekte zu einer substanzabhängigen Signalerhöhung bei der massenspektrometrischen Detektion der Analyten. Daher sollte für eine Quantifizierung in Matrix (Boden, Pflanzen) immer ein geeigneter interner Standard verwendet werden, der diese Effekte ausgleichen kann. Allerdings sind isotoopenmarkierte Verbindungen derzeit nur für 6:2 diPAP und 8:2 diPAP erhältlich. Für die anschließende orientierende Analyse von 15 Bodenproben im Rahmen des Auftrages der LUBW wurden deshalb alle anderen Substanzen mit Ausnahme von 6:2/8:2 diPAP, diSAmPAP und 6:2 triPAP (Auswertung mittels matrixangepasster Kalibrierung) nur qualitativ betrachtet. In zwölf der Proben konnten PAP und/oder diSAmPAP detektiert werden. MonoSAmPAP wurde nicht nachgewiesen. In der Hälfte dieser Proben wurde diSAmPAP detektiert und in fünf Proben wurden Gehalte an monoPAP qualitativ nachgewiesen. 6:2 diPAP wurde in den Bodenproben grundsätzlich mit deutlich niedrigeren Konzentrationen als 8:2 diPAP nachgewiesen (maximal 50 % der 8:2 diPAP-Konzentration). Die Analyse von 6:2/8:2 diPAP zeigte, dass seine Konzentration im Boden ähnlich der von 8:2 diPAP ist. Die höchste gemessene Konzentration von 8:2 diPAP betrug 1000 µg/kg TS.

Übertragung der PAP-Quantifizierungsmethode auf Pflanzenmaterial

Im EOFplus-Projekt wurde die Extraktion der diPAP und des diSAmPAP aus den verschiedenen Pflanzenmaterialien (Maisblatt, Maiskorn, Topinambur, Weidelgras und Weizenkorn) der Extraktionsmethode für Boden angeglichen. Unterschiede zum Boden bestehen darin, dass die Zentrifugationszeit verlängert und ein zweiter Zentrifugationschritt nach dem Rücklösen in basischem MeOH eingeführt wurde. Der Grund hierfür war, dass die Partikelabtrennung aufgrund der geringen Dichte des pflanzlichen Materials schwieriger als bei Boden ist. Die Betrachtung der Wiederfindungen in den fünf verschiedenen pflanzlichen Matrices zeigte für die diPAP gute Extraktionsausbeuten. In Abbildung 27 sind diese exemplarisch für 6:2 diPAP und 8:2 diPAP dargestellt.

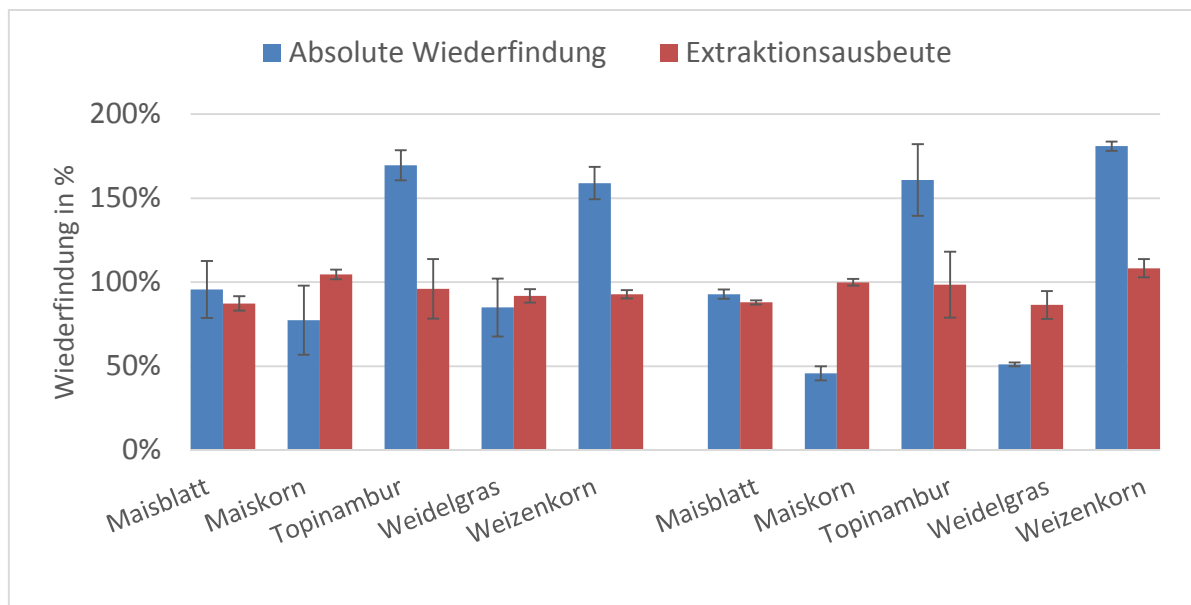


Abbildung 27: Absolute Wiederfindungen und Extraktionsausbeuten von 6:2 diPAP und 8:2 diPAP in fünf Pflanzenmaterialien (unbelastet) basierend auf einer Dreifachbestimmung dotierter Proben (Dotierniveau: 25 µg/kg).

Die Matrixeffekte und somit die Abweichung der absoluten Wiederfindung von der Extraktionsausbeute fielen dabei sehr unterschiedlich aus. Für Topinambur und Weizenkorn wurde wie für Boden eine matrixbedingte Signalverstärkung beobachtet. Dagegen erfolgte bei Maiskorn und Weidelgras, insbesondere für 8:2 diPAP, eine Signalsuppression. Bei der Matrix Maisblatt waren keine Matrixeffekte zu verzeichnen. Die Matrixeffekte bei der Detektion von 6:2/8:2 diPAP und von diSAmPAP entsprachen tendenziell dem des 8:2 diPAP.

Validierung der Quantifizierungsmethode

Aufgrund von inzwischen verbesserten Blindwerten wurde die Validierung der Methode für den Nachweis von diPAP und diSAmPAP in Boden im Rahmen dieses Projekts erneut durchgeführt, um zu prüfen, ob eine angestrebte Berichtsbestimmungsgrenze von 5 µg/kg TS auch nach DIN 32645 bestätigt werden kann (siehe Tabelle 14). Als Kalibrierproben dienten zehn Extrakte des mit PAP-Standard (1–10 µg/kg TS für diPAP und diSAmPAP) dotierten Referenzbodens LUFA 2.4. Für die Validierung der Methodik zur Anwendung auf die Matrices Maisblatt und -korn wurde ein analoger Ansatz mit unbelasteten Matrices verfolgt. Ein Chromatogramm mit den verschiedenen diPAP und mit diSAmPAP ist in Abbildung 28 für das Konzentrationsniveau 5 mg/kg nach Extraktion aus Boden sowie aus Maisblatt dargestellt.

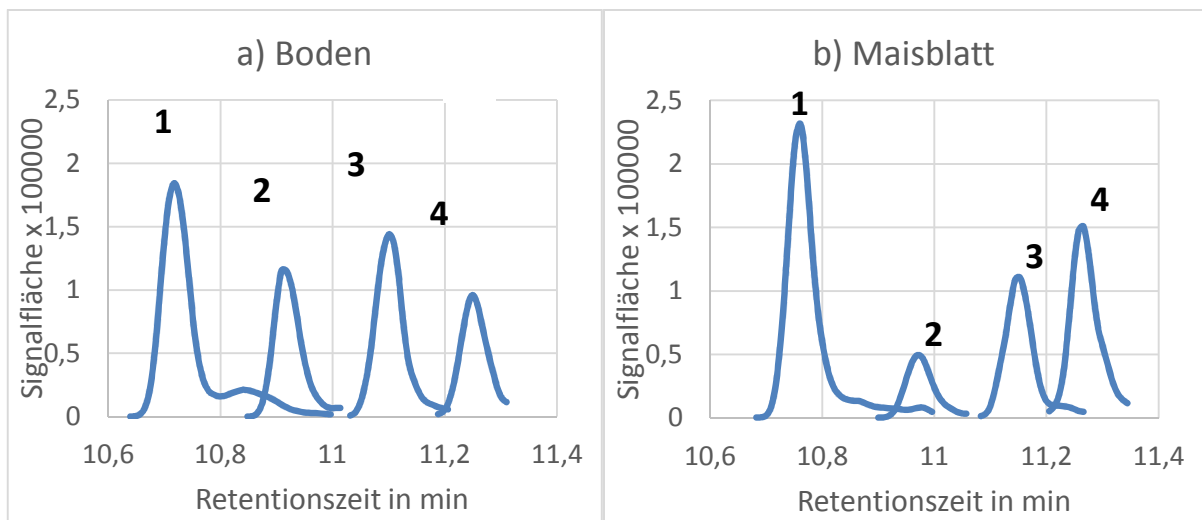


Abbildung 28: Chromatogramme eines 5 µg/kg-PAP/diSAmPAP-Multistandards nach Extraktion aus (a) Boden und (b) Maisblatt; (1) 6:2 diPAP, (2) 6:2/8:2 diPAP, (3) 8:2 diPAP und (4) diSAmPAP.

Durch die Korrektur mit internen Standards können wie im Fall der Bodenmatrix vorhandene Matrixeffekte gut kompensiert werden. In Abbildung 29 sind beispielhaft für 6:2 diPAP die Kalibriergeraden nach IS-Korrektur für die verschiedenen Matrices sowie die entsprechende Kalibriergerade aus der direkten Kalibrierung mit Bezugslösungen dargestellt. Über das Gesamtverfahren wurden nach IS-Korrektur Wiederfindungen zwischen 72 % und 133 % erhalten. Die aus den Kalibrierdaten nach DIN 32645 ermittelten Bestimmungsgrenzen lagen zwischen 1,3 µg/kg und 4,3 µg/kg TS (Tabelle 14 und Tabelle 15).

Aufgrund der Erfahrung, dass die Blindwerte von PAP aufgrund ihrer vielfältigen Verwendung zur Imprägnierung von Alltagsgegenständen zeitlich stark schwanken können, wurde für die Ergebnisangaben in diesem Projekt die Berichtsbestimmungsgrenze aller diPAP und von diSAmPAP auf 5 µg/kg TS festgelegt.

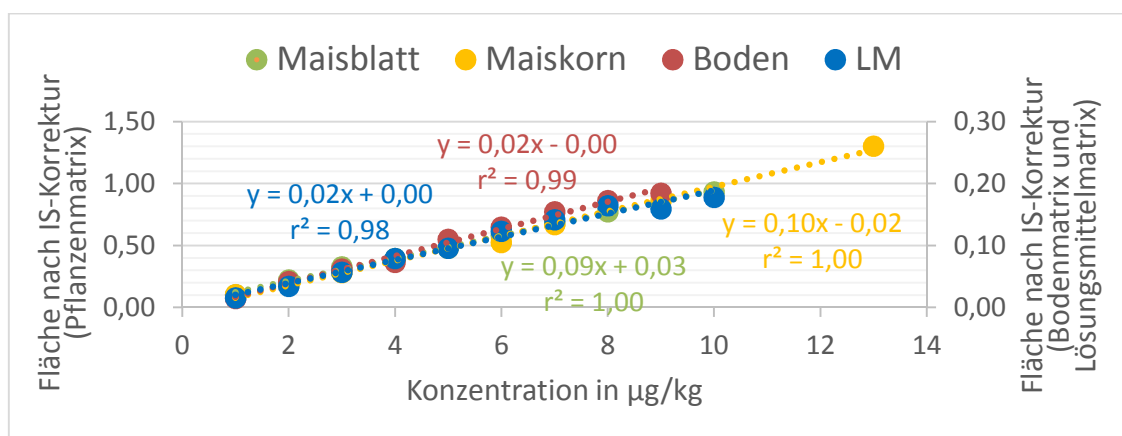


Abbildung 29: Kalibriergeraden für 6:2 diPAP nach Flächenkorrektur durch einen internen Standard für die drei zur Validierung verwendeten Matrices Boden, Maisblatt und Maiskorn sowie die dazu gehörige direkte Kalibrierung aus Bezugslösungen (MeOH + 0,1 % NH₄OH).

Tabelle 14: Verfahrenskenndaten für 6:2 diPAP und 8:2 diPAP für die drei Matrices Boden, Maisblatt und Maiskorn.

PAP	Boden		Maisblatt		Maiskorn	
	6:2 diPAP	8:2 diPAP	6:2 diPAP	8:2 diPAP	6:2 diPAP	8:2 diPAP
Massenübergang (m/z)	789/443	989/543	789/443	989/543	789/443	989/543
Interner Standard (IS)	6:2 diPAP - ¹³ C ₄	8:2 diPAP - ¹³ C ₄	6:2 diPAP - ¹³ C ₄	8:2 diPAP - ¹³ C ₄	6:2 diPAP - ¹³ C ₄	8:2 diPAP - ¹³ C ₄
Massenübergang des IS (m/z)	793/445	993/545	793/445	993/545	793/445	993/545
Linearität (r ²)	0,9957	0,9940	0,9987	0,9892	0,9979	0,9920
Bestimmungsgrenze nach DIN 32645	2,1	2,7	1,3	3,5	2,2	4,3
Berichtsbestimmungsgrenze	5	5	5	5	5	5
Wiederfindungen in % (aus Steigungen der Kalibriergeraden)						
absolut	150 %	175 %	119 %	99 %	94 %	72 %
relativ (IS-korrigiert)	117 %	113 %	89 %	89 %	97 %	93%

Tabelle 15: Verfahrenskenndaten für 6:2/8:2 diPAP und diSAmPAP für die drei Matrices Boden, Maisblatt und Maiskorn.

PAP	Boden		Maisblatt		Maiskorn	
	6:2/8:2 diPAP	diSAmPAP	6:2/8:2 diPAP	diSAmPAP	6:2/8:2 diPAP	diSAmPAP
Massenübergang (m/z)	889/543	650/526	889/543	650/526	889/543	650/526
Interner Standard (IS)	6:2 diPAP - ¹³ C ₄	10:2 diPAP - D ₄	6:2 diPAP - ¹³ C ₄	10:2 diPAP - D ₄	6:2 diPAP - ¹³ C ₄	10:2 diPAP - D ₄
Massenübergang des IS (m/z)	793/445	1193/645	793/445	1193/645	793/445	1193/645
Linearität (r ²)	0,9861	0,9781	0,9977	0,9870	0,9978	0,9984
Bestimmungsgrenze nach DIN 32645	4,0	5,0	1,8	3,9	2,3	1,9
Berichtsbestimmungsgrenze	5	5	5	5	5	5
Wiederfindungen in % (aus Steigungen der Kalibriergeraden)						
absolut	150 %	175 %	119 %	99 %	94 %	72 %
relativ (IS-korrigiert)		133 %		72 %		80%

PAP-Gehalte in Umweltproben

Eine Übersicht der gefundenen PAP-Gehalte in den fünf untersuchten Bodenproben zeigt Tabelle 16. Die drei diPAP und das diSAmPAP können in den als belastet gekennzeichneten Bodenproben detektiert werden. Die als unbelastet klassifizierte Probe aus Forchheim zeigte auch hinsichtlich der hier analysierten PAP keine Belastung. Insgesamt sind die 6:2 diPAP-Gehalte geringer als die des 8:2 diPAP und bestätigten somit die Ergebnisse bisheriger Untersuchungen in den Gebieten Rastatt/Baden-Baden und Mannheim. Die Gehalte von 6:2/8:2 diPAP lagen in der Größenordnung des 8:2 diPAP-Gehaltes. Eine Korrelation zwischen den Gehalten der diPAP und des diSAmPAP war nicht erkennbar.

In allen untersuchten Pflanzenmaterialien lagen die Gehalte der drei untersuchten diPAP und des diSAmPAP unterhalb der Berichtsbestimmungsgrenze von 5 µg/kg TS. Die Aufnahme von PAP und/oder diSAmPAP in Pflanzen, die auf belastetem Boden angebaut wurden, war bisher kaum Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen. In einer Studie (Lee et al., 2014) wurde u. a. die Aufnahme von diPAP in Schneckenklee (*M. truncatula*) und Kürbis (*C. maxima*) aus belastetem Boden betrachtet und im Gegensatz zu den im hier vorgestellten Projekt untersuchten Pflanzenarten wurde ein Transfer beobachtet (bis 30 µg/kg FG in Schneckenklee bzw. bis 8 µg/kg FG in der Kürbiswurzel). Möglicherweise ist der Transfer sehr artspezifisch oder die Zeit zwischen Kontamination des Bodens und des Anbaus der Pflanzen ist relevant hinsichtlich der Pflanzenverfügbarkeit von diPAP in Bodenmatrix (~10 Jahre im vorgestellten Projekt vs. <1 Jahr in der zitierten Studie).

Tabelle 16: Übersicht der diPAP- und diSAmPAP-Ergebnisse für die fünf Boden-Proben (µg/kg TS).

Probebezeichnung	6:2 diPAP	8:2 diPAP	6:2/8:2 diPAP	diSAmPAP
Forchheim (unbelastet) E-FO-U-GG	<BG	<BG	<BG	<BG
Hügelsheim (belastet) E-HÜ1b-B-GG	41	160	170	230
Wi-MP1	18	76	68	11
E50-6	13	100	69	<BG
NAW	<BG	26	23	11

4.2.2 Trifluoracetat (TFA)

Kenntnisstand

Verglichen mit anderen per- und polyfluorierten organischen Substanzen existieren für TFA, das perfluorierte Carboxylat mit der kürzest möglichen Kettenlänge, nur wenige publizierte Extraktionsmethoden für Böden und biologische Proben. Das Verfahren von Cahill et al. (1999) umfasst eine TFA-Extraktion aus Boden- und Pflanzenmatrices mit Schwefelsäure, gefolgt von einer Derivatisierung von TFA zu dessen Methylester und anschließender Messung mittels Headspace-Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung (GC-MS). Im Rahmen einer Dissertation aus dem Jahr 2002 zur Analyse verschiedener Umweltkompartimente wurden TFA und weitere Halogenacetate nach Flüssig/Flüssig-Extraktion zu Pentafluorphenylestern derivatisiert und mit GC-MS bestimmt. Für Bodenmatrices wurde dabei zusätzlich nach Aufschluss und basischer Extraktion des Bodens eine Abfolge pH-abhängiger Flüssig/Flüssig-Verteilungen als Probenaufreinigungsschritte vorgeschaltet (Christoph, 2002). Die von den EU-Referenzlaboren (EURL) für Pestizidrückstände angewandte Methode zur Extraktion von Di- und Trifluoracetat aus Pflanzenmatrices basiert dagegen auf einer ameisensauren wässrig-methanolischen Extraktion, gefolgt von einem Aufreinigungsschritt mit Hilfe eines C18-Sorbens und anschließender Analyse des Extrakts mittels Flüssigchromatographie mit Tandem-Massenspektrometrie-Kopplung (LC-MS/MS) (Anastassiades et al., 2017).

Aufgrund des geringen pK_S -Wertes von $<0,25$ (Solomon et al., 2016) liegt Trifluoressigsäure in der aquatischen Umwelt praktisch ausschließlich in Form des Anions Trifluoracetat vor und ist daher äußerst mobil. TFA ist sowohl in Wasser als auch in vielen polaren organischen Lösungsmitteln (MeOH, ACN) gut löslich. Aufgrund dieser Stoffeigenschaften ist von einer effizienten TFA-Extraktion aus Böden und Pflanzenmatrices mittels wässriger und polarer organischer Eluenten auszugehen.

Voraussetzung für die im Rahmen dieses Forschungsprojektes entwickelte Methode war die Erzeugung eines Extraktes, welcher mit der am TZW bestehenden TFA-Analytik mittels Ionenaustauschchromatographie mit Tandem-Massenspektrometrie-Kopplung (IC-MS/MS) analysierbar ist. Diese bietet die Möglichkeit, Lösungsmittlextrakte ohne Einbußen bei der chromatographischen Trennleistung direkt zu injizieren.

Probenvorbereitung und Quantifizierung

a) Schwefelsäureaufschluss

Im Bodenwasser enthaltenes TFA kann von Pflanzen mit dem Transpirationsstrom über die Wurzeln aufgenommen werden (Rollins et al., 1989; Likens et al., 1997). Die Transpiration könnte dabei zu einer Akkumulation von TFA in der Pflanze führen (Boutonnet et al., 1999). Da bereits der Einbau von TFA in Biomoleküle von Wasserpflanzen gezeigt werden konnte (Standley und Bott, 1998) und zudem Hinweise auf eine Sorption von TFA an organischer Substanz von Böden existieren (Richey et al., 1997), ist es denkbar, dass

durch ein einfaches Ausschütteln des Bodens mit wässrigen oder organischen Eluenten nicht sämtliches in der Pflanzenmatrix vorhandenes TFA extrahiert werden kann. Aus diesem Grund wurde ein Schwefelsäureaufschluss auf die zu untersuchenden Matrices angewandt. Basierend auf der zuvor beschriebenen Methode von Cahill et al. (1999) wurden dazu 0,5 g Boden bzw. 0,05 g Pflanzenmaterial in 22-mL GC-Headspace Vials zusammen mit 0,4 g Natriumsulfat eingewogen und mit einer definierten Menge an internem Standard (IS) versetzt. Nach Zugabe von 3 mL Schwefelsäure (9 M) wurde das Vial luftdicht verschlossen und für 24 h auf einem Horizontalschüttler gemischt. Daraufhin wurde der Extrakt mit 3 mL Natronlauge (18 M) neutralisiert, wobei die Zugabe durch das Septum des Vials erfolgte, um einen Verlust an protoniertem und sich in der Gasphase befindlichen TFA zu vermeiden. Anschließend wurde der Extrakt in ein 15-mL-Kunststoffzentrifugenröhrchen überführt und für 15 min bei 4000 g zentrifugiert. Ein 1-mL-Aliquot des Überstandes wurde in ein 10-mL-Abdampfröhrchen gegeben, in einem Rotations-Vakuum-Konzentrator zur Trockene eingengt und der Rückstand schließlich in 1 mL ACN aufgenommen. Die Quantifizierung des TFA-Gehaltes des Extraktes erfolgte nach zweifacher Verdünnung mit ACN mittels IC-MS/MS. Weiterführende Informationen zu der analytischen Messmethode sind in Scheurer et al. (2017) zu finden.

b) Wässrig-methanolische Extraktion

Da das von den EURL angewandte Verfahren eine ameisensaure wässrig-methanolische Extraktion darstellt, welche bereits zur TFA-Analyse unterschiedlichster Pflanzenmatrices erfolgreich Anwendung fand (EURL-SRM, 2017), wurde dieses als Grundlage für die Entwicklung einer Extraktionsmethode herangezogen. Dazu wurden 1 g gefriergetrockneter Boden bzw. Pflanzenmaterial in 15-mL-Zentrifugenröhrchen aus PP eingewogen, mit einer definierten Menge an internem Standard dotiert und mit jeweils 2 mL MeOH (+1 % Ameisensäure) sowie Reinstwasser versetzt. Aufgrund des ausgeprägten Quellverhaltens der untersuchten Pflanzenblätter, wurde für diese das Volumen von MeOH und Reinstwasser auf jeweils 3 mL erhöht. Im Anschluss wurde die Suspension für 15 min im Ultraschallbad behandelt und für weitere 15 min im Horizontalschüttler gemischt. Nach Zentrifugation (15 min; 4000 g) wurde der gesamte Überstand in ein leeres Zentrifugenröhrchen aus PP überführt. Dieses Vorgehen wurde zur Optimierung der Extraktionsausbeute zwei Mal wiederholt. Für Böden wurden 2 g gefriergetrocknete Probe zusammen mit 1,6 g Natriumsulfat in PP-Zentrifugenröhrchen eingewogen, mit einer definierten Menge an IS dotiert und mit 4 mL MeOH versetzt. Analog zur Behandlung der Pflanzenproben wurde die Suspension für jeweils 15 min im Ultraschallbad behandelt, im Horizontalschüttler gemischt, zentrifugiert (4000 g) und schließlich der gesamte Überstand in ein leeres 10-mL-Abdampfröhrchen aus Glas überführt. Dieses Vorgehen wurde zur Optimierung der Extraktionsausbeute für Böden einmal wiederholt. Die vereinten Extrakte wurden daraufhin im Stickstoffstrom zur Trockene eingengt und in 1 mL ACN aufgenommen. Leerproben wurden analog zu den Umweltproben analysiert, um auf den TFA-Blindwert des Gesamt-

verfahrens schließen zu können. Die Quantifizierung der TFA-Gehalte in den Eluaten erfolgte schließlich erneut mittels IC-MS/MS.

Ergebnisse und Diskussion

a) Schwefelsäureaufschluss

Die Messung von TFA mittels IC-MS/MS erfordert eine Modifikation der von Cahill et al. (1999) beschriebenen Methode. Da die Derivatisierung von TFA zu dessen Methylester nicht notwendig ist, erfolgte nach dem Schwefelsäureaufschluss lediglich eine Neutralisation des Extraktes. Der Säureaufschluss führt jedoch zu einem sehr komplexen und matrixbeladenen Extrakt, welcher ohne weitere Probenaufbereitung nicht der instrumentellen Analytik zugeführt werden kann (Abbildung A4).

Um dieser Problematik zu begegnen, wurde ein Aliquot des Extraktes mittels Rotations-Vakuum-Konzentrator eingedampft und ein Lösungsmittelwechsel von Wasser auf ACN durchgeführt. Da die Löslichkeit vieler anorganischer Salze in Acetonitril deutlich geringer ist als in Wasser, kann damit eine Aufreinigung des Extraktes erreicht werden. Trotz dieser Maßnahme zeichneten sich in der analytischen Messung mittels IC-MS/MS noch starke Matrixeffekte ab, welche keine quantitative Auswertung der Extrakte zuließen. Daher wurde von einem Säureaufschluss abgesehen und der weitere Fokus auf die Entwicklung einer wässrig-methanolischen Extraktionsmethode gelegt.

b) Wässrig-methanolische Extraktion

Abbildung A5 zeigt beispielhaft diverse Pflanzenteile von Tobinambur nach einfacher ameisensaurer, wässrig-methanolischer Extraktion und anschließender Zentrifugation. Die Extrakte weisen eine deutliche Trübung und Färbung auf.

Die Injektion unverdünnter Eluate führte für sämtliche Pflanzenmatrices zu starken Matrixeffekten bei der Massenspektrometrie (Signalerhöhung). Um Matrixeffekten entgegenzuwirken und um einer übermäßigen Verschmutzung des Messsystems vorzubeugen, wurden die Eluate aller untersuchten Pflanzenmatrices vor der Messung fünffach mit Reinstwasser verdünnt. Die mit diesem Verfahren untersuchten Pflanzenmatrices wiesen TFA-Konzentrationen im zwei- bis dreistelligen $\mu\text{g/L}$ -Bereich auf. Für einige Matrices ist zudem eine deutlich verbesserte Extraktionsausbeute bei Anwendung einer dreifachen Extraktion gegenüber einer zweifachen Extraktion zu erkennen. Die Konzentrationen der Duplikate einer jeweiligen Matrix liegen mit Ausnahme des Maisblattes stets sehr dicht beieinander (relative prozentuale Differenz: 0 %-24 %; Tabelle 17). Eine allgemein schlechte Reproduzierbarkeit des Messergebnisses für das Maisblatt bestätigte sich jedoch in einem Folgeversuch mit mehreren Wiederholungen nicht. Hier lag der Variationskoeffizient bei sieben Anreicherungen derselben Matrix unter 1 %.

Die TFA-Konzentrationen der untersuchten Bodeneluat lagen dagegen im Bereich der Nachweisgrenze von 50 ng/L. Da in diesem Bereich keine sichere Quantifizierung möglich ist, wurde die Einwaage für die Bodenmatrices verdoppelt (2 g). Um den Extrakt leichter einengen zu können, wurde für Böden eine rein methanolische (+0,5 % Ameisensäure) Extraktion durchführt. Dazu wurde das bei dem ersten Extraktionsschritt anfallende Extrakt (ca. 4 mL) in ein 10-mL Glasvial überführt und im Stickstoffstrom auf ein Volumen von ca. 1 mL eingengt. Nach Hinzugabe des Extraktes aus dem zweiten Extraktionsschritt wurde das Extrakt zur Trockene eingengt und anschließend in 1 mL ACN aufgenommen. Die mit diesem Verfahren untersuchten Böden zeigten mit 3%-11 % jedoch eine sehr geringe Wiederfindung des internen Standards, wobei die Anwendung eines dritten Extraktionsschrittes im Falle der Böden zu keiner erhöhten Extraktionsausbeute führte. Auf mögliche Ursachen der geringen Wiederfindungen des internen Standards soll im Nachfolgenden eingegangen werden.

Tabelle 17: TFA-Gehalte (in µg/kg) in den untersuchten Pflanzenproben für PFAS-belastete und -unbelastete Standorte; für Topinambur, geschält und Topinamburschale waren nur belastete Proben verfügbar.

Probenmatrix	Unbelastete Proben			PFAS-belastete Probe		
	Kennung	2-fache Extraktion	3-fache Extraktion	Kennung	2-fache Extraktion	3-fache Extraktion
Weizenkorn, 1	E-WE-U-OG	160	160	E-WE-B-OG	30	36
Weizenkorn, 2		160	160		34	39
Maiskorn, 1	E-MK-U-GG	61	55	E-MK-B-GG	97	100
Maiskorn, 2		61	52		98	100
Maisblatt, 1	E-MB-U-OT	390	500	E-MB-B-OT	250	290
Maisblatt, 2		450	460		250	270
Topinambur, 1	E-TO-U-GG	26	27	E-TO-B-GG	190	210
Topinambur, 2		25	26		190	200
Weidelgras, 1	E-WG-U-GG	94	160	E-WG-B-GG	100	110
Weidelgras, 2		93	190		98	140
Tobinambur gesch., 1	-	-	-	E-TG-B-GG	210	220
Topinambur, gesch., 2		-	-		210	220
Topinamburschale, 1	-	-	-	E-TS-B-GG	120	120
Topinamburschale, 2		-	-		120	120

Sorption von TFA an Bodenpartikeln: Wie bereits erwähnt, gilt TFA aufgrund seiner physikochemischen Stoffeigenschaften als sehr mobil in der terrestrischen und aquatischen Umwelt. Richey et al. (1997) konnten jedoch für Böden, die einen hohen Gehalt an organischem Kohlenstoff aufwiesen, einen verstärkten Rückhalt von TFA beobachten. Ein abnehmender pH-Wert bedingte dabei eine erhöhte TFA-Retention, was auf die Protonierung von Bodenoberflächen zurückzuführen ist. Gleichzeitig nahm bei zunehmenden

Gehalten an Fluorid, Chlorid und Sulfat die Retention ab, da diese möglicherweise mit TFA um freie Sorptionsstellen konkurrieren. Berger und Likens (1999) konnten ebenfalls einen temporären Rückhalt von TFA in einem Boden eines Laubholzstandortes feststellen, wobei Anionenaustausch als verantwortlicher Retentionsmechanismus angenommen wurde. Basierend auf diesen Beobachtungen wurde der Effekt der Anwesenheit von Natriumsulfat während der Extraktion überprüft. Natriumsulfat wurde bereits in der Arbeit von Cahill et al. (1999) angewandt, um die Verdrängung von eventuell sorbiertem TFA bei der Extraktion von Pflanzen zu unterstützen. Zudem wurde auf die Zugabe von Ameisensäure verzichtet, da diese in weiteren Versuchen keinen Einfluss auf die Wiederfindung zu haben schien. Tatsächlich zeigen die in

Tabelle 18 dargestellten Ergebnisse bei Zugabe von 1,6 g Natriumsulfat im Durchschnitt eine Verachtfachung der Wiederfindung des zu Beginn der Extraktion hinzugegebenen internen Standards. Analog dazu führte das Vorhandensein von Natriumsulfat in der Probe auch zu einem deutlichen Anstieg des Messsignals des nativen TFA. Vergleicht man die mittels interner Kalibrierung ermittelten TFA-Konzentrationen, so liegen diese mit Natriumsulfat tendenziell auf einem leicht höheren Niveau gegenüber der Extraktion ohne Natriumsulfat.

Tabelle 18. Einfluss von Natriumsulfat auf die Wiederfindung des internen Standards (IS) von TFA bei der methanolischen Extraktion unterschiedlicher Böden.

Einwaage	2 g		2 g	
	3×4 mL		3×4 mL	
Elutionsvolumen	MeOH + 0,5% Ameisensäure		MeOH	
Elutionsmittel	-		1,6 g	
Na ₂ SO ₄	Konzentration µg/kg	IS-Wiederfindung %	Konzentration µg/kg	IS-Wiederfindung %
Forchheim (E-FO-U-GG)	1,07	7	1,12	43
Hügelsheim (E-HÜ1b-B-GG)	0,67	3	0,60	40
Wi-MP1	0,33	11	0,39	43
NAW	0,51	8	0,67	75
E50-6	0,12	7	0,28	78

In einem Folgeversuch wurde der Effekt unterschiedlicher Einwaagen von Natriumsulfat auf die TFA-Wiedererhalte untersucht. Abbildung 30 zeigt die Peakflächen des nativen

TFA und des internen Standards nach Extraktion desselben Bodens, jedoch mit unterschiedlichen Einwaagen von Natriumsulfat.

Eine Einwaage von 0,8 g lieferte das größte Messsignal. Für größere Einwaagen (1,6 g und 3,2 g) liegen die Messsignale, vermutlich aufgrund von Matrixeffekten, auf einem etwas geringeren Niveau. Des Weiteren verdeutlicht der Versuch ein weitgehend analoges Verhalten der Messsignale des nativen TFA und dessen internen Standards.

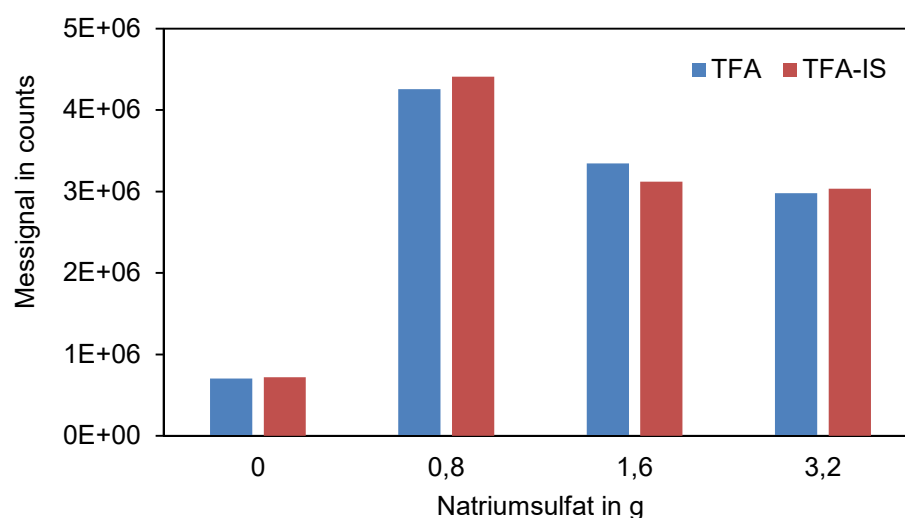


Abbildung 30: Messsignal des nativen TFA und dessen internen Standards nach Extraktion desselben Bodens für unterschiedliche Einwaagen von Natriumsulfat.

Esterbildung: Durch Umstellen der Extraktion auf reines MeOH wird ein rasches Einengen des Eluates ermöglicht. Die damit erzielte Probenanreicherung ist aufgrund der geringen TFA-Belastungen der untersuchten Böden für eine Quantifizierung notwendig. Die Anwesenheit von MeOH birgt jedoch das Risiko der Esterbildung (Reaktion von Carbonsäuren mit Alkoholen). Da der Methyl ester von TFA äußerst flüchtig ist, könnte dieser beim Einengen des Eluates verloren gehen. Um diese Annahme zu überprüfen, wurden mit der gleichen Konzentration an TFA und internem Standard versetzte Lösungen von MeOH und ACN im Stickstoffstrom zur Trockene eingengt und in jeweils 1 mL ACN aufgenommen. Da keine Esterbildung im ACN erfolgt, kann anhand des Vergleiches der gemessenen Messsignale direkt auf den durch MeOH induzierten Verlust geschlossen werden (Abbildung 31).

Der Versuch zeigt, dass ca. ein Viertel der dotierten Menge an TFA während des Abdampfens verloren geht, wenn dieses in MeOH anstatt in ACN vorliegt. Dieses Ergebnis deutet tatsächlich auf eine Esterbildung und damit einen Verlust von TFA während des Abdampfens hin.

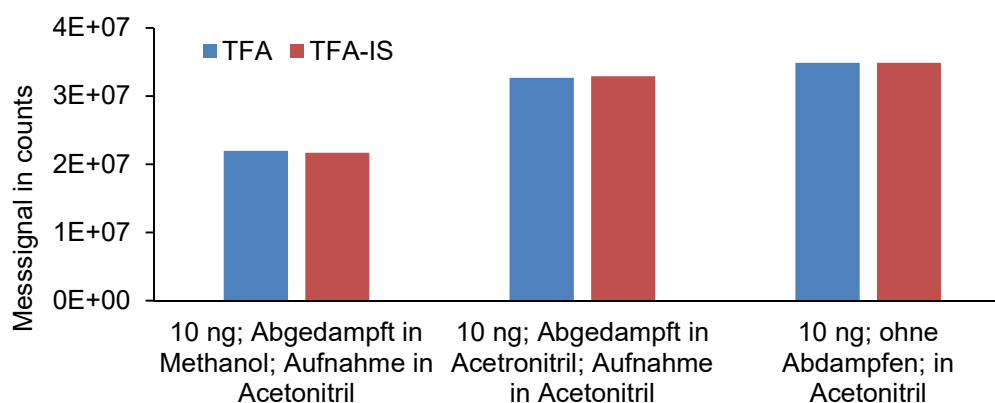


Abbildung 31: Messsignale von TFA und internem Standard nach Abdampfen von identisch dotierten TFA-Lösungen (10 ng absolut) in MeOH und ACN und Wiederaufnahme des Trockenrückstandes in ACN.

Schließlich wurde geprüft, ob ACN anstelle von MeOH zur Extraktion von Böden eingesetzt werden kann, da dabei von keinem Verlust an TFA während des Abdampfens auszugehen ist. Im direkten Vergleich mit MeOH lieferte jedoch die Extraktion mit ACN (unter Anwesenheit von jeweils 1,6 g Natriumsulfat) insgesamt deutlich schlechtere Wiederfindungen (ca. 5% der dotierten Menge an internem Standard). ACN ist damit vermutlich gegenüber MeOH weniger effizient bei der TFA-Extraktion aus Böden. Eine weitere Option, die Esterbildung zu unterbinden, stellt die methanolisch-wässrige Extraktion dar, wobei das Eluat mit Hilfe eines Rotations-Vakuum-Konzentrators zur Trockene eingengt wird. Dieser erlaubt es auch wässrige Eluate in vergleichsweise kurzer Zeit einzuengen. Der damit angereicherte Extrakt zeigte jedoch massive Matrixeffekte im Massenspektrometer, möglicherweise infolge einer verstärkten Extraktion und Anreicherung störender Probenbestandteile, und konnte nicht zur Quantifizierung herangezogen werden. Aufgrund dieser Erkenntnisse wurden Böden ausschließlich mit MeOH und unter Anwesenheit von 1,6 g Natriumsulfat extrahiert, da damit zufriedenstellende Wiederfindungen erreicht werden konnten. In allen Versuchen zeigten der interne Standard und das native TFA ein sehr ähnliches Verhalten. Der interne Standard ist demnach in der Lage, das Verhalten des nativen TFA während der Extraktion ausreichend abzubilden und erlaubt damit eine sichere Quantifizierung von TFA, selbst bei Verlusten während der Probenvorbereitung.

Zur Validierung der Extraktionsmethoden für Pflanzen und Böden wurden gering TFA-belastete Matrices (Mais Korn, Weidelgras, Boden „E50-6“) ausgewählt. Die Ableitung der Bestimmungsgrenze erfolgte anhand der in der DIN 32645 beschriebenen Kalibriergeradenmethode, indem jede der drei Matrices in 7-facher Ausführung mit der jeweiligen Methode analysiert wurde. Die Richtigkeit der Methode wurde durch Analyse einer mit einer bekannten Menge an TFA versetzten Probe ermittelt (prozentuale Wiederfindung).

Für Maiskorn liegt der Variationskoeffizient der ermittelten TFA-Konzentrationen mit 1 % in einem sehr guten Bereich. Die abgeleitete Bestimmungsgrenze von TFA für nicht-blättrige Matrices beträgt 4 µg/kg, bei einer Wiederfindung von 99 %. Für das Weidelgras wird ein Variationskoeffizient von 4 % erreicht. Die Bestimmungsgrenze von TFA für blättrige Matrices beträgt 32 µg/kg, bei einer Wiederfindung von 95 %. Mit 6 % ist der Variationskoeffizient für Böden ebenfalls niedrig. Die abgeleitete Bestimmungsgrenze von TFA für Böden beträgt 0,2 µg/kg, bei einer Wiederfindung von 95 %.

TFA-Konzentrationen ausgewählter Umweltproben

In Tabelle 19 sind die TFA-Konzentrationen der mit den finalen Methoden untersuchten Pflanzen- und Bodenproben aufgeführt.

Tabelle 19: TFA-Konzentrationen in µg/kg untersuchter Pflanzen- und Bodenproben; b = PFAS-belasteter Standort.

Pflanzenproben	Kennung	Konzentration	Bodenproben	Kennung	Konzentration
Weizenkorn	E-WE-U-OG	160	Forchheim	E-FO-U-GG	1,1
Weizenkorn, b	E-WE-B-OG	38	Hügelsheim, b	E-HÜ1b-B-GG	0,6
Maiskorn	E-MK-U-GG	54	Wi-MP1, b		0,4
Maiskorn, b	E-MK-B-GG	100	E50-6, b		0,3
Maisblätter	E-MB-U-OT	480	NAW, b		0,7
Maisblätter, b	E-MB-B-OT	280			
Weidelgras	E-WG-U-GG	180			
Weidelgras, b	E-WG-B-GG	130			
Topinambur	E-TO-U-GG	27			
Topinambur, b	E-TO-B-GG	210			
Topinamburschale, b	E-TS-B-GG	120			
Topinambur, geschält, b	E-TG-B-GG	220			

Zur Plausibilisierung der TFA-Gehalte in pflanzlichen Matrices wurden in der Fachliteratur genannte Transpirationskoeffizienten (TK) herangezogen. Der TK stellt in der Pflanzenproduktion eine wichtige Beurteilungsgrundlage für die Wasserausnutzung dar und beschreibt das Verhältnis zwischen dem Wasserverbrauch während der Wachstumsperiode und der erzielten Menge an erntbarer Biomasse. Publierte TK unterscheiden sich zum Teil deutlich und müssen immer in Zusammenhang mit den jeweiligen Versuchsbedingungen betrachtet werden (Mueller et al., 2005). So weisen Experimente, die unter Nährstoffmangel oder mit Sorten mit geringerem Ertragspotential durchgeführt wurden, eine ungünstige Wasserausnutzung also einen vergleichsweise hohen TK auf.

In einem Bericht der Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft werden für Winterweizen TK zwischen 330 und 373 kg H₂O/kg TS, für Welsches Weidelgras 360 kg H₂O/kg TS und für Silomais 191 kg H₂O/kg TS genannt (Roth et al., 2005). Legt man eine Grundbelastung von 0,5 µg/L TFA im Niederschlag bzw. im Bewässerungswasser zugrunde, ergeben sich bei vollständiger TFA-Aufnahme und Verbleib in der Pflanze TFA-Gehalte zw. 100 µg/kg und 190 µg/kg. Vor dem Hintergrund der oben erwähnten Unsicherheiten und der Tatsache, dass auch die TFA-Grundbelastung im Wasser regional unterschiedlich sein kann, liegen die tatsächlich nachgewiesenen TFA-Konzentrationen in den untersuchten Pflanzenmatrices in einem erwarteten Bereich. Ferner bewegen sich die Messergebnisse in derselben Größenordnung wie die von Cahill et al. (1999) ermittelten TFA-Konzentrationen diverser Pflanzenmatrices (Gelbe Gauklerblume: 252 µg/kg; Reis: 126 µg/kg; Gemeines Bürstengras: 105 µg/kg) sowie wie die in EURL-SRM (2017) publizierten Werte. Insgesamt sind die ermittelten TFA-Gehalte plausibel. Die TFA-Gehalte stehen offensichtlich in keinem Zusammenhang mit der Einstufung der Standorte hinsichtlich einer PFAS-Belastung. Dies ist ein starker Hinweis darauf, dass das nachgewiesene TFA offensichtlich größtenteils aus anderen Quellen wie beispielsweise dem (lokalen) Abbau von Pflanzenschutzmitteln oder dem atmosphärischen Eintrag stammt.

4.2.3 Abbauprodukte von FTOH- und FOSE-basierten Produkten

Von den 25 vorgeschlagenen Zielanalyten (Tabelle A1), die potentielle Transformationsprodukte von FTOH- und FOSE-basierten Substanzen darstellen, waren zu Beginn des Vorhabens 16 Substanzen käuflich erhältlich. Diese 16 repräsentativen Vertreter (Tabelle A1) wurden für die Entwicklung eines analytischen Verfahrens zur Extraktion und quantitativen Bestimmung in Boden- und Pflanzenproben verwendet. Zunächst wurde die instrumentelle Analytik unter Verwendung der Ultra-Hochleistungs-Flüssigchromatographie gekoppelt mit der Tandem-Massenspektrometrie (UHPLC-MS/MS) unter Verwendung von „multiple reaction monitoring“ (MRM) im negativen Ionenmodus entwickelt. Die chromatographische Trennung erfolgte auf Grundlage der optimierten mobilen Phase und des Gradientenelutionsprogramms, das innerhalb Dr. Bergers Arbeitsgruppe für perfluorierte Alkansulfonsäuren und ihre Sulfonamid-basierten Vorläuferverbindungen entwickelt wurde (Ullah et al., 2014). Die MRM-Übergänge der Analyten mit vorhandenen authentischen Referenzstandards wurden durch Direktinfusion bestimmt, während die mutmaßlichen Übergänge von Analyten ohne Standards von den MRM-Übergängen strukturell ähnlicher Derivate abgeleitet wurden. Eine in-source Fragmentierung der n:2 FTCA zu ihren ungesättigten n:2 FTUCA Analoga in der Elektrosprayionisierungsquelle konnte ausgeschlossen und somit die eindeutige Identifizierbarkeit beider Stoffgruppen sichergestellt werden. Eine Übersicht über die massenspektrometrischen Parameter der Analyten (Tabelle A2) und über das Gradientenelutionsprogramm (Tabelle A3) ist im Anhang gegeben.

Im Rahmen der Entwicklung einer Extraktionsmethode wurde die Stabilität aller Analyten bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von drei Wochen nachgewiesen, um eine mögliche Verzerrung der Ergebnisse durch Transformationsprozesse während der Aufarbeitung auszuschließen. Für die Extraktionsversuche wurden vom Verbundpartner zur Verfügung gestellte unbelastete Boden- und Pflanzenproben mit MeOH (Boden) bzw. ACN (Pflanzen) unter Verwendung eines Ultraschallbads in drei Zyklen extrahiert und die Extrakte aufkonzentriert (

Abbildung 32a). Anschließend wurde ENVI-Carb (unporöses Graphitmaterial für die dispersive Festphasenaufreinigung) (Berger et al., 2009) zugegeben, um die im Rohextrakt enthaltene Probenmatrix durch Sorption an ENVI-Carb zu binden und nach Zentrifugierung und Abnahme des Überstands abzutrennen (Abbildung 32b). Der Überstand wurde über einen Spritzenaufsatzfilter aus regenerierter Cellulose (0,2 µm) filtriert. Da sich die FOSA- und FOSE-Substanzen als flüchtig erwiesen, wurde auf ein vollständiges Eindampfen der Extrakte bis zur Trockene per Stickstoff verzichtet, was zu einer wesentlichen Verbesserung der Wiederfindung führte. Die Volumenbestimmung, als Grundlage für eine Berechnung der Konzentrationen und somit der Wiederfindungen, wurde gravimetrisch durchgeführt.

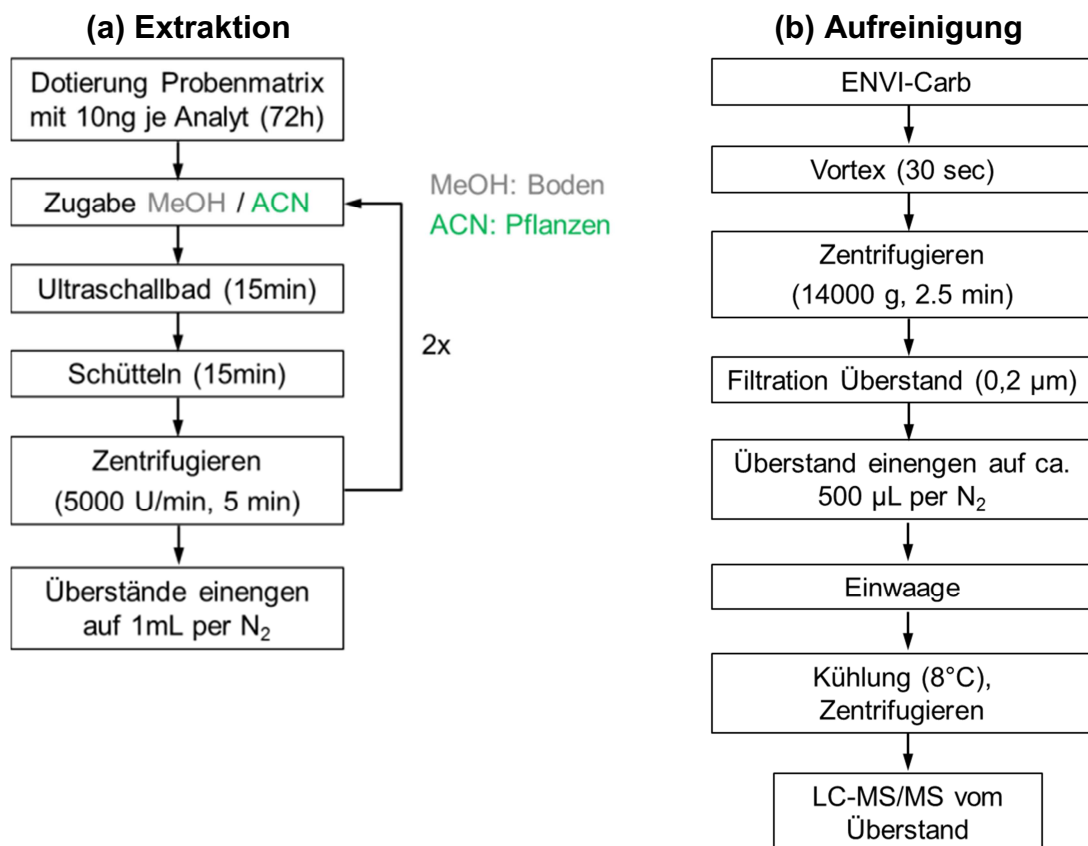


Abbildung 32: Schemata (a) der Extraktion aus Probenmatrix und (b) der Verwendung von ENVI-Carb zur Sorption von gelöster Probenmatrix mit dem Ziel der Minimierung des Matrixeffekts.

Das Extraktionsverfahren wurde hinsichtlich der zu extrahierenden Probenmenge und der einzusetzenden Menge von ENVI-Carb optimiert. Besonderes Augenmerk galt hierbei den Matrixeffekten während der quantitativen Analytik. Hierfür wurden die per UHPLC-MS/MS erhaltenen Peakflächen der Analyten nach Injektion von dotiertem, hochreinem MeOH und von dotierten Extrakten von unbelasteten Probenmatrices verglichen. Die Menge an einzusetzendem ENVI-Carb und die Probenmenge für die Extraktion wurden hinsichtlich eines Kompromisses zwischen Minimierung des Matrixeffekts, bestmöglicher Wiederfindung und niedrigen Detektionsgrenzen matrixspezifisch optimiert (Tabelle 20 und Tabelle A4).

Tabelle 20: Eingesetzte Mengen von Probenmatrix und ENVI-Carb in der optimierten Extraktionsmethode und resultierende Wiederfindungen mit Standardabweichungen der untersuchten Analyten nach der Extraktion von unbelasteten dotierten Boden- und Pflanzenproben.

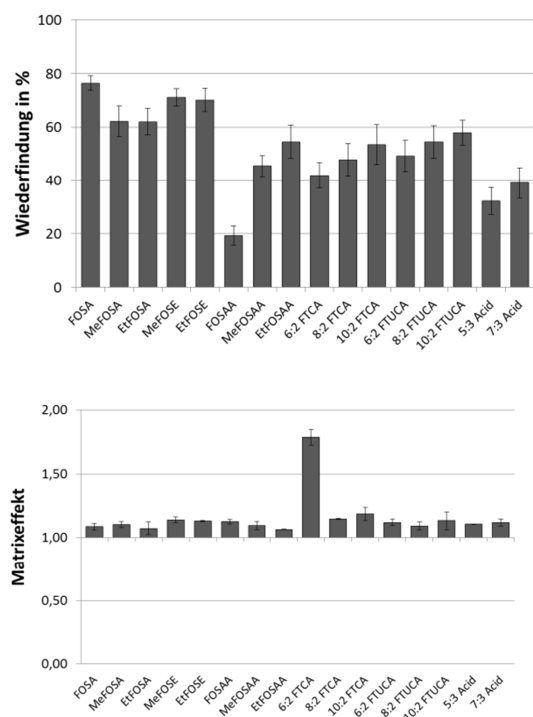
Matrix	Menge Matrix	Menge ENVI-Carb	Mittlere Wiederfindung
Boden	1-5 g*	20 mg	52 ± 15%
Maiskörner	5 g	10 mg	61 ± 15%
Maisblätter	1 g	10 mg	56 ± 9%
Weizenkörner	5 g	5 mg	68 ± 5%
Topinambur	2 g	10 mg	75 ± 9%
Weidelgras	1 g	10 mg	51 ± 8%

* Da die Bodenproben je nach Herkunft unterschiedlich zusammengesetzt sind, kann die optimale Menge an zu extrahierendem Material entsprechend variieren.

Methodenvalidierung:

Die Wiederfindungen und die Matrixeffekte wurden wie oben beschrieben bereits während der Entwicklung und Optimierung der matrixspezifischen Methoden bestimmt (Tabelle 20 und Tabelle A5). Beispielhaft sind die Wiederfindungen aller Analyten mit Referenzstandards und die beobachteten Matrixeffekte nach der Extraktion aus Boden und Maisblättern in Abbildung 33a bzw. Abbildung 33b graphisch dargestellt. Im Anhang (Abbildung A6) sind die Ergebnisse der Extraktion aus allen übrigen Matrices unter Verwendung von unterschiedlichen Extraktionsparametern gezeigt. Insbesondere vor dem Hintergrund, dass eine geeignete Extraktionsmethode für sämtliche Analyten (mit sehr unterschiedlichen physikalisch-chemischen Eigenschaften) aus allen, im Hinblick auf die Zusammensetzung sehr inhomogenen Probenmatrices von Boden und Pflanzen gefunden werden sollte (Multimethode), sind die Wiederfindungen der optimierten Methoden zufriedenstellend (Tabelle 20). Die Matrixeffekte (Tabelle A5) konnten jedoch je nach Probenart erheblich sein, und lagen im Bereich zwischen einer 14-fachen Verminderung (EtFOSE im Extrakt von Weidelgras) bis 2,1-fachen Verstärkung des Signals (EtFOSAA im Extrakt von Topinambur).

(a) Boden (E-FO-U-GG)



(b) Maisblätter (E-MB-U-OT)

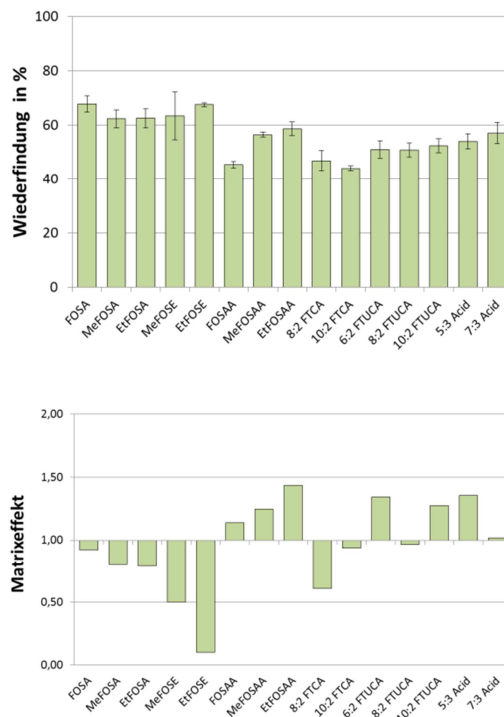


Abbildung 33: Wiederfindungen und Matrixeffekte der Analyten nach Extraktion von dotierten (a) Bodenproben (dotiert mit 2 µg/kg; n = 3) und (b) Maisblättern (dotiert mit 10 µg/kg; n = 2).

Weiter wurden die NG und BG der Analyten für die gesamte Methode bestimmt. Dies erfolgte exemplarisch für Maiskörner und Maisblätter nach der Kalibriergeradenmethode entsprechend DIN 32645. Hierbei wurde in beiden Matrices eine „matrix matched and extracted“ (MME)-Kalibrierung mit zehn äquidistanten Punkten angefertigt. Da die höchste Verdünnung möglichst nahe, aber unter der Nachweisgrenze liegen sollte, während das Verhältnis der NG und dem höchsten Kalibrierwert den Faktor 10 nicht überschreiten darf, wurden zunächst die Instrumentendetektionsgrenzen bestimmt. Anschließend wurden die Matrixeffekte und Wiederfindungen berücksichtigt, um die theoretischen Nachweisgrenzen in den Extrakten für die Anfertigung der zu extrahierenden Verdünnungsreihen zu berechnen. Aufgrund stark variierender Werte wurden die 16 Analyten in bis zu 7 Gruppen mit verschiedenen Konzentrationen eingeteilt (Tabelle A6 und Tabelle A7). Eine „rationale“ Beurteilung der NG und BG wurde durchgeführt, um die nach DIN 32645 ermittelten Werte hinsichtlich ihrer Plausibilität zu überprüfen, und um NG und BG auch für alle anderen untersuchten Matrices zu bestimmen. Die rationale NG wurde der Konzentration des am stärksten verdünnten Extrakts gleichgesetzt, in dem der jeweilige Analyt gerade noch detektiert werden konnte (Signal-zu-Rauschen-Verhältnis (S/N) von 3). Die rationale BG wurde der niedrigsten Konzentration gleichgesetzt, bei der die Konzentrations-Flächen-Wertepaare der Regressionsgerade für die Kalibrierung eine maximale Abweichung von

20 % aufwiesen. Für Boden, Weizenkorn, Weidelgras und Topinambur wurden ausschließlich rationale NG und BG durch die Extraktion von bis zu acht Konzentrationen im Duplikat (Tabelle A8) ermittelt. Hierbei wurde auf Äquidistanz verzichtet, um einen breiteren Konzentrationsbereich abzudecken und die gleichzeitige Verwendung der Extrakte für die MME-Kalibrierung zu ermöglichen. Wenn die NG/BG ober- oder unterhalb der Verdünnungsserie lag, wurde der ermittelte Wert entsprechend durch ein „>“ bzw. „<“ gekennzeichnet.

Die rational und die nach DIN 32645 erhaltenen NG und BG sind in Maiskornmatrix vergleichbar und weichen in der Regel weniger als Faktor 3 voneinander ab (Tabelle 21). In Maisblattmatrix sind die rational und die nach DIN 32645 erhaltenen NG und BG ebenfalls vergleichbar (Tabelle 22). Die rational ermittelten NG und BG von MeFOSE und allen Carbonsäuren mit Ausnahme von 8:2 und 10:2 FTUCA weisen aufgrund der Art der Bestimmung jeweils die gleichen Werte auf. Die rational bestimmten NG und BG für Boden, Topinambur, Weizenkorn und Weidelgras sind in Tabelle 23 bis Tabelle 26 aufgelistet. Die allermeisten der bestimmten NG und BG liegen im ein- bis zweistelligen ng/kg-Konzentrationsbereich.

Tabelle 21: Übersicht über Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (rational und nach DIN 32645 ermittelt) in Maiskornmatrix. Für 5:3 Acid konnten keine NG und BG bestimmt werden, da diese außerhalb des verwendeten Kalibrierbereichs lagen.

Maiskorn	Nachweisgrenze nach DIN 32645 (µg/kg)	rationale Nachweisgrenze (µg/kg)	Bestimmungsgrenze nach DIN 32645 (µg/kg)	rationale Bestimmungsgrenze (µg/kg)
FOSA	0,001	<0,001	0,002	0,002
MeFOSA	0,001	0,002	0,003	0,004
EtFOSA	0,029	<0,046	0,106	0,046
MeFOSE	0,007	0,012	0,026	0,012
EtFOSE	0,032	<0,046	0,115	0,184
FOSAA	0,001	<0,001	0,003	0,009
MeFOSAA	0,0004	0,002	0,002	0,007
EtFOSAA	0,0001	<0,001	0,0003	0,006
6:2 FTCA	0,298	0,392	1,08	2,61
8:2 FTCA	0,036	0,046	0,130	0,046
10:2 FTCA	0,010	0,012	0,035	0,080
6:2 FTUCA	0,004	0,005	0,015	0,016
8:2 FTUCA	0,001	0,001	0,002	0,002
10:2 FTUCA	0,001	0,001	0,002	0,001
5:3 Acid		>0,091		>0,091
7:3 Acid	0,002	0,001	0,008	0,009

Tabelle 22: Übersicht über Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (rational und nach DIN 32645 ermittelt) in Maisblattmatrix. Fehlende NG und BG nach DIN 32645 bedeuten, dass die Kalibriergerade weniger als acht äquidistante Wertepaare enthielt und damit keine NG und BG berechnet werden konnten.

Maisblatt	Nachweisgrenze nach DIN 32645 (µg/kg)	rationale Nachweisgrenze (µg/kg)	Bestimmungsgrenze nach DIN 32645 (µg/kg)	rationale Bestimmungsgrenze (µg/kg)
FOSA	0,002	<0,004	0,008	0,016
MeFOSA	-	>0,101	-	>0,101
EtFOSA	0,007	0,088	0,026	0,088
MeFOSE	0,058	0,432	0,211	0,432
EtFOSE	1,169	3,08	4,25	5,13
FOSAA	0,004	0,009	0,014	0,034
MeFOSAA	0,005	<0,004	0,017	0,037
EtFOSAA	0,005	≤0,009	0,019	0,079
6:2 FTCA		25,20		25,20
8:2 FTCA	0,831	3,08	3,02	3,08
10:2 FTCA	0,100	1,12	0,363	1,12
6:2 FTUCA	0,008	0,079	0,027	0,079
8:2 FTUCA	0,004	<0,004	0,013	0,004
10:2 FTUCA	0,002	<0,004	0,009	0,004
5:3 Acid		0,264		0,323
7:3 Acid		0,102		0,125

Tabelle 23: Übersicht über rationale Nachweis- und Bestimmungsgrenzen in Boden.

Boden	rationale Nachweisgrenze (µg/kg)	rationale Bestimmungsgrenze (µg/kg)
FOSA	0,05	0,16
MeFOSA	0,1	4,0
EtFOSA	0,15	4,0
MeFOSE	0,05	0,8
EtFOSE	0,2	0,8
FOSAA	0,02	0,032
MeFOSAA	0,002	0,032
EtFOSAA	0,01	0,16
6:2 FTCA	0,5	0,8
8:2 FTCA	0,05	0,16
10:2 FTCA	0,1	0,8
6:2 FTUCA	0,01	0,032
8:2 FTUCA	0,01	0,032
10:2 FTUCA	0,02	0,16
5:3 Acid	0,05	0,16
7:3 Acid	0,05	0,16

Tabelle 24: Übersicht über rationale Nachweis- und Bestimmungsgrenzen in Topinambur.

Topinambur	rationale Nachweisgrenze (µg/kg)	rationale Bestimmungsgrenze (µg/kg)
FOSA	<0,005	<0,005
MeFOSA	0,01	0,01
EtFOSA	0,01	0,02
MeFOSE	0,02	0,50
EtFOSE	0,08	1,25 - 4
FOSAA	0,01	0,01
MeFOSAA	0,01	0,04
EtFOSAA	0,01	0,02
6:2 FTCA	>4	-
8:2 FTCA	0,08	1,25
10:2 FTCA	0,08	0,50
6:2 FTUCA	0,08	0,50
8:2 FTUCA	0,50	0,50
10:2 FTUCA	<0,005	0,01
5:3 Acid	0,50	0,50
7:3 Acid	0,02	0,04

Tabelle 25: Übersicht über rationale Nachweis- und Bestimmungsgrenzen in Weizenkorn.

Weizenkorn	rationale Nachweisgrenze (µg/kg)	rationale Bestimmungsgrenze (µg/kg)
FOSA	<0,002	0,002
MeFOSA	0,002	0,008
EtFOSA	>0,03	>0,03
MeFOSE	0,03	>0,03
EtFOSE	>>0,03	>>0,03
FOSAA	0,002	0,016
MeFOSAA	>0,002	0,004
EtFOSAA	>0,002	0,008
6:2 FTCA	>>0,03	>>0,03
8:2 FTCA	0,03	>0,03
10:2 FTCA	0,03	>0,03
6:2 FTUCA	>0,03	>0,03
8:2 FTUCA	0,002	0,016
10:2 FTUCA	<0,002	0,016
5:3 Acid	>0,03	>0,03
7:3 Acid	0,008	0,008

Tabelle 26: Übersicht über rationale Nachweis- und Bestimmungsgrenzen in Weidelgras.

Weidelgras	rationale Nachweisgrenze ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	rationale Bestimmungsgrenze ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
FOSA	<0,01	0,02
MeFOSA	>0,15	>0,15
EtFOSA	0,02	0,08
MeFOSE	0,15	>0,15
EtFOSE	0,15	>0,15
FOSAA	0,02	0,04
MeFOSAA	0,01	0,15
EtFOSAA	0,01	0,08
6:2 FTCA	>0,15	>0,15
8:2 FTCA	>0,15	>0,15
10:2 FTCA	>0,15	>0,15
6:2 FTUCA	<0,01	>0,15
8:2 FTUCA	0,01	0,08
10:2 FTUCA	0,01	0,04
5:3 Acid	>0,15	>0,15
7:3 Acid	>0,15	>0,15

Aufgrund der beträchtlichen Matrixeffekte, die für gewisse Analyt-Matrix-Kombinationen auftraten (Abbildung 33, Abbildung A6, Tabelle A5), war es notwendig, eine Quantifizierungsmethode zu wählen, die den Matrixeffekten (und den Wiederfindungsverlusten) Rechnung trug. Da nicht für alle Analyten analoge isotopenmarkierte Standards zur Verfügung standen, die eine Quantifizierung nach der Internstandardmethode erlauben würden, wurde auf die MME-Kalibrierung (wie oben beschrieben) zurückgegriffen. Zur Abschätzung des Konzentrationsbereichs, in dem quantifiziert werden sollte, wurde im Vorfeld jeweils eine kontaminierte Probe je Matrix extrahiert und einem chemisch-analytischen Screening unterzogen. Zur Qualitätssicherung der Quantifizierung basierend auf der MME-Kalibrierung wurden alle Proben 72 h vor der Extraktion mit sechs internen Standards (IS) (Tabelle A1) dotiert.

Die MME-Kalibrierung als Quantifizierungsmethode setzt eine gute Wiederholbarkeit der gesamten analytischen Methode voraus. Die Wiederholbarkeit wurde mithilfe der dotierten internen Standards (Konzentration 2-10 $\mu\text{g}/\text{kg}$; $n = 3$ für kontaminierte und $n = 10$ für unkontaminierte Proben) bestimmt. Es zeigte sich, dass für einige Analyten die Wiederholbarkeit der Quantifizierung aus dem dotierten, unkontaminierten Boden (E-FO-U-GG) nicht zufriedenstellend war, und damit auch keine gute Kalibrierung erreicht werden konnte (r^2 der MME-Kalibrierung z. T. <0,98). Die Wiederholbarkeit der quantitativen Analytik der meisten Zielverbindungen aus den kontaminierten Böden (E-Hü1b-B-GG, Wi-MP1, E50-6, NAW) war dagegen zufriedenstellend.

Im Gegensatz zu der Extraktion aus Boden verlief die Extraktion aus allen Pflanzenproben robust und wiederholbar. Beispielhaft ist dies anhand der Abweichung der Signalfächen der sechs IS vom Mittelwert der Signalfächen in den Extrakten von Mais Kornproben dargestellt (Abbildung 34). Die mittlere Abweichung betrug lediglich 4,2 %. Eine analoge Übersicht für alle anderen Pflanzenproben kann Abbildung A7 entnommen werden. Eine etwas höhere, aber akzeptable mittlere Abweichung von 10 % war lediglich in den Extrakten von dotiertem, unbelastetem Topinambur zu beobachten (Abbildung A7). Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass sich diese Matrix nach Zugabe von ACN zu einer harten Masse verklumpte, die mechanisch zerkleinert werden musste, um die Effizienz der Extraktion sicherzustellen.

(a) Extraktion kontaminiertes MK (b) Extraktion dotiertes, unbelastetes MK

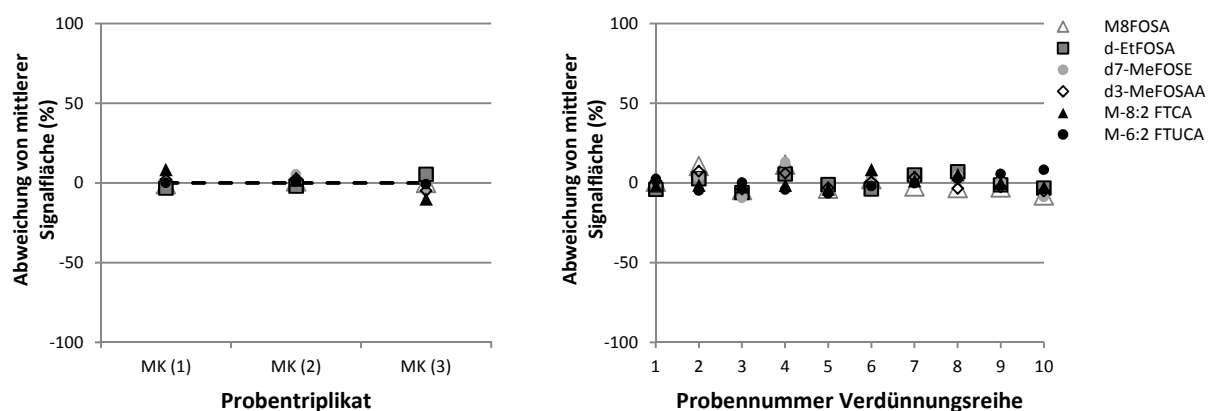


Abbildung 34: Übersicht der Variation der Signalfächen von sechs internen Standards (dotiert mit 2 µg/kg) zur Kontrolle der Wiederholbarkeit der Quantifizierung von (a) kontaminierten Mais Korn (MK)-Proben (Triplikate) und von (b) einer Verdünnungsreihe aus zehn Einzelproben von dotierter, unkontaminierter Mais Kornmatrix (zur Erstellung der MME-Kalibrierung und zur Bestimmung der NG und BG nach DIN 32645).

Transformationsprodukte von Vorläuferverbindungen in Bodenproben

Aufgrund der oben beschriebenen, für gewisse Analyten auftretenden Probleme beim Erstellen der MME-Kalibrierkurve mithilfe des unkontaminierten Bodens (E-FO-U-GG) wurde bei der Quantifizierung der Bodenproben für FOSA, MeFOSA, EtFOSA, MeFOSE, MeFOSAA, 8:2 FTCA und 6:2 FTUCA auf die Internstandardmethode zurückgegriffen, während für alle anderen Analyten (außer 5:3 und 7:3 Acid) die MME-Kalibrierung (mit $r^2 > 0,99$) angewendet wurde. Für 5:3 und 7:3 Acid war weder ein analoger interner Standard erhältlich, noch konnte eine zufriedenstellende MME-Kalibrierung erzielt werden. Diese beiden Analyten wurden daher in Boden mit externer, lösungsmittelbasierter Kalibrierung quantifiziert, d. h. Wiederfindungsverluste und Matrixeffekte wurden nicht berücksichtigt, und die entsprechenden Resultate müssen als semi-quantitativ angesehen werden. In Tabelle 27 sind die Resultate der Quantifizierung der Zielverbindungen in den

kontaminierten Bodenproben als Mittelwerte von Dreifachbestimmungen zusammengefasst. In der unbelasteten Bodenprobe (E-FO-U-GG) waren die Konzentrationen sämtlicher Analyten unterhalb ihrer Nachweisgrenzen (s. Tabelle 23 für die NG) mit Ausnahme von EtFOSAA, das in einer Konzentration zwischen der NG und der BG detektiert wurde.

Tabelle 27: Resultate (Mittelwerte von Dreifachbestimmungen) der Quantifizierung der Analyten in den vier kontaminierten Bodenproben. Kursiv gedruckte Werte sind detektierte Analyten unterhalb der BG. Diese Werte sind nur semi-quantitativ zu verstehen, wie auch alle Werte für 5:3 und 7:3 Acid (ebenfalls kursiv). Leere Zellen sind Konzentrationen <NG (s. Tabelle 23 für NG und BG).

Bezeichnung Kennung	Hü1b E-HÜ1b-B-GG (µg/kg)	Wi-MP1 (µg/kg)	NAW (µg/kg)	E50-6 (µg/kg)
FOSA	9,90	1,14	0,57	0,55
MeFOSA	<i>0,18</i>			<i>0,12</i>
EtFOSA	<i>0,56</i>		<i>1,09</i>	<i>0,20</i>
MeFOSE	0,12	0,12		0,18
EtFOSE	11,9	0,81	<i>0,24</i>	<i>0,69</i>
FOSAA	5,81	0,13	0,13	<i>0,025</i>
MeFOSAA	0,21	<i>0,01</i>	<i>0,029</i>	<i>0,005</i>
EtFOSAA	215	4,16	3,10	1,33
6:2 FTCA	<i>0,54</i>			
8:2 FTCA	<i>0,10</i>	<i>0,12</i>	0,30	0,23
10:2 FTCA	<i>0,75</i>	1,03	<i>0,60</i>	1,02
6:2 FTUCA	0,07	0,07	0,08	0,12
8:2 FTUCA	0,26	0,21	0,43	0,34
10:2 FTUCA	0,94	0,64	0,90	0,72
5:3 Acid	<i>8,57</i>	<i>4,47</i>	<i>2,26</i>	<i>6,81</i>
7:3 Acid	<i>29,6</i>	<i>8,19</i>	<i>5,88</i>	<i>7,52</i>

Transformationsprodukte von Vorläuferverbindungen in Pflanzenproben

Die Quantifizierung aller Zielanalyten in allen belasteten Pflanzenproben erfolgte mittels der MME-Kalibrierungen, die bereits für die Bestimmung der NG und BG genutzt wurden und eine Korrektur der Quantifizierung in Hinsicht auf Matrixeffekte und Wiederfindungsraten sicherstellten. Zusätzlich wurden die Analyten FOSA, EtFOSA, MeFOSE, MeFOSAA, 8:2 FTCA und 6:2 FTUCA unter Verwendung von isotoopenmarkierten, internen Standards, mit denen die Probenmatrix 72 h vor der Extraktion dotiert wurde, quantifiziert und damit die Quantifizierung mittels MME-Kalibrierung qualitätsgesichert. Hierbei wurde in allen Fällen eine gute Übereinstimmung der beiden Quantifizierungsmethoden gefunden. In Tabelle 28 sind die Resultate für die quantifizierten Analyten in allen Pflanzenproben als Mittelwerte von Dreifachbestimmungen aufgelistet. Die Konzentrationen sämtlicher Analyten lagen in allen unbelasteten Pflanzenproben unterhalb der Nachweisgrenzen (s. Tabelle 21, Tabelle 22 und Tabelle 24 bis Tabelle 26 für die NG).

Tabelle 28: Resultate (Mittelwerte von Dreifachbestimmungen) der Quantifizierung der Analyten in den belasteten Pflanzenproben (MB: Maisblatt, MK: Maiskorn, TG: Topinambur geschält, TS: Topinamburschale, WE: Weizenkorn, WG: Weidelgras). Kursiv gedruckte Werte sind detektierte Analyten unterhalb der BG. Diese Werte sind nur semi-quantitativ zu verstehen. Leere Zellen sind <NG (s. Tabelle 21, Tabelle 22 und Tabelle 24 bis Tabelle 26 für NG und BG). Konzentrationen in Klammern wurden durch IS-Quantifizierung bestimmt.

Kennung	MB	MK	TG	TS	WE	WG
	E-MB-B-OT (µg/kg)	E-MK-B-GG (µg/kg)	E-TG-B-GG (µg/kg)	E-TS-B-GG (µg/kg)	E-WE-B-OG (µg/kg)	E-WG-B-GG (µg/kg)
FOSA	0,213 (0,223)	0,002 (0,002)	0,002 (0,002)	0,002 (0,002)	0,002 (0,003)	0,009 (0,007)
MeFOSA						
EtFOSA	0,049 (0,067)					
MeFOSE						
EtFOSE						
FOSAA	0,152					0,027
MeFOSAA	0,002 (0,002)					
EtFOSAA	0,405	0,006	0,011	0,125	0,006	0,016
6:2 FTCA						
8:2 FTCA						
10:2 FTCA						
6:2 FTUCA					0,225	0,205 (0,203)
8:2 FTUCA						
10:2 FTUCA						
5:3 Acid						
7:3 Acid	0,150			0,037		

Weitere PFAS-Transformationsprodukte in Boden- und Pflanzenproben

Zuletzt wurde mit allen kontaminierten Proben ein qualitatives Screening nach potentiellen Transformationsprodukten von FTOH- und FOSE-basierten Substanzen, für die keine authentischen Referenzstandards erhältlich waren, durchgeführt. Hierfür wurden sowohl die mutmaßlichen MRM-Übergänge für die massenspektroskopische Detektion, als auch die chromatographischen Retentionszeiten von strukturell ähnlichen Derivaten mit anderen Kettenlängen abgeleitet. Eine Aussage über die Konzentration ist mit massenspektrometrischer Detektion ohne Referenzstandard nicht möglich.

Da die zweifelsfreie Identifizierung von Analyten ohne vorhandene Referenzstandards weder durch Tandem-Massenspektrometrie, noch mit Hilfe hochauflösender Techniken möglich ist (Schymanski et al., 2014) wurden fünf Konfidenzstufen für die detektierten Signale eingeführt (Tabelle A9). Hierbei sind diejenigen Analyten, deren Identität höchstwahrscheinlich richtig zugeordnet ist der Stufe „a“ zugeordnet. Analyten, deren Identität eher fraglich ist, sind in die Konfidenzstufe „e“ gruppiert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 29 wiedergegeben.

Tabelle 29: Qualitative Analyse von extrahierten belasteten Böden (Hü1b, Wi-MP1, NAW, E50-6) und Maisblättern (MB), Maiskörnern (MK), Topinamburschale (TS), Topinambur geschält (TG), Weidelgras (WG) und Weizenkorn (WE).

	Hü1b E-HÜ1b- B-GG	Wi-MP1	NAW	E50-6	MB E-MB-B- OT	MK E-MK-B- GG	TG E-TG-B- GG	TS E-TS-B- GG	WE E-WE-B- OG	WG E-WG- B-GG
4:2 FTCA										
12:2 FTCA	a									
14:2 FTCA	a									
16:2 FTCA										
4:2 FTUCA										
12:2 FTUCA	a		b	b						
3:3 Acid										
9:3 Acid	a	a	a	a	a			a	a	
11:3 Acid	a						a			
13:3 Acid	a									
3:3 UAcid										
5:3 UAcid									c	c
7:3 UAcid	b									
9:3 UAcid	b									
11:3 UAcid	b									
13:3 UAcid										
15:3 UAcid										
FBSA	e	e	e	e				b	b	
MeFBSA			e	e		a			e	
EtFBSA										
FHxSA	b	b	b	b						
MeFHxSA			b	b						
EtFHxSA										
FBSAA										
MeFBSAA							e	e	e	
EtFBSAA					a		e			
FHxSAA										
MeFHxSAA	b									b
EtFHxSAA	d									
FBSE										
MeFBSE										
EtFBSE						b	b	b	a	c
FHxSE										e
MeFHxSE										
EtFHxSE						b				
FOSE										

4.2.4 Fluortelomeracrylate

Die vom Fraunhofer IVV durchgeführte Literatur- und Patentrecherche zum historischen und aktuellen Einsatz fluorierter Papierbeschichtungen hat gezeigt, dass Perfluorverbindungen in fettdichten Papieren bereits seit den frühen 1960er Jahren eingesetzt wurden. Nach Auskunft des Verbandes Deutscher Papierfabriken (VDP) werden und wurden PFAS nur in Lebensmittelkontaktpapieren eingesetzt. Somit kommen in der Regel nur Stoffe zur Anwendung, die in der Empfehlung des Bundesinstitutes für Risikobewertung (BfR) aufgeführt sind. Substanzen werden dabei auf Antrag der Hersteller und nach Prüfung des BfR in die Empfehlungen aufgenommen. Auf Basis der Eintragungen in die Empfehlungen kann ein ungefähres Bild des Einsatzes gezeichnet werden. Bis zur Jahrtausendwende waren häufig Verbindungen der Sulfonylchemie im Einsatz, die dann z. B. durch Perfluoralkylphosphate (di- und triPAP mit FTOH-Seitenketten) oder auch SAMPAP ersetzt wurden.

Eine Tendenz zum Einsatz kürzerer Seitenketten ist dabei über die Jahre zu beobachten. Perfluoralkylphosphate werden ab ca. 2010 nicht mehr so häufig eingesetzt, da über verschiedene Zwischenschritte u. a. die Bildung von PFOA aus diesen Verbindungen (Präkursoren-Problematik) beobachtet wurde. Fluoracrylate (oder auch Mischpolymerisate derselben) wurden ebenfalls bereits seit den 1960er Jahren eingesetzt und stellen heute die Mehrheit der verwendeten Produkte. Die Molmassenverteilung einzelner eingesetzter fluorierter Papierhilfsmittel unterscheidet sich dabei beträchtlich. Dadurch ist auch die Einsatzmöglichkeit verschiedener Analysenverfahren beschränkt. Neben Lebensmittelkontaktpapieren werden im kleineren Umfang auch Fotopapiere mit PFAS hergestellt. Der Einsatz von PFAS in Verbindung mit polymeren Faserstoffen (Tapeten, Geotextilien, sonstige Vliese) ist Gegenstand aktueller Recherchen, da es auch hier nachweislich zur Freisetzung von Perfluorverbindungen kommen kann. (Gruber et al, 2014). Aktuelle Arbeiten zeigen auch den Abbau von polymeren Acrylaten mit Fluortelomer-Seitenketten. (Washington et al., 2015). Untersuchungen von Hexafluorisopropanol(HFIP)-Extrakten einzelner eingesetzter fluorierter Papierhilfsmittel mit Gelpermeationschromatographie (GPC) zeigen, dass insbesondere die Papierhilfsmittel auf Basis von Fluoracrylaten teilweise recht hohe mittlere Molgewichte haben, was den analytischen Nachweis erschwert.

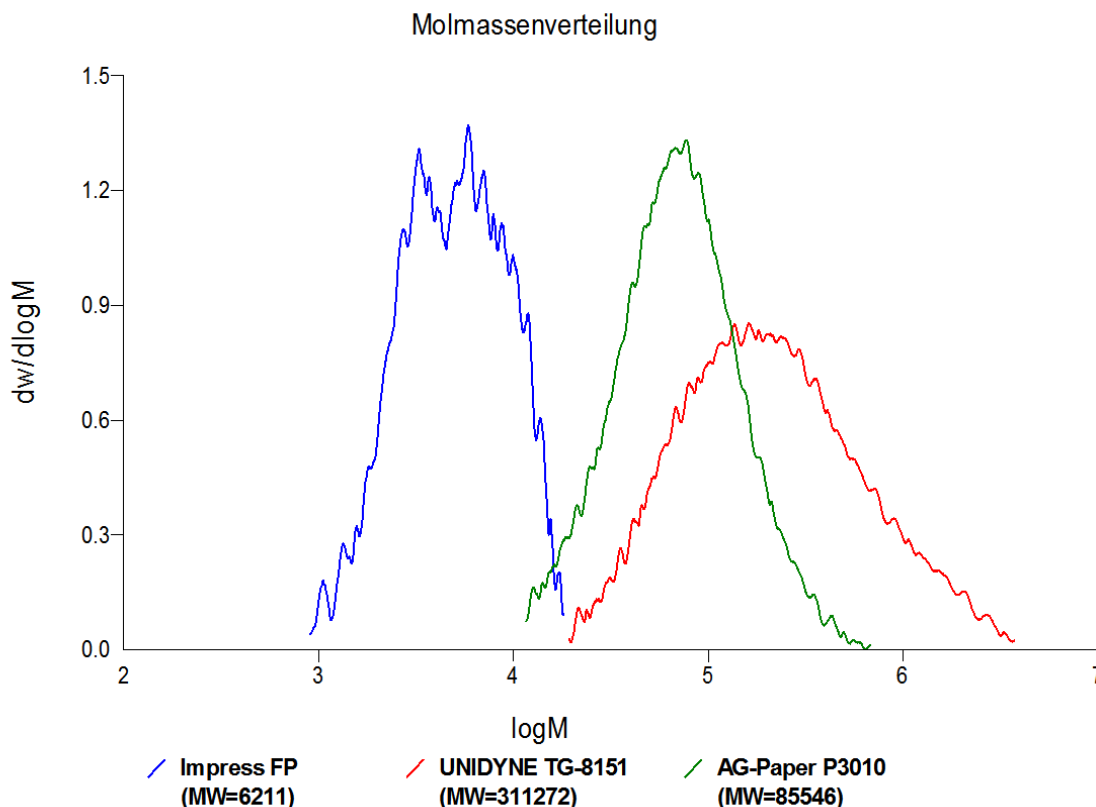


Abbildung 35: Beispiel für die Molmassenverteilung einzelner eingesetzter fluorierter Papierhilfsmittel.

Eine direkte Messung dieser fluorierten Verbindungen ist bei Molekulargewichten zwischen 10^3 und $10^{6,5}$ g/mol nicht möglich.

Die Extraktion der Produkt- und auch Bodenproben mit dem starken Lösemittel HFIP ermöglicht die Extraktion der vorhandenen fluorierten Papierhilfsmittel und deren Fraktionierung an der GPC. Die Detektionsmöglichkeiten sind dabei abhängig von der Molmassenverteilung der Produkte. Der Nachweis polymerer Vorläufersubstanzen sollte über Thermo-/Hydrolyse zu Fluoracrylaten bzw. durch oxidative Konversion zu niedermolekularen PFAS erfolgen.

Der Nachweis von Fluoracrylaten in Boden- und Pflanzenproben erfolgte nach Extraktion durch Kopplung von Gaschromatographie mit einem Massenspektrometer mit positiver chemischer Ionisation (GC-PCI-MS).

In ein PP-Zentrifugenröhrchen wurde 1 g Probe eingewogen und 10 mL MeOH zugegeben. Die Extraktion erfolgte über Nacht auf einem Schüttler. Nach Zentrifugation (5 min bei 11627 x g) wurden 5 mL des Überstandes abgenommen und mit 10 µL des internen Standards versetzt. Anschließend wurden 7 mL Wasser und 1 mL n-Hexan zugegeben. Nach Vortex-Mischen wurde ein Aliquot der n-Hexan-Phase abgenommen und in ein 1 mL-GC-Vial überführt.

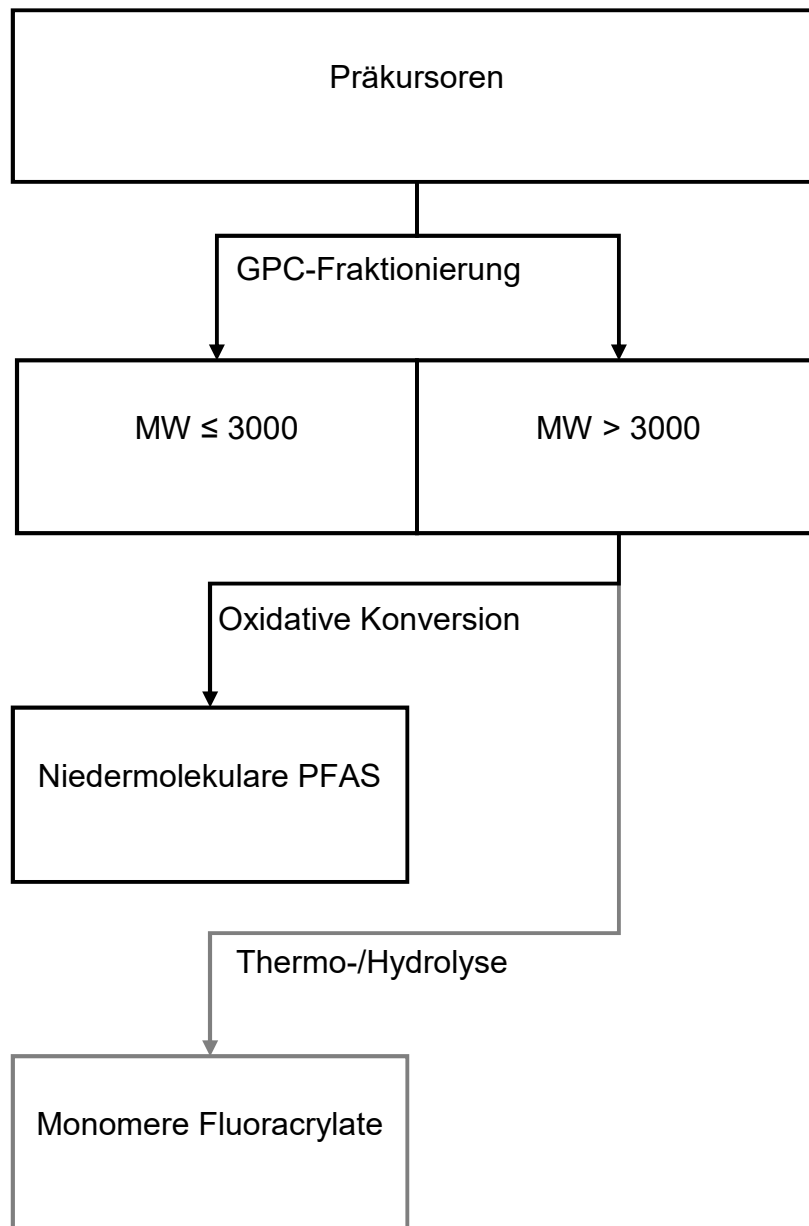


Abbildung 36: Prinzip der Abtrennung niedermolekularer PFAS und der oxidativen Konversion hochpolymerer Fluoracrylate zu niedermolekularen PFAS sowie der alternativen Thermo-/ Hydrolyse zu monomeren Fluoracrylaten (grauer Pfad).

Die chromatographische Trennung wurde an einem Trace GC Ultra (Thermo Fisher Scientific) auf einer ZB-50-Säule bei einem Temperaturgradienten von 40 °C (Haltezeit 4 min) auf 300 °C mit 10 °C/min durchgeführt. Die Detektion erfolgte an einem Massenspektrometer des Typs TSQ Quantum GCMS unter PCI-Bedingungen.

Tabelle 30: Verfügbare Standards von Fluoracrylaten.

Kürzel	Bezeichnung
2:1 FTAC	2,2,3,3,3-Pentafluorpropylacrylat
3:1 FTAC	2,2,3,3,4,4,4-Heptafluorbutylacrylat
3:1 FTMAC	2,2,3,3,4,4,4-Heptafluorbutylmethacrylat
7H-6:1 FTAC	2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7-Dodecafluorheptylacrylat
6:2 FTMAC	3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-Tridecafluoroctylmethacrylat
6:2 FTAC	3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-Tridecafluoroctylacrylat
8:2 FTMAC	3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,10-Heptadecafluordecylmethacrylat
8:2 FTOAc	1H,1H,2H,2H-Perfluorodecylacetat, LOT:82FTOAc0412b
10:2 FTOAc	1H,1H,2H,2H-Perfluordodecylacetat, LOT:102FTOAc0412
8:2 FTAC	1H,1H,2H,2H-Perfluorodecylacrylat, LOT:82FTAc0412
10:2 FTAC	1H,1H,2H,2H-Perfluordodecylacrylat, LOT:102FTAc0412
Cartafluor	C8 for Paper (Cartafluor CFI)

Tabelle 31: Retentionszeiten und Massen der Acrylate, Telomeralkohole und Sulfonamide zur Auftrennung auf einer ZB50-Säule.

Analyt	m/z TI	m/z Q	Retentionszeit in Minuten
4:2 FTOH	265,0	227,0	2,31-3,76
6:2 FTOH	365,0	327,0	3,40-4,54
8:2 FTOH	465,0	427,0	5,16-5,73
10:2 FTOH	565,0	527,0	6,85-7,15
6:2 FTAC	419,0	447,1	5,20
8:2 FTAC	519,1	547,1	6,00
10:2 FTAC	619,1	647,1	6,80
EtFOSA	528,0	508,0	11,14
EtFOSE	554,0	572,1	14,46
MeFOSA	514,0	494,0	10,95
MeFOSE	540,0	558,0	13,95
Me2FOSA	528,2		9,36
8:2 FTMAC	533,1	561,1	9,33
6:2 FTMAC	433,1	461,1	8,13
7H-6:1 FTAC	387,1	415	7,80
6:2 FTAC	419	447	6,94

Die leichter flüchtigen Penta-, Hexa- und Heptafluor-(meth-)acrylate lassen sich aufgrund der Verschleppung des Lösemittels nur semiquantitativ erfassen. Eine Entfernung des Lösemittels ist aufgrund der Flüchtigkeit der Zielanalyten prinzipiell nicht möglich.

Beispielhaft sind in Abbildung 37 und Abbildung 38 Kalibrierkurven für 7H-6:1 FTAC, 6:2 FTAC, 6:2 FTMAC und 8:2 FTMAC aufgeführt.

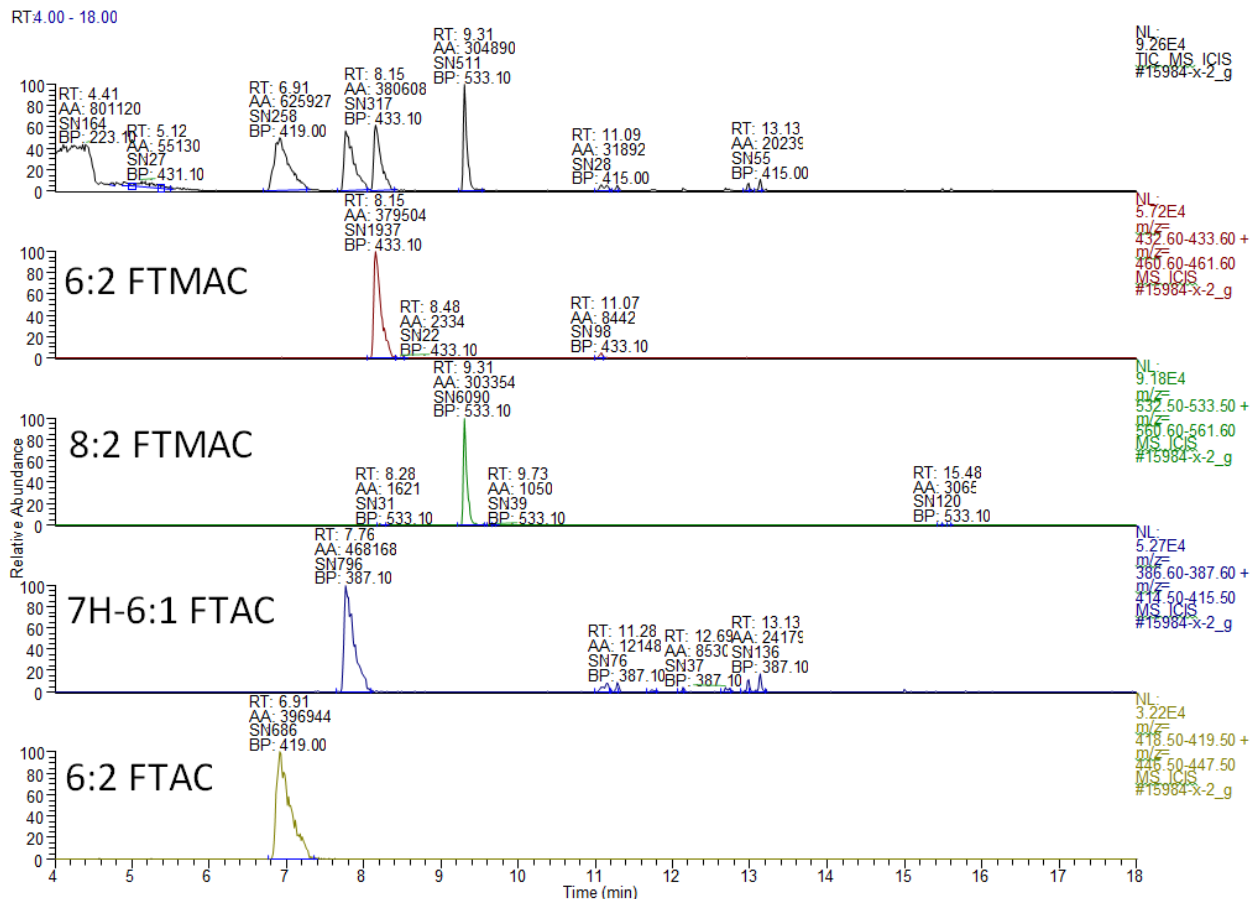


Abbildung 37: Chromatogramm eines 100 ng/g Acrylat-Standards in n-Hexan.

Nachweis polymerer Vorläuferverbindungen über Thermo-/Hydrolyse zu Fluoracrylaten

Der Nachweis polymerer PFAS-Vorläuferverbindungen über Thermo-/Hydrolyse zu Fluoracrylaten sollte ebenfalls über GC-PCI-MS nach folgender Methode erfolgen:

In ein 20 mL-Glasvial wurde 1 g Bodenprobe eingewogen und mit 10 mL HFIP aufgefüllt. Die Extraktion erfolgte für 30 min auf dem Schüttler. Der Extrakt wurde über einen Spritzenvorsatzfilter (PTFE-Membran, 0,22 µm) filtriert.

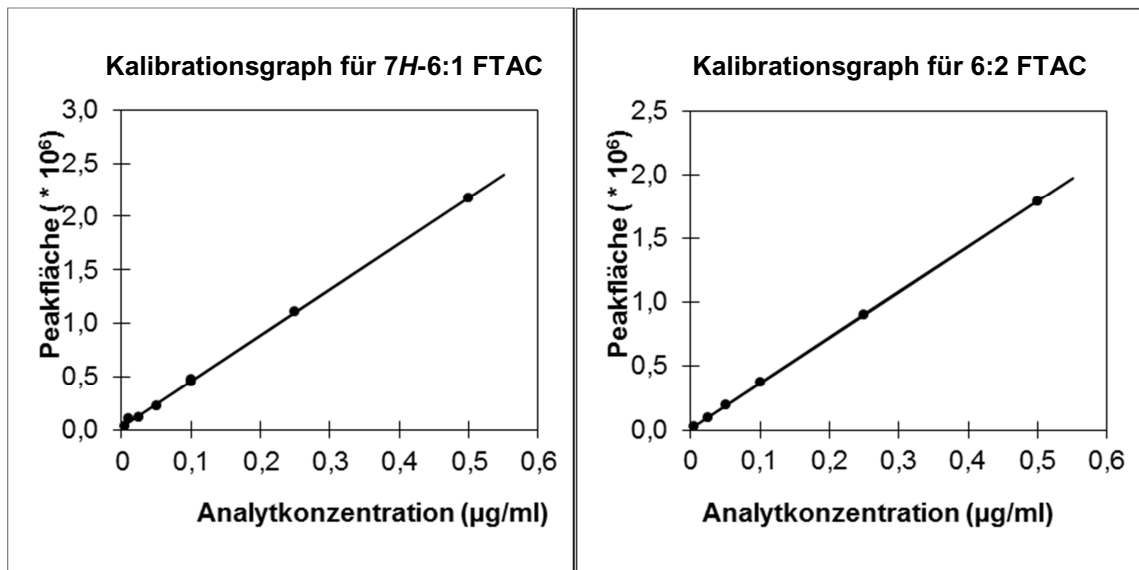


Abbildung 38: 7H-6:1 FTAC- und 6:2 FTAC-Kalibration.

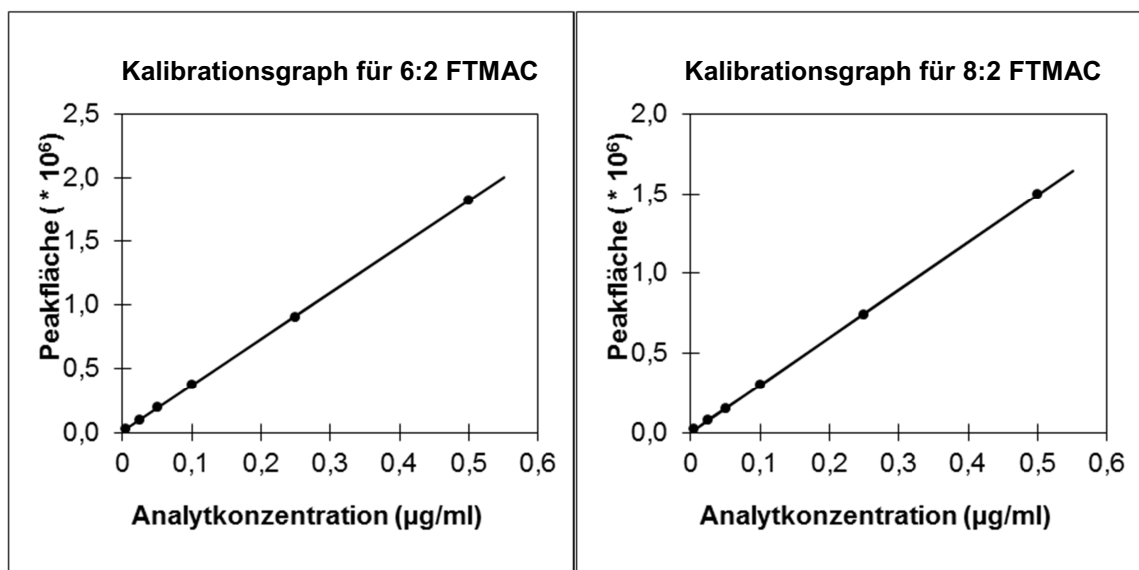


Abbildung 39: 6:2 FTMAC- und 8:2 FTMAC-Kalibration.

Es folgte eine Fraktionierung nach der Molekülmasse durch GPC:

- Säule: PSS PFG Linear XL, 7µ, 300 x 8 mm, temperiert auf 40°C
- Injektor: Dionex ASI-100
- Pumpe: Gynkotec M300
- Detektor: Gynkotec SE-61, Brechungsindexdetektor
- Fraktionssammler: Gilson 201, Fraktionssammler

Als Laufmittel diente HFIP mit 0,02 mol/L Kaliumtrifluoracetat bei einer Fließgeschwindigkeit von 1,0 mL/min. Gesammelt wurde das Eluat von 6 min bis 10,75 min (entspricht einem Molekülmassenbereich zwischen 3000 und ca. $3,7 \cdot 10^6$) von insgesamt drei Läufen bei einem Injektionsvolumen von 100 μ L. Die Massenkalkulation erfolgte mit einem Polymethylmethacrylat-Standard über einen Molekülmassenbereich von 2220 bis $1,52 \cdot 10^6$.

Das GPC-Eluat wurde im Stickstoffstrom zur Trockene abgeblasen. Nach Zugabe von 10 μ L Wasser erfolgte eine Thermolyse bei 200 °C für 2 h. Im Anschluss wurden die Proben eine Stunde bei -20 °C abgekühlt. Durch das Septum wurden 1 mL n-Hexan und 10 μ L interner FTOH-Standard (10:2 FTOH, vierfach ^{13}C -isotopenmarkiert, 10 $\mu\text{g/g}$) zugegeben. Nach Vortex-Mischen wurde erneut filtriert und ein Aliquot ins Messvial abgefüllt. Die Messung erfolgte analog zur Bestimmungsmethode für Fluoracrylate.

Nachweis polymerer Präkursoren durch oxidative Konversion zu niedermolekularen PFAS

Alternativ sollte der Nachweis polymerer PFAA-Vorläuferverbindungen über oxidative Konversion zu niedermolekularen PFAA erfolgen. (Houtz & Sedlak, 2012). Hierzu wurden 10 g der gefriergetrockneten Bodenproben in ein 50 mL Zentrifugenröhrchen eingewogen, denen anschließend 10 mL HFIP zugegeben wurde. Die Röhrchen wurden 30 min geschüttelt, anschließend für 5 min bei 1860 x g zentrifugiert und der Überstand durch Spritzenvorsatzfilter filtriert (PTFE-Membran, 0,45 μm und 0,22 μm). 5 mL des Filtrats wurden dann auf ca. 1 mL eingengt und in 1 mL-Gefäße aus PP überführt.

Es folgte eine Fraktionierung nach der Molekülmasse durch GPC. Die GPC erfolgte analog zur Probenaufbereitung für die Thermolyse zum Nachweis von Fluoracrylaten. Abweichend davon wurde allerdings das Eluat von insgesamt vier Läufen pro Probe gesammelt.

Das gesammelte GPC-Eluat wurde in ein 500 mL HDPE-Gefäß mit Schraubverschluss überführt, worin es dann im Stickstoffstrom zur Trockene abgeblasen und anschließend in 100 mL Wasser aufgenommen wurde. Nach Zugabe von 2 g Kaliumperoxodisulfat und 3,8 mL 10 N Natronlauge wurden die Flaschen für 6 h auf 85 °C erhitzt und vor der weiteren Bearbeitung auf Raumtemperatur heruntergekühlt.

Es folgte ein Aufreinigungsschritt mittels SPE. Nachdem die Lösung bis auf Raumtemperatur abgekühlt war, wurden die internen Standards zugegeben und der pH-Wert mit konzentrierter Ameisensäure auf 4–5 eingestellt. Als interne Standards wurden isotopenmarkierten Standards für PFBA, PFHxA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUdA, PFDoA und PFOS verwendet. Die SPE-Säulen (WATERS Oasis Wax, 150 mg, 6 mL) wurden mit 1 % Ammoniak in MeOH, MeOH und Wasser (je eine Säulenfüllung) konditioniert. Die Oxidations-Ansätze wurden dann komplett und unverdünnt auf die SPE-Kartuschen gegeben. Die Kartuschen wurden anschließend mit 1 mL MeOH/Wasser (1/1) gewaschen und die Analyten anschließend mit 5 mL einer Lösung von 1 % Ammoniak in MeOH in ein 5 mL PP-Gefäß eluiert, worin das Eluat dann zur Trockene eingengt und in 500 μ L MeOH/Wasser (1/1) rückgelöst wurde.

Die quantitative Bestimmung erfolgte mittels HPLC-MS/MS (Waters LC Quattro). Die chromatographische Trennung wurde mit einer Phenomenex LUNA (PFP)-Trennsäule unter Verwendung eines Gemisches aus wässriger Ammoniumacetatlösung und MeOH als mobiler Phase durchgeführt. Die massenspektrometrische Detektion wurde mittels MRM (multiple reaction monitoring) nach Elektrospray-Ionisierung im Negativ-Ionen-Modus durchgeführt. Die Quantifizierung erfolgte sowohl über die zugesetzten internen Standards als auch über externe Standardlösungen.

Für Vorversuche wurde Cartafluor CFI (Clariant) verwendet, ein Acrylatpolymer mit perfluorierten C₈-Ketten. Vorextrahierter Seesand wurde mit der Cartafluor-Lösung dotiert und mit HFIP extrahiert. Der durch 0,22 µm PTFE-Membran filtrierte Extrakt wurde mit der GPC fraktioniert, wobei die Fraktion des Molmassenbereichs 3000 Da < MW < 3,7 · 10⁶ Da gesammelt wurde. Durch die oxidative Konversion wurden die Polymere zu kurzkettigen PFAS abgebaut und als solche mittels LC-MS/MS quantitativ bestimmt. Dabei wurden sowohl der filtrierte Extrakt, sowie das GPC-Eluat mit der Cartafluor-Lösung aufgestockt. Abweichend von der beschriebenen Methode erfolgten sowohl die Extraktion und das teilweise und vollständige Einengen im Stickstoffstrom in Glasgefäßen.

Die Probenaufbereitung für Bodenproben erfolgte gemäß der beschriebenen Methode. Zusätzlich wurde zu Vergleichszwecken von einer der höher belasteten Proben sowohl das GPC-Eluat als auch ein Aliquot des unfraktionierten Extraktes der oxidativen Konversion und den nachfolgenden Aufbereitungsschritten unterzogen.

Untersuchung von Fluortelomeren und Fluoracrylaten in Boden- und Pflanzenproben

Zur Untersuchung von Fluortelomeren und Fluoracrylaten in Boden- und Pflanzenproben wurden Versuche mit Aufstockung durch native und isotoopenmarkierte Standards vorgenommen. Abbildung 40 zeigt beispielhaft ein entsprechendes Massenfragmentogramm für 8:2 FTMAC und den internen Standard ¹³C-10:2 FTOH.

Es gab bei den untersuchten Proben keine Hinweise auf Freisetzung von flüchtigen Fluortelomeralkoholen mit Nachweisgrenzen von ca. 5 µg/kg und kürzerkettigen Fluoracrylaten bei Nachweisgrenzen von ca. 50 µg/kg. Es gab ebenfalls keine Hinweise auf die Freisetzung von signifikanten Mengen an längerkettigen Fluortelomeracrylaten und Fluortelomermethacrylaten bei Nachweisgrenzen von ca. 5 µg/kg. Nur bei einigen Proben waren geringe Gehalte festzustellen, die aber noch unterhalb der Bestimmungsgrenze des Verfahrens lagen.

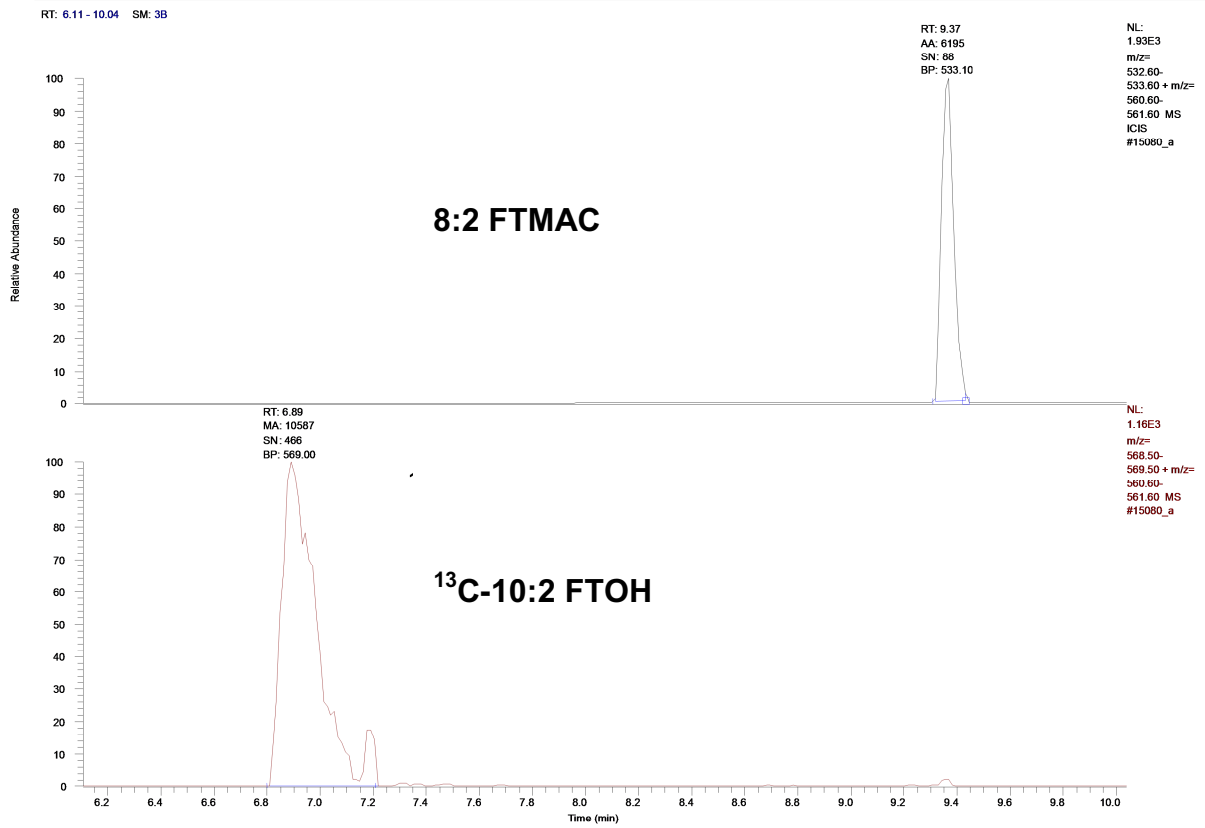


Abbildung 40: Massenfragmentogramm von 8:2 FTMAC und des internen Standards (10:2 FTOH, vierfach ^{13}C -markiert) bei aufgestockter Probe E-WE-B-OG.

Tabelle 32: Ergebnisse der Screeninganalysen auf höhere Fluoracrylate. < BG: unterhalb der Bestimmungsgrenze (BG ca. 15 µg/kg) < BG*: unterhalb der Bestimmungsgrenze (erhöhte BG: 30-150 µg/kg).

Bezeichnung	Konzentration in µg/kg			
	7H-6:1 FTAC	6:2 FTAC	6:2 FTMAC	8:2 FTMAC
E-WE-U-OG Nr.1	< BG*	< BG*	< BG*	< BG*
E-WE-U-OG Nr.2	< BG*	< BG*	< BG*	< BG*
E-WE-U-OG Nr.3	< BG*	< BG*	< BG*	< BG*
E-WE-U-OG Nr.4	< BG*	< BG*	< BG*	< BG*
E-WE-B-OG	< BG*	< BG*	< BG*	< BG*
E-FO-U-GG-Nr.1	< BG	< BG	< BG	< BG
E-FO-U-GG-Nr.2	< BG	< BG	< BG	< BG
E-Hü16-B-GG	< BG	< BG	< BG	< BG
E-MB-U-OT-Nr.1	< BG	< BG	< BG	< BG
E-MB-B-OT-Nr.1	< BG	< BG	< BG	< BG
E-MK-B-GG-Nr.1	< BG	< BG	< BG	< BG
E-MK-B-GG-Nr.2	< BG	< BG	< BG	< BG
E-MK-U-GG-Nr.1	< BG*	< BG*	< BG*	< BG*
E-MK-U-GG-Nr.2	< BG*	< BG*	< BG*	< BG*
E-WG-U-OG	< BG*	< BG*	< BG*	< BG*
E-WG-B-OG	< BG*	< BG*	< BG*	< BG*
E-TS-B-GG	< BG	< BG	< BG	< BG
E-TG-B-GG	< BG	< BG	< BG	< BG
E-TO-U-GG	< BG*	< BG*	< BG*	< BG*
E-TO-B-GG	< BG	< BG	< BG	< BG
E-MB-U-OT-Nr.2 aufgestockt ⁺	28,1	20,7	23,9	27,1
E-MB-B-OT-Nr.2 aufgestockt ⁺	21,7	17,3	15,9	22,5
Blindwert	< BG	< BG	< BG	< BG

⁺ Die Aufstockung erfolgte auf eine Konzentration von 25 µg/kg in der Bodenprobe. Dabei wurden Wiederfindungen zwischen 64% und 112% erreicht.

Nachweis polymerer Vorläufersubstanzen über Thermo-/Hydrolyse zu Fluoracrylaten

Es wurde versucht, den Nachweis polymerer fluorierter Vorläufersubstanzen über Thermo/Hydrolyse zu Fluoracrylaten nach Abtrennung nichtpolymerer fluorierter Vorläufersubstanzen mittels Molmassenauftrennung durch GPC durchzuführen.

Die Systembestimmungsgrenze ergibt sich aus dem kleinsten stabil sichtbaren Standard bei einer Konzentration von 100 ng/mL. Umgerechnet auf die Probenextrakte entspricht das einer Bestimmungsgrenze von ca. 15 µg/kg. Es war keines der untersuchten Fluoracrylate in einer der Proben nachweisbar. Die Ergebnisse zeigen, dass dieses Verfahren zum Nachweis polymerer fluorierter Vorläufersubstanzen nicht zielführend ist.

Eine möglicherweise erfolgversprechendere Durchführung der Thermo-/Hydrolyse bei Temperaturen > 200 °C wäre nicht ohne einen sehr großen Methodenentwicklungsaufwand mit sehr vielen Unwägbarkeiten (Dichtheit der Apparatur, welche Reaktionsprodukte, wie quantifizieren?) möglich gewesen. Als Alternative zur Thermo-/Hydrolyse wurde daher der Nachweis durch oxidative Konversion zu niedermolekularen PFAS untersucht.

Nachweis durch oxidative Konversion zu niedermolekularen PFAS

In Vorversuchen wurde die Anwendbarkeit der Methode mit einem auf Seesand aufgebrauchten fluorhaltigen technischen Papierhilfsmittel überprüft. Der vorextrahierte Seesand wurde mit einer Cartafluor CFI-Lösung (vom Hersteller als „fluorinated acrylic cationic copolymer“ beschrieben) dotiert und anschließend mit HFIP extrahiert. Der Extrakt wurde nach Einengen zur Trockene unter Zugabe von Wasser einer oxidativen Konversion zu niedermolekularen PFAS unterzogen.

Die Vorversuche mit Cartafluor zeigten eine Umwandlung des hochpolymeren Papierhilfsmittels Cartafluor zu PFAA. Die Ausgangsmenge an perfluorierten Polymeren in den simulierten Bodenproben war die Trockenmasse der zudotierten Cartafluorlösung. Bezogen auf die simulierte Bodenprobe steht so einer Ausgangsmenge von 913 mg/kg an Polymeren ein Summengehalt von 8,7 mg/kg an bestimmbareren PFAS gegenüber. Die Anzahl der C-Atome in den Abbauprodukten zeigt eine Verteilung um die C₇-Produkte in Form von PFHpA als häufigstes Produkt. Wie aufgrund der Zusammensetzung zu erwarten, wurde für das Cartafluor CFI keine Bildung von PFSA beobachtet.

Zusätzlich durchgeführte Aufstockungsversuche nach der Extraktion bzw. nach der GPC-Fraktionierung lassen bei einer konstanten Reaktionsausbeute bei der oxidativen Konversion auf mittlere Extraktionsausbeuten des hochpolymeren Papierhilfsmittels von 55 % und Verluste bei der GPC < 40 % schließen. Diese Wiederfindungen sind vermutlich auf Adsorptionsverluste zurückzuführen.

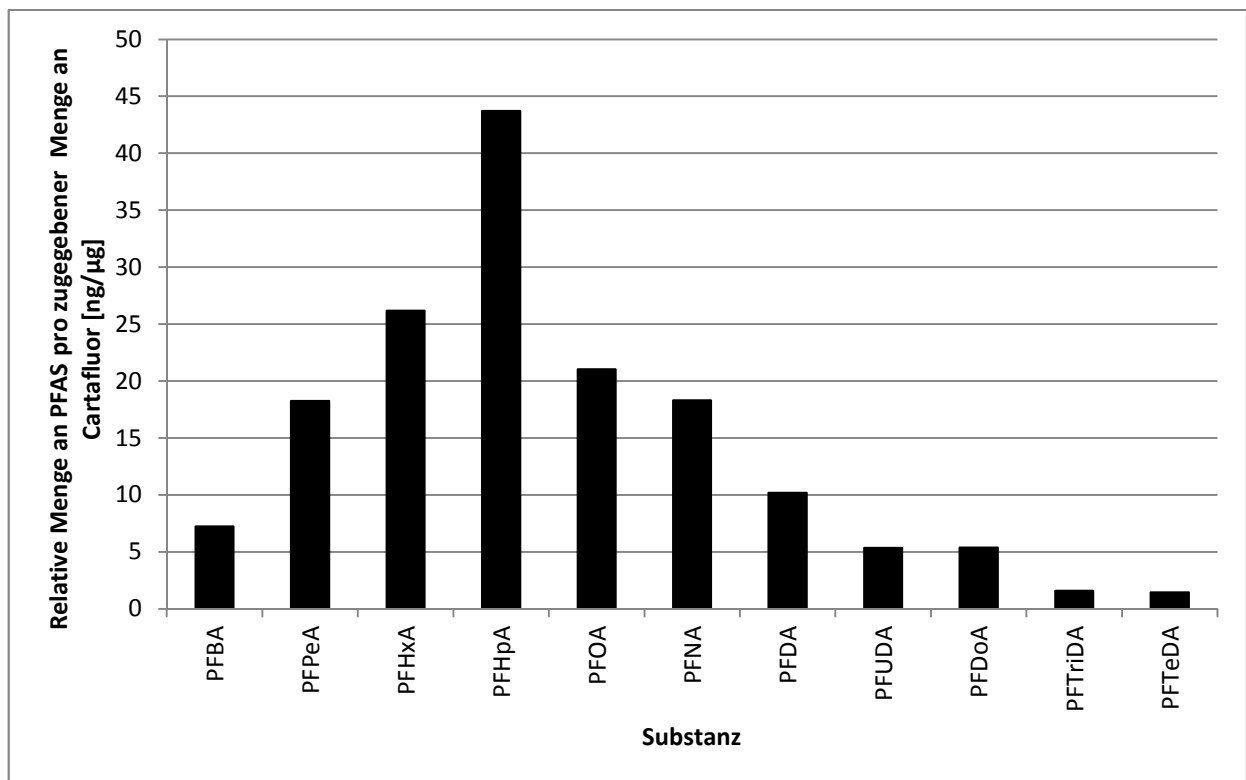


Abbildung 41: Gemessene Gehalte der einzelnen PFAS in dotiertem Seesand, bezogen auf die Trockenmasse der zugegebenen Menge des Papierhilfsmittels Cartafluor.

Im Folgenden sind die Messergebnisse für die sieben nach GPC-Fraktionierung untersuchten Bodenproben aufgeführt (Tabelle 33). Mit der GPC-Fraktionierung werden niedermolekulare Vorgängerverbindungen (< 3000 Dalton) für PFAS abgetrennt, so dass sichergestellt ist, dass die gebildeten PFAS aus höhermolekularen Vorgängerverbindungen gebildet werden.

Es zeigte sich, dass die gemessenen Konzentrationen an PFAS nach der oxidativen Konversion bei zwei Proben (E-ST1d-B-TK und E-FO-U-GG-Nr.2) nur knapp über der Bestimmungsgrenze (Größenordnung von 0,04 µg/kg in der Bodenprobe) bzw. dem Blindwert (Größenordnung von 0,4 µg/kg in der Bodenprobe) liegen. Die Proben NAW, E50-6 und insbesondere WiMP1 zeigten Konzentrationen an PFCA deutlich über der Bestimmungsgrenze und dem Blindwert. Hier ist davon auszugehen, dass entsprechende fluorierte Polymer-Seitenketten als Vorläufer für die Bildung von PFCA zur Verfügung stehen.

Tabelle 33: Messergebnisse für die untersuchten Bodenproben.

Analyt	Konzentration in Bodenprobe in µg/kg							BG
	E-ST1d-B-TK	E-BAD1-M4	E-FO-U-GG-Nr.2	E-Hü1b-B-GG	NAW	E50-6	WiMP1	
PFBA	< BG	0,50	< BG	0,08	< BG	0,71	< BG	0,04
PFPeA	< BG	0,47	< BG	0,03	0,30	1,64	2,41	0,03
PFBS	< BG	0,26	< BG	< BG	< BG	0,35	< BG	0,03
PFHxA	0,66	0,28	< BG	0,13	0,34	0,51	2,38	0,07
PFHpA	0,36	0,44	0,05	0,20	0,82	0,82	4,46	0,03
PFOA	0,31	0,47	< BG	2,15	0,43	0,27	4,49	0,03
PFNA	0,25	0,20	< BG	0,03	0,32	0,20	2,28	0,04
PFOS	< BG	3,73	< BG	4,53	< BG	< BG	0,71	0,04
PFDA	0,28	0,33	< BG	0,20	0,20	0,18	1,18	0,04
Summe	1,87	6,67	0,05	7,35	2,41	4,69	17,91	

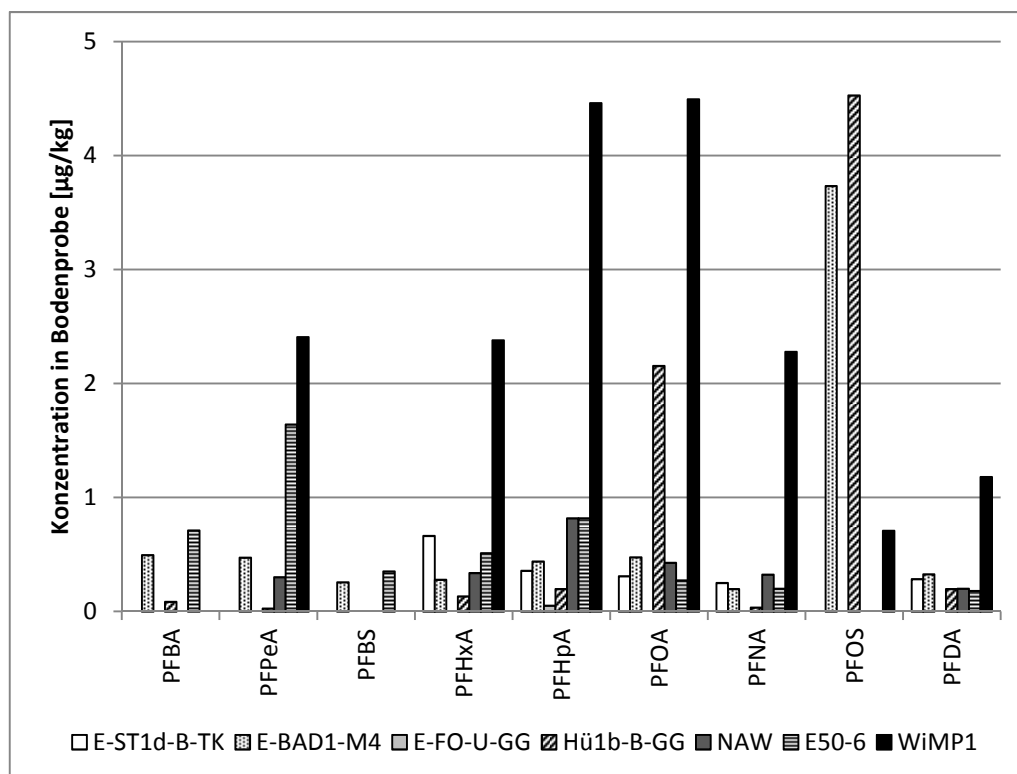


Abbildung 42: Konzentrationen an PFAS in den Bodenproben nach Abzug der Blindwertkonzentrationen.

Zwei der extrahierten und oxidativ konvertierten Bodenproben (E-BAD1-M4 und E-Hü16-B-GG) zeigten zudem erhöhte Gehalte an PFOS, die sich klar von den anderen Verteilungsmustern unterscheiden. Hier ist davon auszugehen, dass entsprechende Vorläufer für die Bildung von PFOS (unverzweigtes Isomer und verzweigte Isomere) zur Verfügung stehen.

Vergleich einer Probe vor und nach GPC-Fraktionierung

Um nachvollziehen zu können, welche Auswirkung die GPC-Abtrennung von niedermolekularen Verbindungen hat, wurden von einer Bodenprobe (E-Hü1b-B-GG) sowohl das GPC-Eluat sowie ein Aliquot des eingengteten Extraktes der oxidativen Konversion und den anschließenden Aufbereitungsschritten unterzogen.

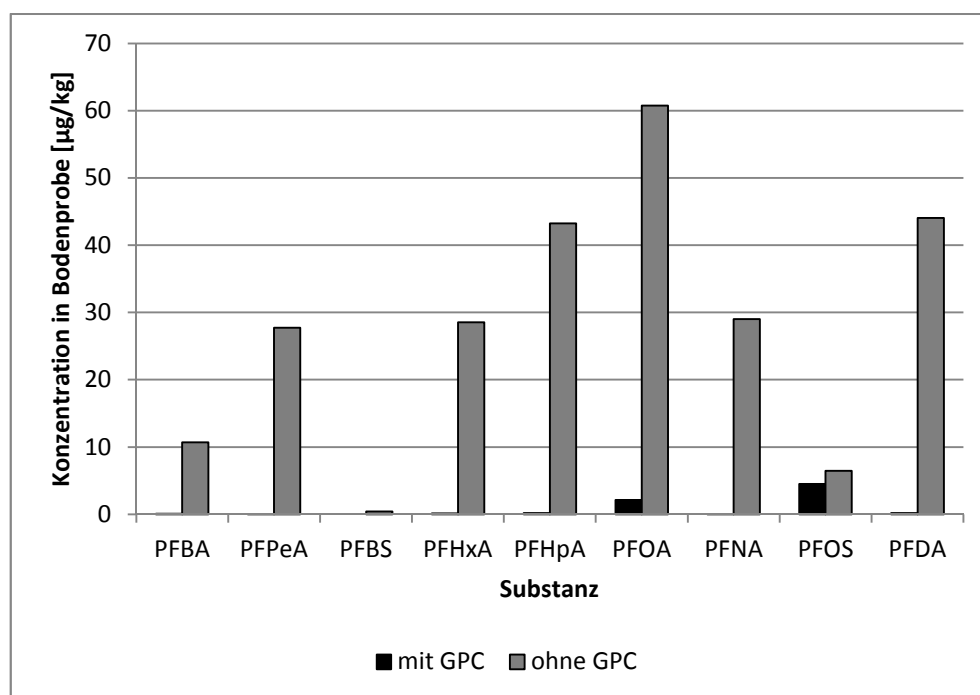


Abbildung 43: Ergebnisse für die Probe E-Hü16-B-GG nach Probenaufbereitung mit (schwarze Balken) und ohne GPC-Fraktionierung (graue Balken) für die untersuchten PFAS.

Der Extrakt ohne GPC-Fraktionierung zeigt durch die Anwesenheit von niedermolekularen Vorläuferverbindungen wie zu erwarten sehr viel höhere Konzentrationen an PFCA mit C₄-C₁₀-Perfluoralkylresten, während die Mengen an PFSA in vergleichbarer Menge auch in der Probe nach GPC-Fraktionierung zu finden sind. Dies deutet daraufhin, dass PFOS aus höhermolekularen Vorläufersubstanzen gebildet wird. Es ist davon auszugehen, dass diese höhermolekularen Vorläufersubstanzen nur durch Extraktion mit HFIP aus Bodenproben zu extrahieren sind, nicht aber durch die beim EOF-Verfahren angewandte methanolische Extraktion.

4.3 Screeningmethoden

4.3.1 Non-Target-Screening

Beim Non-Target-Screening werden mithilfe der hochauflösenden Massenspektrometrie akkurate Massen aller Analyten gemessen, sodass zunächst die Gesamtheit aller mit der verwendeten Methode analysierbaren Substanzen erhalten wird. In weiteren Schritten können die erhaltenen Analysendaten durch verschiedene Kriterien und Parameter so eingegrenzt werden, dass tatsächliche Kontaminanten sichtbar und falsch positive Befunde reduziert werden. Als Parameter wurde hier der negative Massendefekt von polyfluorierten Verbindungen genutzt. Damit konnte die Gesamtheit der gefundenen Analyten im konkreten Schadensfall Rastatt auf mögliche PFAS eingegrenzt werden. Per Definition liegt die akkurate Masse des Kohlenstoffisotops ^{12}C bei exakt 12 Da, die Masse aller anderen Elemente berechnet sich relativ zum Kohlenstoff. Fluor besitzt dadurch eine exakte Masse von 18,998403 Da. Dies führt dazu, dass Kohlenstoff-Fluor dominierte Moleküle insgesamt eine Masse im Bereich $n,90\text{ Da} - n,00\text{ Da}$ besitzen. Mithilfe eines Filters, der alle Massen im Bereich $n,00\text{ Da} - n,90\text{ Da}$ ausblendet, wird eine deutliche Reduktion der Datenmenge auf mögliche PFAS erreicht. Dies wird in Abbildung 44 am Beispiel einer belasteten Bodenprobe aus dem Gebiet Rastatt/Baden-Baden (Probenbezeichnung E-Hü-1b-B-GG) gezeigt, bei der die Anzahl der detektierten Signale (Features) von etwa 5340 auf 869 und damit um mehr als 80 % reduziert werden konnte.

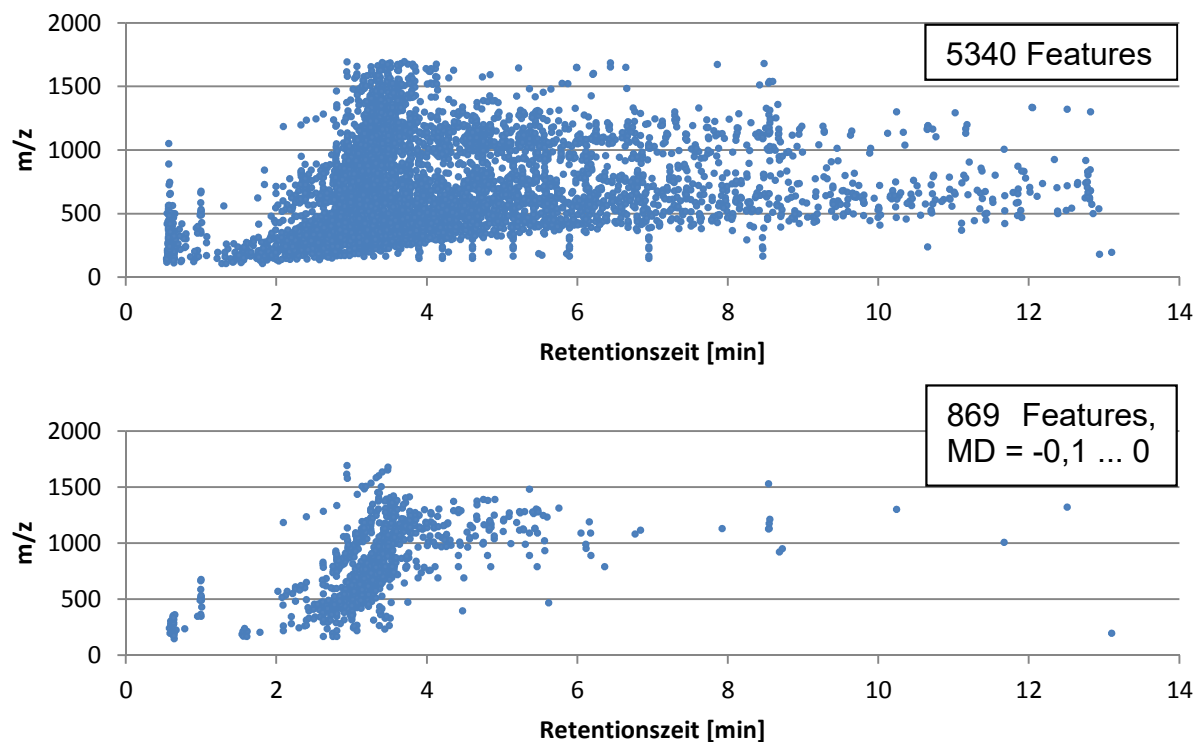


Abbildung 44: Datenreduktion durch Anwendung des Massendefektfilters $n,9$ bis $n,0$ für hochfluorierte und andere Verbindungen mit negativem Massendefekt.

Nicht alle Features müssen jedoch notwendigerweise Fluoratome enthalten, da noch weitere Halogene (Cl, Br, I) und weitere Elemente wie Sauerstoff, Schwefel oder Phosphor zu einem negativen Massendefekt beitragen können. Deshalb sind weitere Kriterien zur Datenreduktion und Auswahl fluorierter Verbindungen notwendig.

Identifizierung homologer Reihen mittels der Kendrick-Massendefektanalyse und dem Programm FindSeries (Matlab)

Ein wichtiges Charakteristikum der PFAS aus technischen Produkten besteht darin, dass von einer Verbindungsklasse häufig mehrere Homologe auftreten, d. h. dass die Länge der fluorierten Alkylkette variiert. Ein einfaches Beispiel hierfür sind die PFCA mit Kettenlängen zwischen 2 und 12 C-Atomen, die sich nur durch die Anzahl der CF_2 -Einheiten unterscheiden und damit homologe Reihen bilden (entsprechend einem Unterschied in der exakten Masse von 49,9968 Da). Auch bei einer Vielzahl weiterer Substanzklassen wie den Fluortelomerphosphorsäurediestern (diPAP), den Perfluorooctansulfonamidoethanolbasierten Phosphorsäureestern (diSAmPAP) oder den Perfluoralkylphosphonsäuren (PFPA) werden homologe Reihen in Produkten angetroffen. Diese Massenunterschiede der jeweiligen CF_2 -Wiederholeinheiten können genutzt werden, um Substanzklassen der PFAS aus den Messdaten herauszufiltern. Dabei sollten die einzelnen Substanzen einer homologen Reihe jeweils diesen Massenunterschied sowie eine systematische Verschiebung der Retentionszeit aufweisen, entsprechend der zunehmenden Kettenlänge und des damit verbundenen zunehmenden Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten (K_{ow}). Diese beiden Eigenschaften können effektiv genutzt werden, um Signale (Features) herauszufiltern, die zu entsprechenden homologen Reihen gehören und damit analoge chemische Grundstruktur repräsentieren.

Um die genannten homologen Reihen aus den gesamten gemessenen akkuraten Massen herauszufiltern, wurde das vollautomatisierte Programm FindSeries in Matlab programmiert, das aus allen gemessenen Massen die enthaltenen homologen Reihen ermittelt. Dabei wird so vorgegangen, dass die Massen aller Features untereinander verglichen werden und geprüft wird, ob der Massenunterschied beider Werte ein Vielfaches der Masse der Wiederholeinheit ist. Dabei können beliebige Wiederholeinheiten definiert werden. Entsprechende Features werden dann zu einer homologen Reihe zusammengefasst und ausgegeben. Dies lässt sich unter dem Stichwort Kendrick-Massendefektanalyse zusammenfassen.

In einem nächsten Schritt fand ein weiterer Abgleich der Massen aus den gefundenen homologen Reihen mit einer umfangreichen Datenbank statt (PFAS-Liste, Trier et al., 2015). Dabei handelt es sich um eine öffentlich zugängliche Datenbank, die Informationen über den Namen, die CAS-Nummer sowie die exakten Massen bereits bekannter PFAS enthält. Diese exakte Masse kann nun mit den gemessenen akkuraten Massen mit einer geringen Toleranz (3 mDa) abgeglichen werden, sodass einzelne oder mehrere Features

der homologen Reihen möglicherweise identifiziert werden können. Abbildung 45 zeigt diese Vorgehensweise in schematischer Darstellung.

Oben genannte Schritte werden durch FindSeries bis zu diesem Punkt automatisiert durchgeführt. Im Anschluss wird manuell geprüft, a) ob es sich bei den gefundenen Features der homologen Reihen tatsächlich um chromatographische Peaks oder um Artefakte handelt und b) ob die einzelnen Features einer homologen Reihe eine systematische Verschiebung der Retentionszeit aufweisen. Durch diese manuellen Schritte wird die entsprechende homologe Reihe zusätzlich verifiziert.

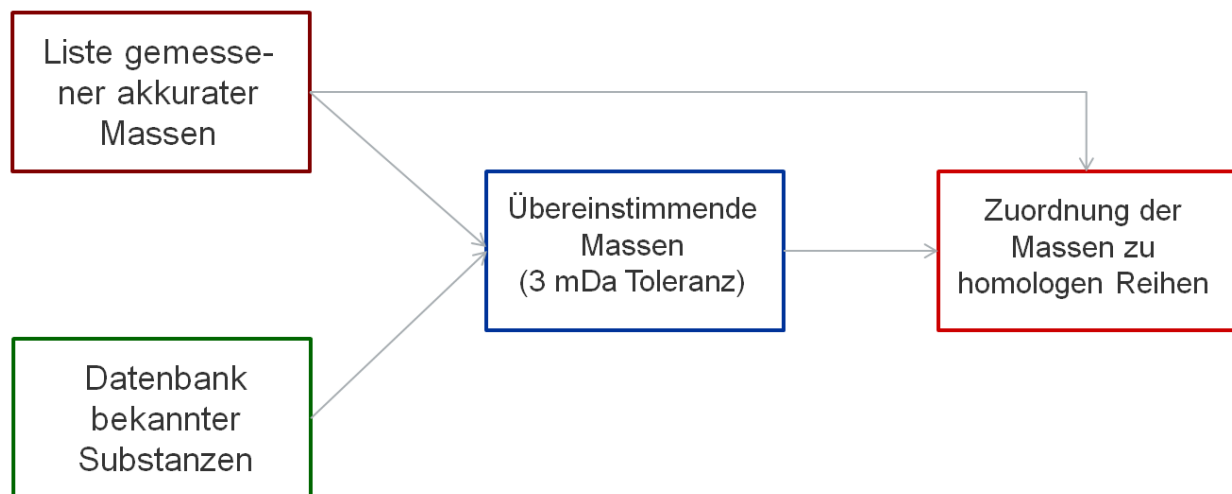


Abbildung 45: Schematisches Vorgehen bei der Datenauswertung durch FindSeries.

Optimierung der Extraktionsmethode für Bodenproben

Für das Non-Target-Screening sollten eine generische Extraktions- sowie Messmethode angewendet werden, um ein möglichst breites Spektrum der Analyten abbilden zu können. Dabei sind beim generischen Ansatz Kompromisse einzugehen, da gegenüber der optimierten Einzelstoffanalytik oft gegensätzliche Parameter bei der Probenvorbereitung und den Betriebsbedingungen des Messgeräts für einzelne Analyten optimal wären. Zu Beginn stand die Optimierung der Extraktion im Vordergrund, da diese für alle weiteren Schritte ausschlaggebend ist. Zunächst wurden nach Literaturangaben die folgenden unterschiedlichen Extraktionsansätze an der kontaminierten Bodenprobe von Hügelsheim getestet:

1. Extraktion mit reinem MeOH
2. Extraktion mit MeOH / 1 % Essigsäure (Higgins et al., 2005)
3. Extraktion mit 60 % ACN / 40 % 0,2 M NaOH (Guo et al., 2016)
4. Extraktion mit MTBE (Guo et al., 2016)

Hierfür wurden 5 g des kontaminierten Bodens aus Hügelsheim mit der Probenbezeichnung E-Hü-1b-B-GG in ein Zentrifugenröhrchen aus Polypropylen eingewogen und jeweils 2-fach mit 10 mL des entsprechenden Lösemittels extrahiert. Dazu wurden die Röhrchen geschüttelt und im Ultraschallbad behandelt. Der Boden wurde anschließend bei 4000 g für 10 min abzentrifugiert, die Überstände der 2-fach Extraktion vereint, mit Stickstoff auf ein Volumen kleiner als 1 mL eingengt, und mit MeOH auf 1 mL aufgefüllt. Bei einzelnen Proben wurden durch die Reduktion des Lösemittels geringfügige Mengen eines Niederschlags sichtbar, der zum Schutz der Analysegeräte nochmals abzentrifugiert wurde (10 min, 4000 g).

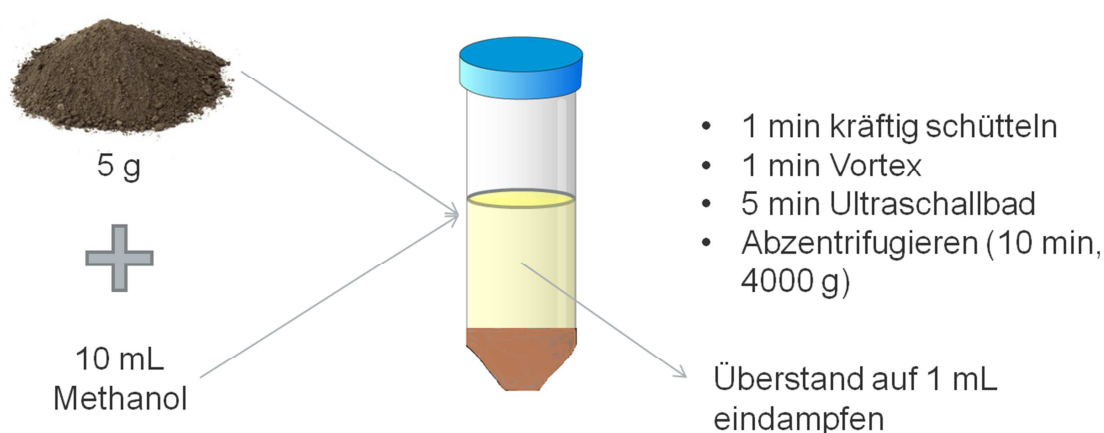


Abbildung 46: Schematische Darstellung der Bodenextraktion.

Die verschiedenen Extraktionsansätze 1 (MeOH), 2 (MeOH sauer), 3 (ACN basisch) und 4 (MTBE) wurden dann mit LC-ESI-QTOF-MS analysiert. Mit der Auswertesoftware MassHunter Qualitative Analysis (Agilent) wurde die Molecular Feature Extraction (MFE) durchgeführt, die für jede detektierbare Substanz (Feature) die relevanten chromatographischen und massenspektrometrischen Informationen extrahiert. Dabei wurde der Massendefektfilter im Bereich $n,9$ bis $n,0$ angewendet. Für die vier Methoden wurden anschließend die Anzahl der Features sowie der gefundenen homologen Reihen (CF_2 -Wiederholeinheiten mit einer Toleranz von 3 mDa) durch das Matlab Programm FindSeries verglichen. Dabei ergaben sich folgende Ergebnisse (Tabelle 34).

Tabelle 34: Vergleich der verschiedenen Extraktionsmethoden der kontaminierten Bodenprobe E-Hü-1b-B-GG nach Anzahl der Features homologer Reihen (CF_2 -Einheiten).

	1 MeOH	2 MeOH/HAc	3 ACN / NaOH	4 MTBE
Features	5340	1105	1866	4380
CF_2 -Reihen	744	86	192	524

Die Ergebnisse zeigen, dass reines MeOH als Extraktionsmittel die meisten Features und auch die meisten homologen Reihen erzielt. Für alle nachfolgenden Extraktionen wurde dementsprechend MeOH zur Extraktion der zu messenden Böden verwendet.

Optimierung der Extraktionsmethode (Pflanzenproben)

Obwohl sich reines MeOH als effektivstes Extraktionsmittel bei den Bodenproben herausstellte, musste bei den Pflanzenproben eine andere Herangehensweise angewandt werden. Bei den Pflanzenextrakten handelt es sich um komplexe Matrices, die zahlreiche Substanzen wie Proteine, Salze und Fette aufweisen können. Diese Stoffe können mit den Analyten während der chromatographischen Trennung oder der Detektion wechselwirken und sind daher im Extrakt unerwünscht (Souverain et al., 2004). ACN stellt ein effektives Extraktionsmittel dar, das generell weniger Matrixkomponenten extrahiert (Polson et al., 2003).

Um die Extraktionsmethode zu validieren, wurden sämtliche Proben sowohl direkt (A-Probe) als auch nach Zudotieren eines analytischen Standardgemisches (B-Probe) aufgearbeitet. Analog zu den Bodenproben wurden 5 g des Pflanzenmaterials in Zentrifugenröhrchen aus Polypropylen eingewogen, die B-Probe wurde mit 10 ng einer PFAS-Mischung (diSAmPAP, 6:2/8:2 diPAP, 8:2 monoPAP, EtFOSAA, PFOS, 8:2 FTCA, C8-PFPA, 8:2 FTUCA, 6:2 FTSA) aufdotiert. Ursprüngliche und dotierte Proben wurden dann gleichbehandelt und mit 10 mL ACN 2-fach extrahiert. Das Extrakt wurde geschüttelt, im Ultraschallbad behandelt, abzentrifugiert (10 min, 4000 g) und die Überstände der 2-fachen Extraktion vereinigt. Anschließend wurde mit Stickstoff bis zur Trockene eingengt und das Extrakt in 1 mL MeOH rückgelöst. Um weitere Matrixbestandteile wie Chlorophyll zu entfernen, wurden die Extrakte einem weiteren Clean-up-Schritt mit einer Spatelspitze Aktivkohle (Hydraffin P 800, Donau Carbon GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland) unterzogen. Die Vials wurden für etwa zwei Minuten geschüttelt, die Aktivkohle anschließend abzentrifugiert (10 min, 4000 g) und der Überstand für die Messung verwendet. Für die zudotierten PFAS errechnet sich eine Endkonzentration von 10 µg/L, die jeweils mit der direkten Messung eines 10 µg/L-Standards verglichen werden konnte.

Trotz der Aufreinigung mit Aktivkohle stellte das Weidelgras eine größere Herausforderung dar, da trotz des Clean-up noch eine deutliche Grünfärbung durch Chlorophyll auftrat. In einem weiteren Versuch wurde der Weidelgras-Extrakt durch die QuEChERS-Methode (Quick Easy Cheap Effective Rugged Safe) erneut extrahiert (Yu et al., 2015). Dazu wurden 5 g der Pflanzenprobe eingewogen und mit 10 mL Wasser, 10 mL ACN sowie 30 µL HCl versetzt. Aufgrund der Probenbeschaffenheit war eine weitere Zugabe von 10 mL ACN notwendig. Anschließend wurde die Probe geschüttelt sowie im Ultraschallbad behandelt. Nach Zentrifugieren (10 min, 4000 g) wurde der Überstand mit 10 mg Aktivkohle, 60 mg Polymer mit primären und sekundären Amingruppen (PSA Silica, Supelco, Bellefonte, USA) sowie 40 mg C18-Material (Bulk Isolute Sorbent C18, Mean Particle Size 40 – 70 µm, Average Pore Size 60 µm. International Sorbent Technology Ltd, Hengoed,

UK) gereinigt. Dadurch konnte eine deutliche Reduktion der Pflanzenmatrix erzielt und ein messbereites Extrakt des Weidelgrases erhalten werden.

Extraktion der Papierproben

Die vom Projektpartner IVV zu Verfügung gestellten Papierproben wurden für einen Vergleich mit der Bodenprobe extrahiert. Dazu wurde eine definierte Größe des Papiers (je nach Papier 50 cm² – 300 cm²) ausgeschnitten und mit 50 mL MeOH über Nacht geschüttelt sowie im Ultraschallbad behandelt. Anschließend wurde der Extrakt am Rotationsverdampfer auf ein Volumen kleiner als 5 mL und weiter mit Stickstoff auf kleiner als 1 mL eingedampft und auf 1 mL aufgefüllt.

Ergebnisse

Die Methodik der Messung und Identifizierung von PFAS über den Non-Target-Screening-Ansatz wurde am Beispiel von ausgewählten analytischen Standardverbindungen, von Extrakten von imprägnierten Papierprodukten und der kontaminierten Bodenprobe von Hügelsheim (E-Hü-1b-B-GG) entwickelt und erprobt. Danach wurden die Methodik und die damit nachgewiesenen Analyten auf andere Proben übertragen. Deshalb wird im Folgenden zunächst auf die kontaminierte Bodenprobe Hügelsheim eingegangen.

Im hoch belasteten Boden aus Hügelsheim konnte eine Vielzahl an Stoffklassen detektiert werden. Dazu wurden die 869 Features mit negativem Massendefekt auf homologe Reihen mit den Wiederholeinheiten -CF₂-, -CF₂O- und -C₂F₄O- untersucht. Dabei wurden 128 unterschiedliche homologe Reihen mit -CF₂-, 149 homologe Reihen mit -CF₂O- und 142 Reihen mit -C₂F₄O- Wiederholeinheiten aus dem Datensatz mit einer Toleranz von 5 mDa extrahiert. Die Ausgabe des Skripts FindSeries fordert zunächst keine minimale Anzahl an Homologen, sodass auch Reihen mit nur zwei Vertretern berücksichtigt werden. Damit enthält der Datensatz noch viele falsch positive Treffer. Werden alle homologe Reihen mit mindestens drei Vertretern betrachtet, ergeben sich 69 Reihen für -CF₂-, 65 Reihen für -CF₂O- und 57 Reihen für -C₂F₄O- Wiederholeinheiten. Die Ergebnisse werden anhand von Beispielen in Tabelle 35 dargestellt.

Tabelle 35: Ausgabe von homologen Reihen mit FindSeries für fünf ausgewählte Substanzklassen (Angabe der Massen als *m/z*).

Row 9 <i>m/z</i>	952.98571	1002.9832	1052.98	1102.9756	1152.9741	1202.9717	1252.968	1302.965											
Row 9 Names				diSAmPAP		diSAmPAP													
Row 101 <i>m/z</i>	688.9813	788.975	888.969	988.9627	1088.9563	1188.9502	1288.9429	1388.938	1488.932										
Row 101 Names		diPAP	diPAP	diPAP	diPAP	diPAP	diPAP	diPAP	diPAP										
Row 111 <i>m/z</i>	342.9799	392.9766	442.9703	492.9703	542.9671	592.9633	642.9521	692.9569	742.9537	792.9515	842.9483								
Row 111 Names						monoPAP		monoPAP		monoPAP									
Row 115 <i>m/z</i>	344.9788	394.9762	444.973	494.9697	544.9655	594.9623	644.9596	694.9565	744.9516	794.9505	844.9473	894.9445	944.9411	994.9363	1044.935				
Row 115 Names	2H-PFCA		2H-PFCA		2H-PFCA														
Row 124 <i>m/z</i>	398.9364	448.9331	498.9304	498.934	548.9272	598.9238													
Row 124 Names	PFSAs	PFSAs	PFSAs	PFSAs	PFSAs	PFSAs													

Die Bestätigung der homologen Reihen wurde über die Suche nach systematischen Retentionszeitverschiebungen durchgeführt. Dabei wurde eine nahezu lineare Korrelation zwischen der Retentionszeit und der Anzahl an CF_2 -Einheiten für das verwendete Gradientenprogramm gefunden (Abbildung 47). Die Chromatogramme mit den Massenspuren der diPAP-Homologen sind in Abbildung 48 dargestellt. Deutlich erkennbar ist die systematische Zunahme der Retentionszeit mit der Zunahme der Kettenlänge. Produktionsbedingt enthalten die diPAP-Produkte keine ungeraden Kettenlängen. Homologe mit größeren Kettenlängen von 8:2 und 10:2 zeigen jedoch co-eluierende Peaks, die auf lineare Fluortelomer-Ketten unterschiedlicher Länge zurückzuführen sind (z. B. Koelution von 8:2/8:2 sowie 6:2/10:2 diPAP). Die co-eluierenden Peaks wurden im hier durchgeführten Screening jeweils als eine Komponente betrachtet. Zusätzlich werden auf den Massenspuren der 4:2/6:2- bis 8:2-diPAPs zwei bis vier zusätzliche Peaks bei sehr viel längeren Retentionszeiten nachgewiesen. Diese Signale stammen von triPAP, die durch Fragmentierung in der ESI-Quelle und in der Einlassregion des Massenspektrometers (In-Source-Fragmentierung) unter Verlust einer FT-Kette entstehen und als diPAP messbar sind. Dementsprechend ist die ursprüngliche Kettenlänge der Homologen nicht bestimmbar. Weitere Chromatogramme für Homologe der monoPAP, diSAmPAP, PFCA, PFSA bestätigen diese Aussagen und sind in Abbildung 49 dargestellt.

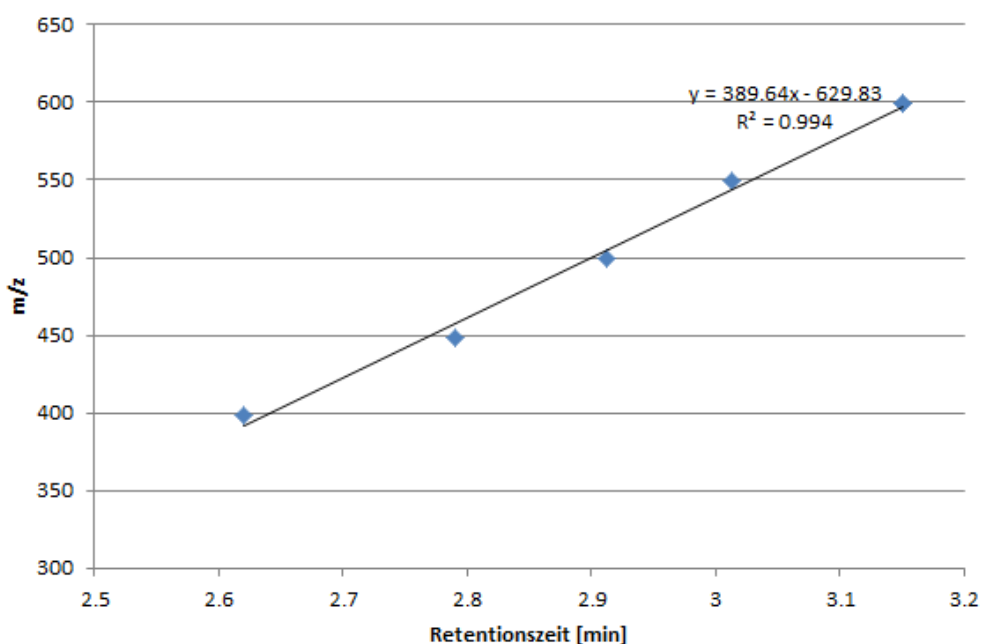


Abbildung 47: Retentionszeitverlauf der gefundenen PFSA. Ein nahezu linearer Zusammenhang zwischen Retentionszeit und Kettenlänge ist erkennbar.

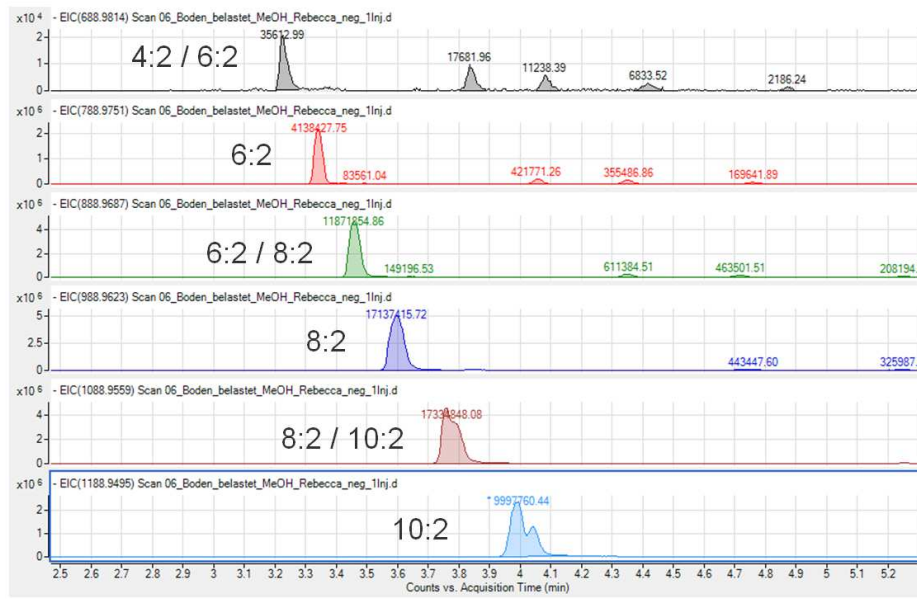


Abbildung 48: Chromatogramme der Massenspuren für diPAP-Homologe. Die systematische Verlängerung der Retentionszeit mit zunehmender Kettenlänge ist deutlich erkennbar.

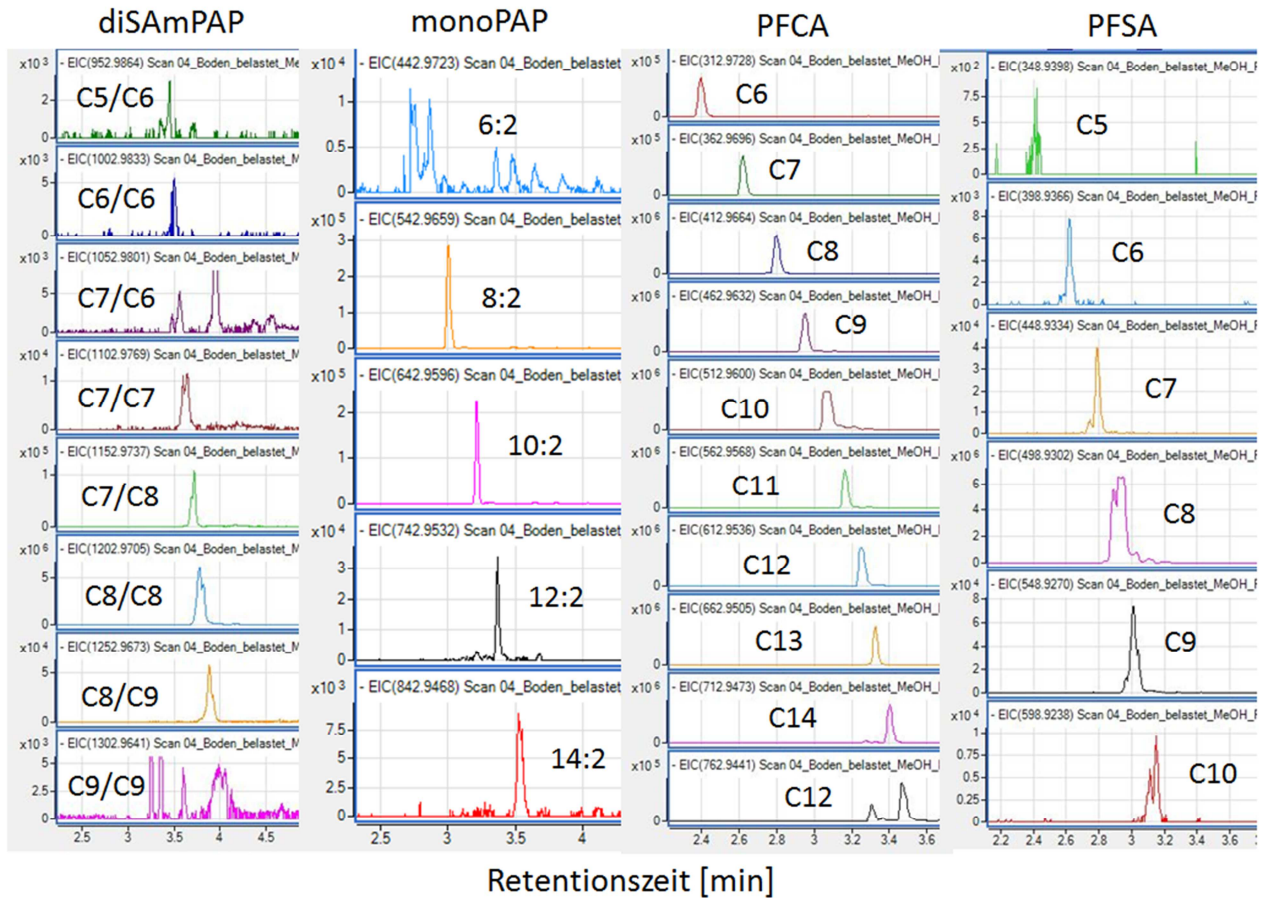


Abbildung 49: Chromatogramme mit den Massenspuren der einzelnen Vertreter der Stoffklassen diSAmPAP, monoPAP, PFCA, PFSA.

Sämtliche Funde, die mithilfe der oben genannten Vorgehensweise identifiziert werden konnten, sind in zusammengefasst. Mit dem Non-Target-Screening-Ansatz konnten insgesamt mehr als 108 Substanzen 17 unterschiedlichen PFAS-Klassen zugeordnet werden. Vertreter einer homologen Reihe lassen sich mit nur einem authentischen Standard verifizieren. Somit konnte die Identifizierung von 83 Substanzen aus 9 homologen Reihen mit entsprechenden Referenzstandards bestätigt werden. In Tabelle 36 ist dies in der Spalte Bestätigung mit „Standard“ gekennzeichnet. Für andere homologe Reihen wurde ein niedrigeres Identifizierungs-Level erreicht, das auf der akkuraten Masse und den systematischen Retentionszeitverschiebungen basiert. Ein Abgleich mit einem Referenzstandard konnte bisher noch nicht durchgeführt werden. Diese Substanzklassen sind mit „Homologe Reihe“ gekennzeichnet.

Auffällig ist die hohe Anzahl von Homologen der PFCA mit 17 Vertretern, mit 6 der n:3 PFCA, mit 15 der 2H-PFCA, mit 10 der FTUCA. Diese sind als typische Abbauprodukte von Präkursoren, die FTOH oder Perfluorcarbonsäurederivate enthalten, bekannt. Homologe, die sich von Sulfonsäuren und Sulfonsäureamiden ableiten, werden mit geringerer Variation der Kettenlänge gefunden. Somit treten von PFSA nur fünf Homologe auf, von den Perfluoralkansulfonamiden (FASA) sieben, von EtFASAA vier und jeweils nur ein Homologes der MeFASA und der EtFASA.

Tabelle 36: Identifizierte Substanzklassen und deren Homologe in der kontaminierten Bodenprobe Hügelsheim (E-Hü-1b-B-GG). Für die Identifizierung war ein Referenzstandard für mindestens einen Vertreter der homologen Reihe vorhanden (Standard), oder die vorläufige Identifizierung basiert auf akkurater Masse und einer systematischen Retentionszeitverschiebung (Homologe Reihe). Ausgabe von homologen Reihen mit FindSeries für fünf ausgewählte Substanzklassen (Angabe der Massen als *m/z*).

Substanzklasse	Anzahl Vertreter	Massenbereich	Identifizierung
PFCA	17	263 - 1013	Standard (PFOA)
PFSA	5	399 - 599	Standard (PFOS)
FTUCA	10	357 - 857	Standard (8:2 FTUCA)
FASA	4	398 - 648	Standard (FOSA)
diPAP	9	689 - 1489	Standard (6:2/8:2)
PFPIA	4	751 - 901	Homologe Reihe
n:2 FTCA	3	427 - 527	Standard (8:2 FTCA)
n:3 Säure	6	391 - 641	Standard (7:3 Säure)
PFAL	6	297 - 547	Homologe Reihe
MeFASA	1	512	Keine Homologen
EtFASA	1	526	Keine Homologen
diSAmPAP	8	953 - 1303	Standard (C8)
monoPAP	11	343 - 843	Standard (8:2)
EtFASAA	4	534 - 684	Standard (C8)
2H-PFCA	15	345 - 1045	Homologe Reihe
triPAP	>4	n.b.	Homologe Reihe
Polyfluorpolyether	4	1071 - 1221	Homologe Reihe

n.b. nicht bestimmbar

Als bedeutende Präkursoren sind hier die diPAP und die diSAmPAP mit jeweils 9 bzw. 8 Homologen zu nennen. Die diPAP enthalten fluorierte, veresterte Fluortelomeralkohole (FTOH), die diSAmPAP Seitenketten auf Perfluorsulfonamidoethanol-Basis. Beim aeroben Abbau von FTOH wurden bereits PFCA, 2H-PFCA, FTUCA und n:3 PFCA nachgewiesen, die unter Decarboxylierung und Verlust von Fluorid auch verkürzte Kettenlängen aufweisen (Abbildung 50; Liu und Mejia Avendaño, 2013; Washington et al., 2015). Dies spiegelt sich sehr gut in den Bodenextrakten der Probe Hügelsheim wider, wobei das Substanzmuster jeweils zusätzlich durch die Verteilungskoeffizienten Wasser-Boden für unterschiedliche Kettenlängen der Homologen überprägt wird. So sind kurzkettige PFAS mobiler als deren langkettige Homologe und werden daher stärker aus dem Boden ausgewaschen. Im Boden wird entsprechend eine Verschiebung des Homologenmusters zu den langkettigen Homologen gefunden. 2H-PFCA wurden aufgrund fehlender Standardsubstanzen über einen positiven Match mit einem Literaturspektrum für 2H-PFDA bestätigt (Liu et al., 2015).

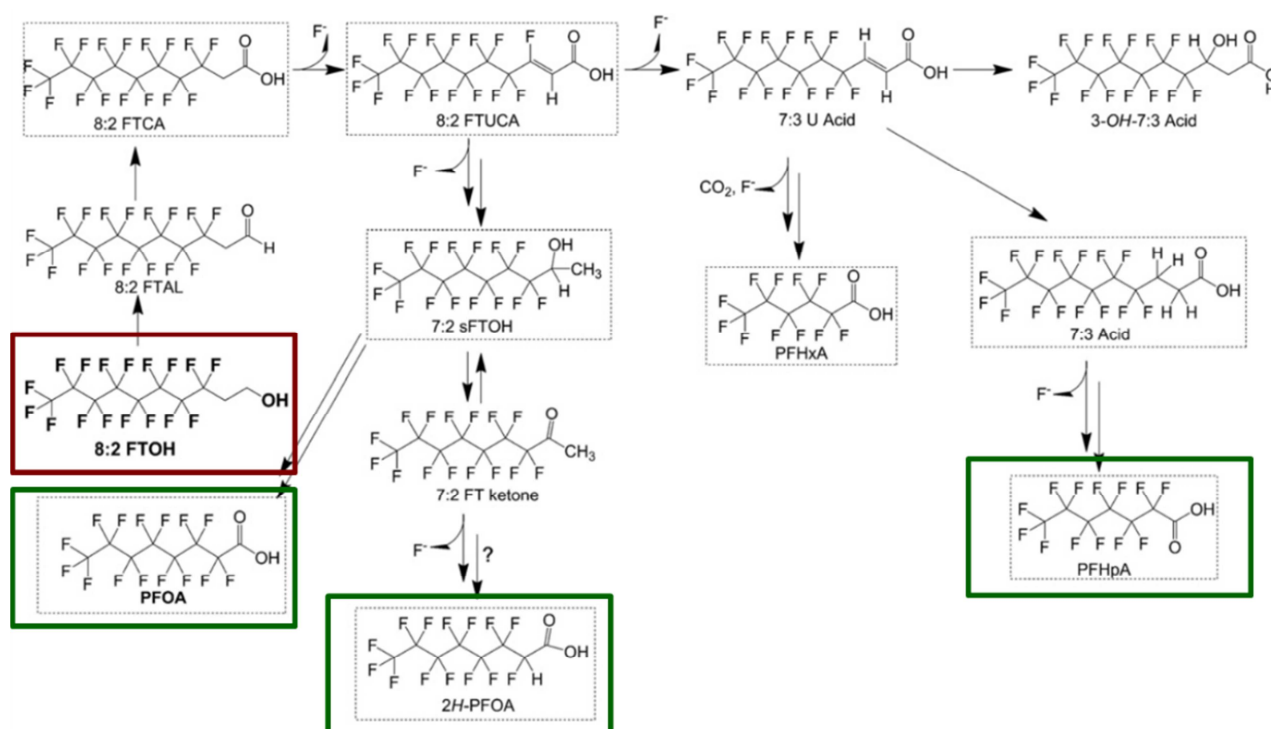


Abbildung 50: Aerober Abbau von 8:2 FTOH in Böden (nach Liu und Mejia Avendaño, 2013)

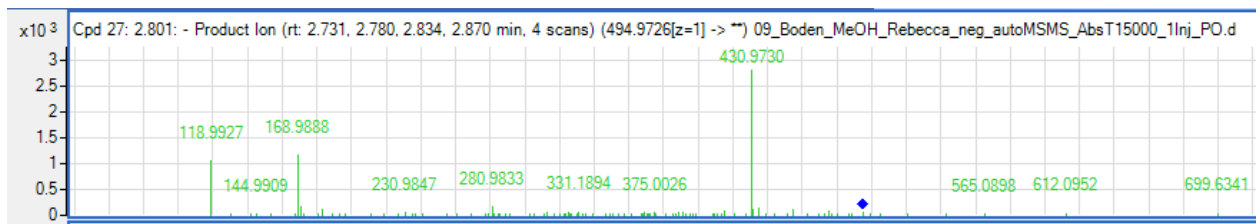
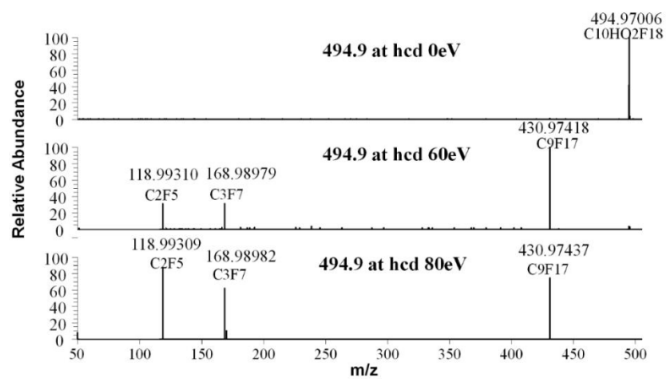
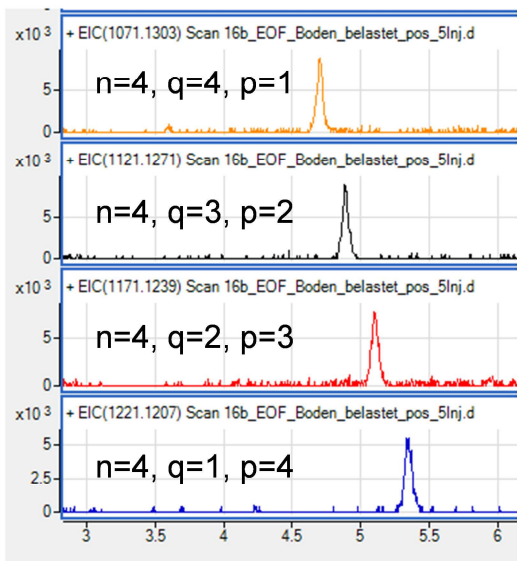


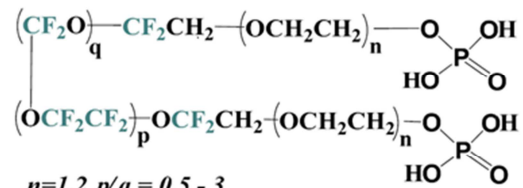
Abbildung 51: Oben: MS/MS-Spektrum von 2H-PFDA (Liu et al., 2015). Unten: MS/MS Spektrum (20 eV) der kontaminierten Bodenprobe E-Hü-1b-B-GG (Peak bei RT = 2,73 min), das mit dem Spektrum von 2H-PFDA übereinstimmt.

Die Perfluoralkansulfonamidderivate mit Perfluoroctansulfonamidethanol (EtFOSE) und den entsprechenden Phosphorsäurediestern (SAmPAP) als wichtigsten Vertretern können nur sehr langsam über mehrere Zwischenprodukte zu PFOS abgebaut werden. Für den Abbau mit Bakterien aus marinen Sedimenten wurden Halbwertszeiten von 160 Tagen für EtFOSE bei 4 °C und von mehr als 380 Tagen für SAmPAP bei 25 °C abgeschätzt (Benskin et al., 2013). Die langsame Transformation der Präkursoren hilft die hohen Steady-State-Konzentrationen von PFSA und EtFASAA zu erklären, auch wenn die Kontamination schon 10 Jahre zurückliegt.

Ebenso konnten aus dem Datensatz des Bodens E-Hü-1b-B-GG Polyfluorpolyether-Homologe mit den Wiederholeinheiten -CF₂O- bzw. -C₂F₄O- extrahiert werden. Hier kann als Beispiel das Produkt Fomblin HC/P2 1000 genannt werden, das zur Imprägnierung von Papier in der Lebensmittelindustrie verwendet wird (Trier et al., 2011). Anhand einer bekannten Strukturformel und den variablen Wiederholeinheiten wurde nach den entsprechenden Massen gesucht und für vier verschiedene Vertreter chromatographische Peaks mit systematischer, linearer Retentionszeitverschiebung gefunden. Dieses Beispiel ist in Abbildung 52 dargestellt.



Fomblin



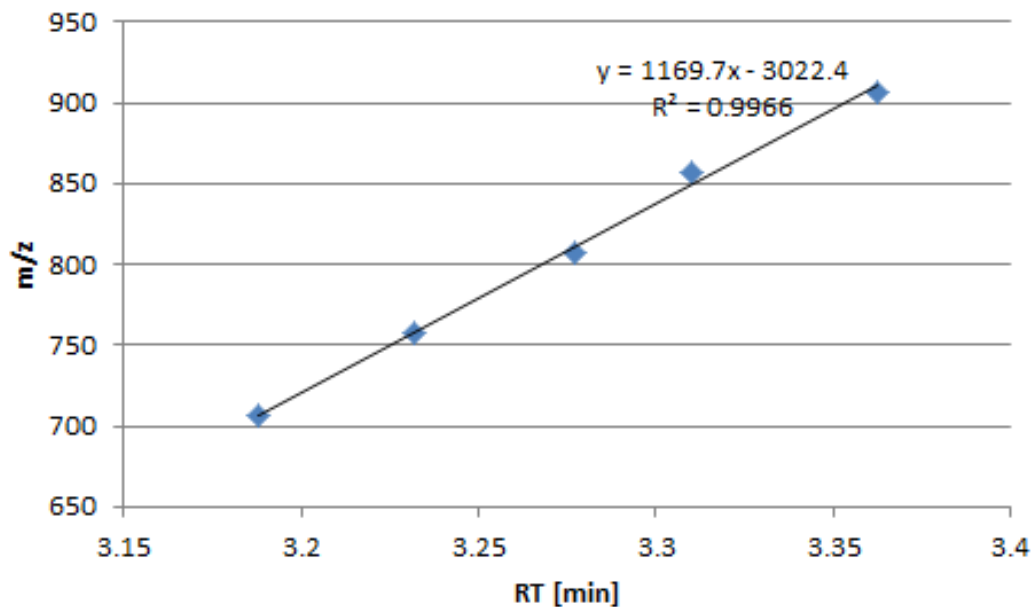
$$n=1,2 \quad p/q = 0.5 - 3$$

Polyfluoropolyether (PFPE) di-(monophosphate,
Fomblin, HC/P2 1000 (food paper grease/water
repellant)

→ Zunahme p/q Verhältnis

Abbildung 52: Chromatogramme mit den Massenspuren für Polyfluorpolyether und Strukturformel des technischen Produkts Fomblin HC/P2 1000, sichtbar ab 50 ppm Extraktionsgenauigkeit.

Darüber hinaus wurden in der Probe E-Hü-1b-B-GG weitere homologe Reihen ermittelt, deren Vertreter eine systematische Retentionszeitverschiebung aufweisen, aber bislang noch keiner Stoffgruppe zugeordnet werden konnten (s. Beispiel in Abbildung 53).



Row 16 m/z	856.9182	756.9243	806.9217	906.9146	706.9281
Row 16 RT	3.31	3.232	3.277	3.362	3.188

Abbildung 53: Nicht identifizierte homologe Reihe, deren Vertreter eine systematische Retentionszeitverschiebung aufweisen.

Da Papierschlämme als mögliche Kontaminationsquelle in Betracht kommen, wurden zur Ermittlung des Substanzspektrums von PFAS Analysen verschiedener imprägnierter Papierproben aus den Jahren 2000 bis 2008 (vom Projektpartner IVV zur Verfügung gestellt) nach Lösemittelextraktion durchgeführt. Generell zeigten die Analysen zwei Hauptproduktklassen, die sich durch diPAP dominierte und diSAmPAP dominierte Produkte charakterisieren lassen. Diese Substanzklassen wurden in einer Vielzahl der untersuchten Papierproben wie in den Bodenproben ermittelt. Für die Substanzklasse der diPAP wird in den untersuchten Papierproben beispielsweise ein ähnliches Homologemuster mit 6:2 bis 12:2 diPAP und deren relativer Intensitätsverteilung wie im kontaminierten Boden Hügelsheim nachgewiesen (Abbildung 54). Dies ist ein weiterer Hinweis auf den sehr persistenten Charakter der diPAP im Boden.

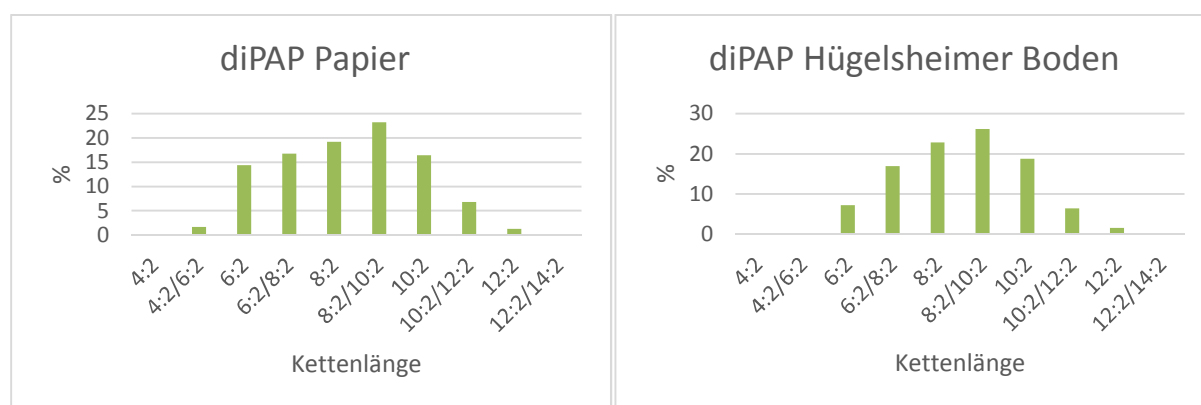


Abbildung 54: Vergleich von diPAP-Homologen in Papier- und Bodenproben.

Um die qualitativen Ergebnisse der Bodenprobe Hügelsheim E-Hü-1b-B-GG zu priorisieren, wurden die gemessenen Signalintensitäten der identifizierten PFAS berücksichtigt. Aufgrund einer generell breiten Spannweite an Responsefaktoren kann die Signalintensität jedoch nicht mit der Konzentration gleichgesetzt werden. Für eine Priorisierung der identifizierten Substanzen kann die Signalintensität beim Screening als erster Anhaltspunkt dienen, da zunächst keine Kalibrierstandards und keine Kalibrierung zugrunde liegen. Abbildung 55 zeigt die prozentualen Intensitäten der detektierten Stoffklassen mit den höchsten Intensitäten im Vergleich. Daraus wird ersichtlich, dass diPAP, PFCA, H-PFCA, PFSA und diSAmPAP wichtige Substanzklassen in dem methanolischen Extrakt dieses kontaminierten Bodens und damit wichtige Beiträge zum EOF darstellen.

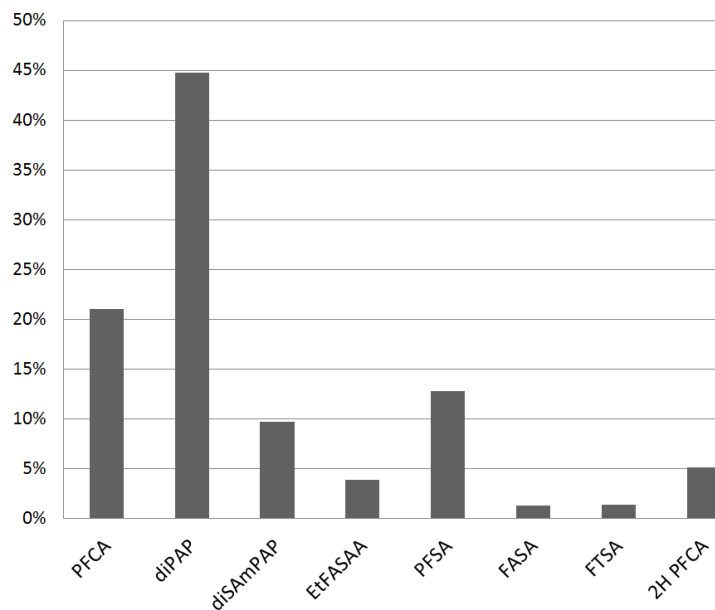


Abbildung 55: Prozentuale Intensitätsverteilung der Stoffklassen mit den höchsten Signalintensitäten.

Für eine quantitative Abschätzung lag daher der Fokus auf der Substanzklasse der diPAP, die von allen Einzelsubstanzen einen dominierenden Anteil am gesamten EOF ausmachten. Bisher wurden vom Projektpartner TZW die diPAP-Homologen 6:2, 6:2/8:2 und 8:2 quantitativ bestimmt. Aus dem Non-Target-Screening wurden 7 weitere Homologe mit zum Teil hohen Signalintensitäten ermittelt, die bisher noch nicht in der EOF-Bilanz berücksichtigt werden konnten (Abbildung 56).

Da für diese diPAP keine authentischen Standardsubstanzen verfügbar waren, wurde durch Extrapolation der Responsefaktoren der quantifizierten diPAPs eine Konzentration abgeschätzt. Die Annahme ähnlicher Responsefaktoren innerhalb einer Substanzklasse konnte für 6:2 und 8:2 diPAP durch Vergleich der Signalintensitäten mit den vom Projektpartner bestimmten Konzentrationen gezeigt werden. Abbildung 56 zeigt jeweils für 6:2 und 8:2 diPAP die Intensitätsverhältnisse (grau) im Vergleich zu den Konzentrationsverhältnissen (rot) und damit einen einheitlichen Responsefaktor für beide diPAP. Mit diesem Responsefaktor wurden die Konzentrationen der sieben weiteren diPAP abgeschätzt. Für drei diPAP (6:2; 8:2/10:2, 10:2) wurden Konzentrationen zwischen 100 µg/kg und 170 µg/kg abgeschätzt (Abbildung 56). Damit wurde ein deutlicher Beitrag zur Gesamtbelastung gezeigt. Für die abgeschätzte Summe der Konzentrationen der gemessenen diPAP wurden etwa 620 µg/kg gefunden, wobei hauptsächlich die diPAP mit den Kettenlängen 6:2 bis 10:2/12:2 beitrugen. Damit konnte ein weiterer Anteil des EOF erklärt werden.

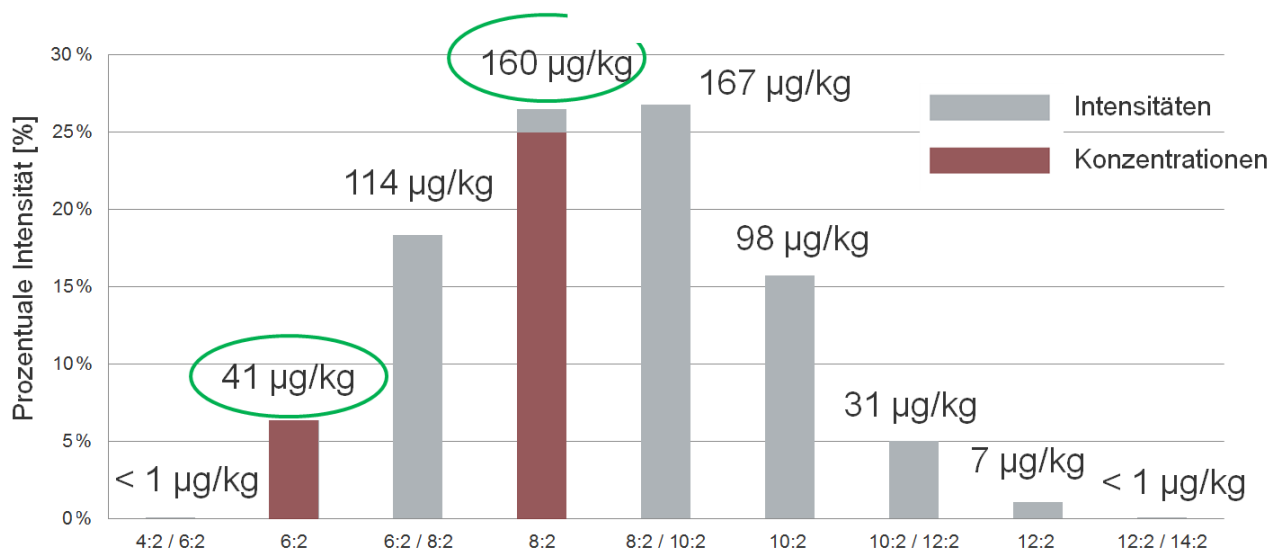


Abbildung 56: Anteil von diPAP-Homologen (graue Balken) und deren abgeschätzte Konzentrationen auf Basis eines Responsefaktors für die quantitativ bestimmten Konzentrationen von 6:2 und 8:2 diPAP (rote Balken; Messwerte vom TZW in grünen Kreisen). Die Summe der Konzentrationen der diPAP ergibt etwa 620 µg/kg.

Zusätzlich konnten Homologe der monoPAP nachgewiesen werden. Für das 8:2 monoPAP wurden etwa 5 µg/kg Boden ermittelt. Über den Responsefaktor des 8:2 monoPAP, bestimmt aus einer reinen methanolischen Lösung, und unter Vernachlässigung von Matrixeffekten wurde ein Gesamtgehalt der monoPAP auf etwa 10 µg/kg Boden abgeschätzt.

In den belasteten Bodenproben Wi-MP1, E50-6 und NAW 1 aus dem Raum Mannheim konnten vergleichbare Kontaminationsmuster wie für Hügelsheim nachgewiesen werden. Auch hier stellen die diPAP eine wichtige Substanzklasse dar. Dies wird in Abbildung 57 anhand der relativen Signalintensitäten für die diPAP deutlich. Generell liegt in den Bodenproben aus dem Raum Mannheim im Vergleich zu Hügelsheim jedoch eine geringere Belastung vor (Abbildung 58).

Da auch hier die Bandbreite der diPAP-Homologen über die drei bisher bekannten und quantifizierten Vertreter hinausgeht, kann auch für die Proben aus Mannheim gezeigt werden, dass weitere diPAP-Homologe einen wichtigen Anteil zum unbekanntem EOF-Anteil beitragen. Weitere, im Hügelsheimer Boden nicht vorhandene Substanzklassen wurden auch in keiner der drei Bodenproben aus Mannheim nachgewiesen.

Die insgesamt geringere Belastung der Proben aus Mannheim im Vergleich zu Hügelsheim spiegelt sich auch in den Ergebnissen für diSAmPAP, PFOS und EtFOSAA wider. Nur für die diPAP sind in den Proben Wi-MP1 und E50-6 vergleichbare Konzentrationen wie in Hügelsheim detektierbar (Abbildung 58).

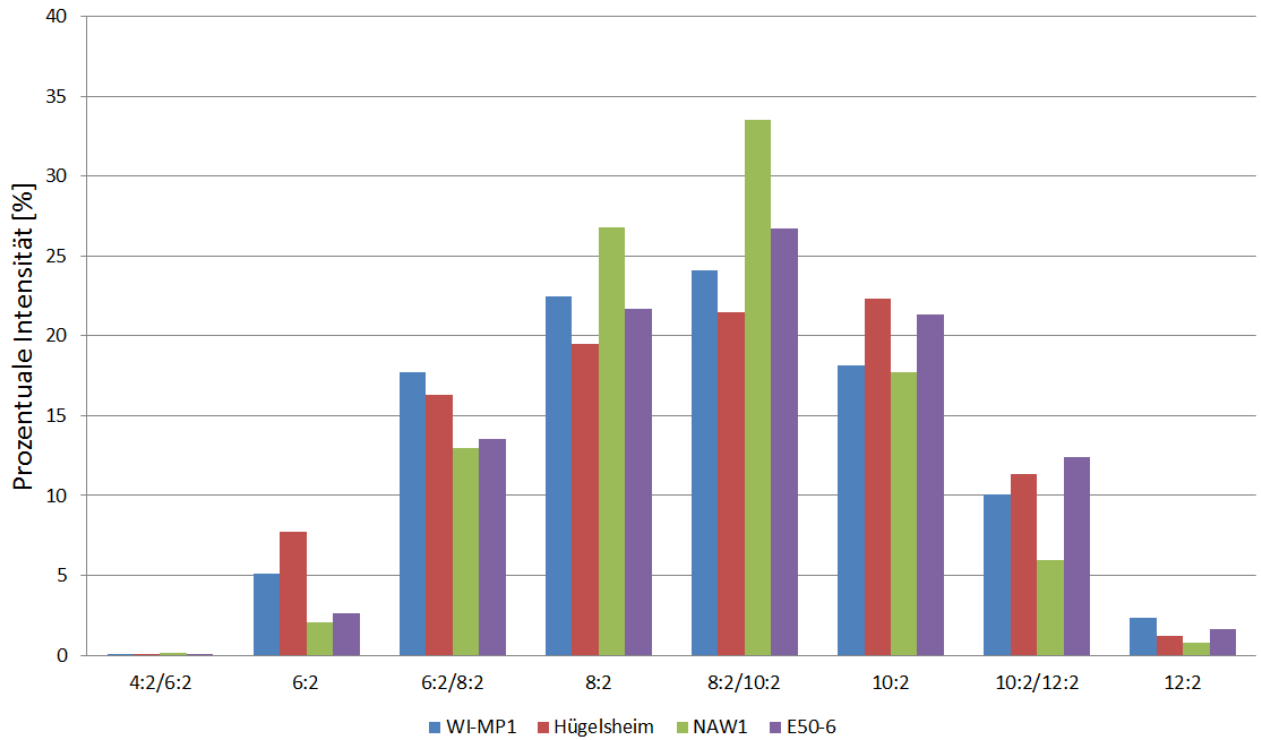


Abbildung 57: Relative Signalintensitäten der diPAP in kontaminierten Bodenproben zeigen ein ähnliches Verteilungsmuster der Proben aus dem Raum Mannheim im Vergleich zu Hügelsheim (E-Hü-1b-B-GG).

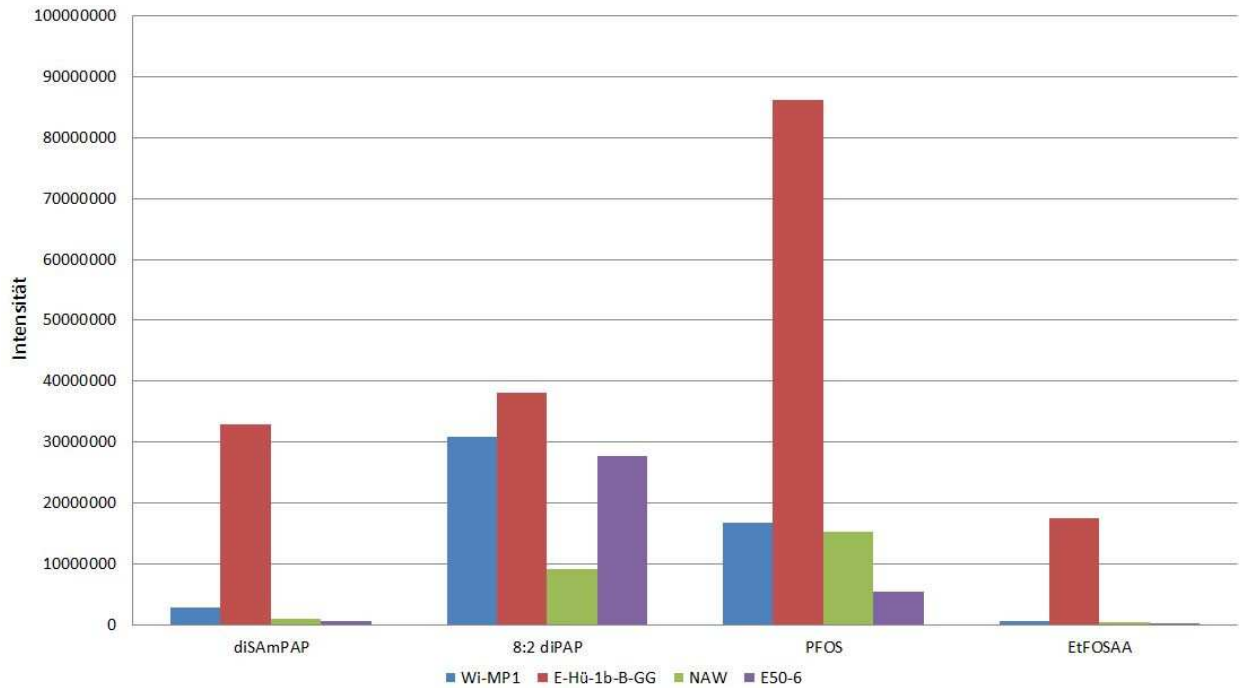


Abbildung 58: Vergleich der Signalintensitäten für PFOS, EtFOSAA und die Substanzklassen der diSAmPAP und der diPAP in den Bodenproben aus Mannheim (Wi-MP1; NAW; E50-6) und Hügelsheim (E-Hü-1b-B-GG).

Die Analyseergebnisse für den unbelasteten Boden aus Forchheim (E-FO-U-GG) zeigten generell eine um den Faktor 100 kleinere Konzentration von PFAS im Vergleich zum kontaminierten Boden aus Hügelsheim (E-Hü-1b-B-GG). Dies kann anhand der Signalintensitäten in Abbildung 59 verdeutlicht werden. Dabei weist der unbelastete Boden zum Beispiel für 6:2 diPAP eine 110-fach kleinere Konzentration auf als der belastete Boden. Für PFOS war die Konzentration um den Faktor 92, für PFOA um den Faktor 108 und für EtFOSAA um den Faktor 370 kleiner.

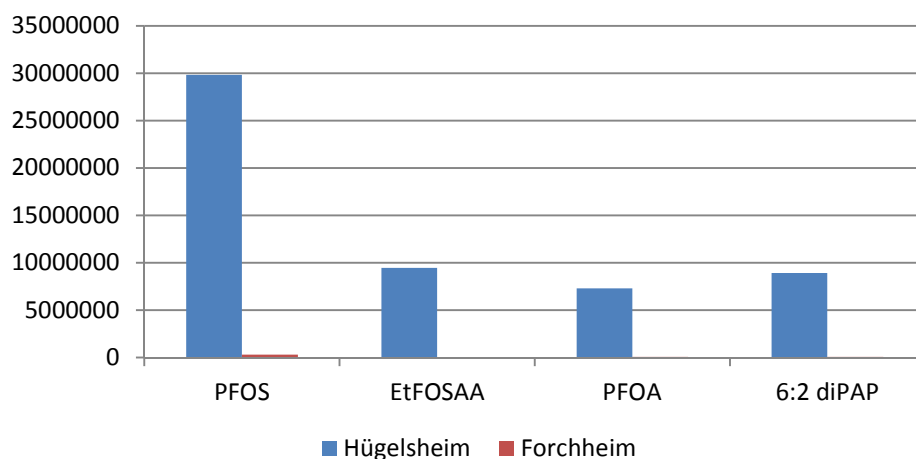


Abbildung 59: Vergleich der Signal-Intensitäten ausgewählter PFAS im belasteten Boden Hügelsheim (E-Hü-1b-B-GG) und im unbelasteten Boden von Forchheim (E-FO-U-GG).

Die Extrakte der gefriergetrockneten Pflanzenproben wurden einer erweiterten Probenaufreinigung (Clean-up) unterzogen. Deshalb wurde zuerst geprüft, ob die Wiederfindung für einzelne PFAS ausreichend für einen positiven Nachweis ist. Dazu wurde eine Probe von gefriergetrocknetem Topinambur (E-TO-B-GG) mit den nativen Standards 6:2/8:2 diPAP, 6:2 FTSA, 8:2 monoPAP, diSAmPAP, EtFOSAA, PFOS, 8:2 FTCA, 8:2 FTUCA und C₈-PFPA dotiert (B-Probe). Alle neun zudotierten Substanzen waren nachweisbar. Je nach Substanz und Probenmatrix wurden jedoch für die neun zudotierten Analyten unterschiedlich hohe Wiederfindungen zwischen 5 % und 300 % erhalten, je nach Probenmatrix und Aufreinigung. In den Originalen der gefriergetrockneten Pflanzenproben von Weizenmehl, Maismehl, Maisblättern, Weidelgras und Topinambur waren außer den bereits vom Projektpartner TZW quantifizierten PFCA (PFPrA bis PDoDA) keine weiteren PFAS nachweisbar, die bereits in der kontaminierten Bodenprobe Hügelsheim identifiziert werden konnten. Abbildung 60 zeigt Chromatogramme der PFCA für die Extrakte von Topinambur (TB und TS) und Weidelgras von Aufwuchsversuchen auf belasteten Böden. Diese PFCA wurden auch in kontaminierten Bodenproben im Rahmen des Screenings nachgewiesen.



Abbildung 60: Chromatogramme der extrahierten Ionen (EIC) für Perfluorcarbonsäuren (PFCA) in den Pflanzenextrakten von Topinambur (E-TO-B-GG; E-TS-B-GG; links und Mitte) und Weidelgras (E-WG-B-GG; rechts) von belastetem Boden.

4.3.2 Echelle-Plasma-Emissions-Detektor (EPED)

Für die Messung von leichtflüchtigen PFAS wurde eine Kopplung von Gaschromatographie mit einem fluorselektiven Detektor verwendet (GC-EPED, Abbildung 61). Für die chromatographische Trennung wurde ein Agilent 6890-Gaschromatograph mit einer Restek Rxi624-Trennsäule (60 m x 0,25 mm x 1,4 µm) verwendet. Die Probenaufgabe erfolgte mit einem Purge & Trap-System der Firma IMT Moosbach mit einer Nachweisgrenze von ca. 10 pg F/s.



Abbildung 61: Fluorselektiver Detektor GC-EPED.

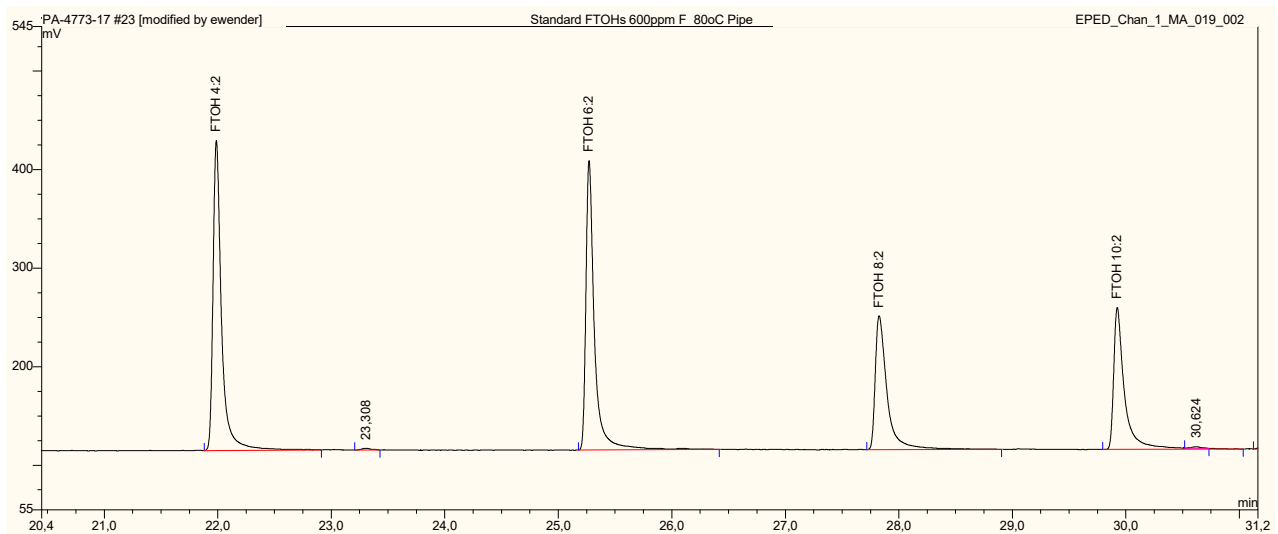


Abbildung 62: Beispiel 600 µg/ml FTOH-Standard (v. l. n. r.: 4:2 FTOH, 6:2 FTOH, 8:2 FTOH, 10:2 FTOH), Messbedingungen: 80 °C, Pipe, interner Standard 343 ng Perfluorbenzol.

Es wurden unterschiedliche Parameter hinsichtlich Thermostatisierung und Trap-Bedingungen (mit und ohne Wasserfalle) getestet.

Für die Untersuchung flüchtiger fluororganischer Verbindungen mittels GC-EPED wurde ein Vergleich zwischen getrockneten und nicht getrockneten Böden durchgeführt. Bei nicht getrockneten Bodenproben führt die Restfeuchte in vielen Fällen zum Zufrieren der Trap und zum Analytverlust, das Trocknen kann aber auch zum Analytverlust führen. Daher ist bei den Purge & Trap-Bedingungen ein Kompromiss unter Verwendung einer Peltier Wasserfalle (PWT von engl.: Peltier water trap) für polare und unpolare Substanzen einzugehen, der letztlich aufgrund von Verlusten an der Wasserfalle ebenfalls zu einer wesentlich geringeren Nachweisempfindlichkeit für die FTOH von ca. 100 µg/kg des Systems führt.

In den untersuchten Bodenproben konnten mittels Purge & Trap-GC-EPED-System außer dem internen Standard Perfluorbenzol keine weiteren leichtflüchtigen fluorhaltigen Substanzen nachgewiesen werden.

Für feuchte Bodenproben ergab sich, dass ohne die Verwendung von Wasserfallen die Trap zufriert und kein Übergang von leichtflüchtigen fluorierten Verbindungen mehr festgestellt werden konnte. Daher wurden zwei Typen von Wasserfallen (Pipe und PWT) untersucht. Die prinzipielle Eignung des Verfahrens zur Messung feuchter Proben wurde dabei bestätigt. Allerdings werden hydrophile Substanzen wie die FTOH diskriminiert, sodass nur orientierende Messungen im hohen Konzentrationsbereich möglich sind. Für getrocknete Proben ist anzunehmen, dass trotz schonender Trocknungsverfahren ein Großteil der leichtflüchtigen fluorierten Bestandteile bereits durch den Trocknungsprozess entfernt worden sind.

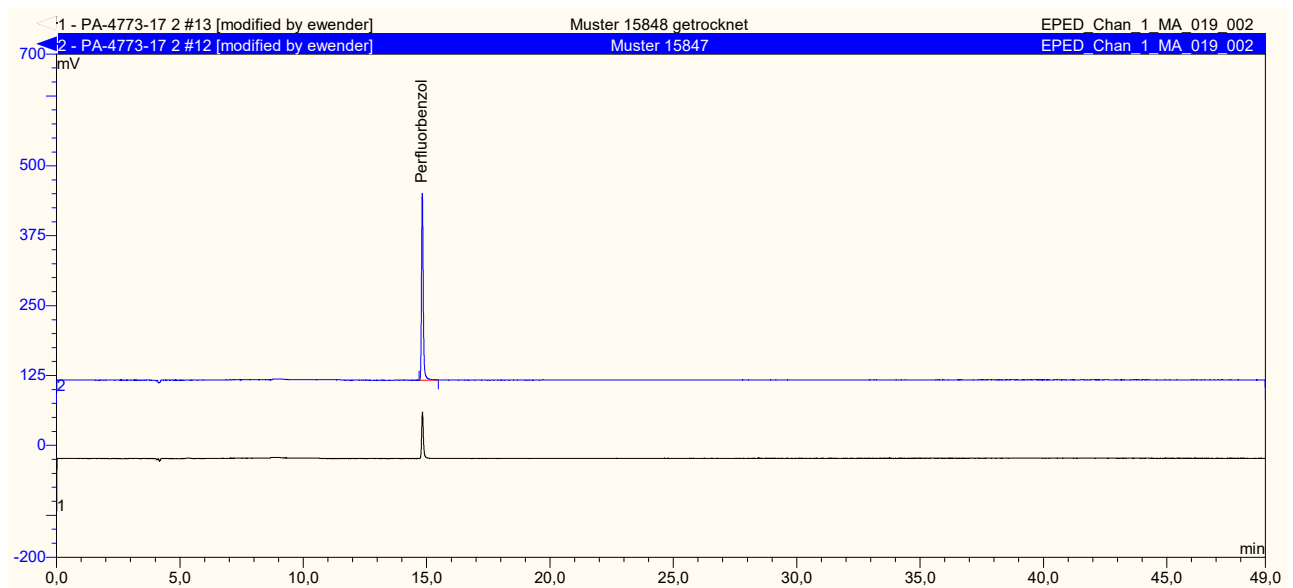


Abbildung 63: WiMP1 getrocknet (schwarz) und nicht getrocknet (blau), Messbedingungen, 60°C, PWT, Interner Standard 343 ng Perfluorbenzol.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Kopplung von Purge & Trap-GC-EPED als universelles und schnelles Screeningverfahren für leichtflüchtige Verbindungen in Bodenproben prinzipiell geeignet ist. Für die exakte quantitative Analyse fluorhaltiger Acrylate und insbesondere hydrophiler Telomerverbindungen aus feuchten Boden- und Pflanzenproben eignet sich die Purge & Trap-Methode allerdings nur bedingt, da hydrophile Substanzen diskriminiert werden.

4.4 Literaturstudien

4.4.1 Biologische Wirkungen von PFAS

Von der Universität Tübingen wurde eine umfassende Literaturstudie zu biologischen Wirkungen von PFAS mit dem Ziel der Ableitung von Prüf-, Maßnahme- und Vorsorgewerten erstellt. Diese Studie bezog sich hierbei vor allem auf diejenigen Substanzklassen, für die bisher keine Risikoabschätzung vorgenommen wurde: PAP, Polyfluoroalkylacrylate und -ether sowie Fluortelomersäuren und -alkohole. Existierende Literatur zu bereits formulierten Grenzwerten für PFCA und PFSA (insbesondere PFOA und PFOS) wurde jedoch ebenfalls zusammengefasst.

Vorgehen bei der Literaturrecherche

Für die Literatursuche nach human- und ökotoxikologischen Effekten diverser PFAS wurden die Rechercheoberflächen Web of Science und Google Scholar verwendet. Recherchiert wurde insbesondere nach PAP, Polyfluoroalkylacrylaten und -metacrylaten, PFPA (perfluorierte Phosphonsäuren), PFPIA (Perfluoroalkylphosphinsäuren), TFA und Fluortelomersäuren und -alkoholen. Als Suchbegriff wurde die jeweilige PFAS oder Substanzfamilie in ausgeschriebener Form und als Akronym verwendet. Die Schreibform der Suchbegriffe orientierte sich hierbei an der Nomenklatur, die in dem Review-Artikel von Buck et al. (2011) verwendet wird.

Um die Suchergebnisse einzuschränken, wurde gegebenenfalls (und abhängig von der Substanzfamilie) der Suchbegriff *fluoroalk*, *fluorotel* oder *fluoro* mittels AND-Funktion hinzugefügt. Eine weitere Spezifizierung der Ergebnisse fand gegebenenfalls durch den Begriff *toxic* statt. Eine Einschränkung der Ergebnisse auf Basis des Publikationsjahres erfolgte nicht.

Zusätzlich wurde anhand der CAS-Nummern, welche größtenteils in der Arbeit von Buck et al. (2011) enthalten waren, nach Literatur in der PubChem-Datenbank recherchiert. Zudem wurde weitere Literatur durch die Referenzen der einzelnen Berichte/Studien während der Literaturlauswertung gefunden.

Die Literaturlauswertung bestand vor allem darin, die Methodik der jeweiligen Studien detailliert nachzuvollziehen, um zunächst eine Übersicht über die Anzahl der Literatur zu den jeweiligen PFAS zu erstellen. Zum anderen wurden folgende Informationen aus jeder Studie entnommen und in eine Datentabelle überführt: (a) Das Akronym, (b) der Substanzname, (c) die Substanzfamilie, (d) die CAS-Nummer, (e) die chemische Spezies, (f) die molare Masse, (g) die Tatsache, ob die Substanz einzeln oder in Mischung getestet wurde, (h) der verwendete Testorganismus, (i) ob die Studie in vitro oder in vivo durchgeführt wurde, (j) der jeweilige Effektendpunkt, (k) ob der Versuch mittels Standardmethoden oder nach Protokoll durchgeführt wurde, (l) die getesteten Konzentrationen, (m) die Versuchsdauer, (n) die Art der Exposition, (o) ob die Testkonzentrationen durch

chemische Analytik verifiziert wurden, (p) die Stichprobengröße, (q) verschiedene Effektwerte wie LOEC, NOEC, EC50 oder NOAEL, (r) das Zitat, (s) die Zugänglichkeit der Literatur, sowie (t) die DOI und (u) ein EndNote-Label zur eindeutigen Identifikation des jeweiligen Artikels. Zusätzlich wurden die einzelnen Endpunkte bezüglich ihrer Reliabilität bewertet. Hierfür wurden Kriterien nach Wright-Walters et al. (2011) genutzt, welche folgende Voraussetzungen beinhalten:

- 1) die durchgehende Beschreibung des experimentellen Designs, inklusive der Expositionsbedingungen und der Replikate
- 2) die analytische Konfirmation der Testkonzentrationen
- 3) die Beschreibung der ökologisch relevanten Endpunkte und aller gesammelten ergänzenden morphologischen Informationen
- 4) die Verwendung von Testverfahren, welche zumindest generell auf international akzeptierten Verfahren und Praktiken beruhen
- 5) das Bestehen einer direkten Verbindung zwischen den beschriebenen Resultaten und dem experimentellen Design
- 6) die ausreichende Berichterstattung der Ergebnisse, inklusive der Systemperformance, den Toxizitätsergebnissen und den statistischen Methoden, die dazu verwendet wurden, Schlussfolgerungen anhand der Daten zu ziehen. Zusätzlich soll beachtet werden, ob die Studien unter EU-, U.S.- und/oder OECD-Prinzipien guter Laborpraxis (GLP) durchgeführt wurden (übersetzt aus Wright-Walters et al., 2011).

Je nach Anzahl der bestätigten Kriterien wurden die Untersuchungen in „valide“ (mehr als 4 Kriterien erfüllt), „bedingt valide“ (engl. „use with care“, weniger als 4 Kriterien erfüllt) oder „nicht valide“ (Studien mit erheblichen Mängeln oder offensichtlichen Fehlern) bewertet.

Zur Vereinheitlichung wurde die in der Literatur verwendete Nomenklatur der Schreibweise von Buck et al. (2011) angepasst. Fehlende CAS-Nummern wurden anhand des SciFinder-Portals ermittelt, welches direkt auf die Datenbank des Chemical Abstracts Service zugreift.

Ableitung von Prüf-, Maßnahme- und Vorsorgewerten

Ziel der Literaturstudie war die Ableitung von Prüf-, Maßnahme- und Vorsorgewerten für eine als unschädlich anzusehende Aufnahme verschiedenster PFAS durch den Menschen. So sollten vor allem für die PFAS, für die noch keine derartigen Werte vorliegen, sogenannte ADI-Werte (engl. „acceptable daily intake“, erlaubte Tagesdosis) abgeleitet werden. Dieser Wert gibt die Menge einer Substanz an, die ein Mensch ein Leben lang täglich ohne erkennbares Gesundheitsrisiko zu sich nehmen kann. Berechnet wird er anhand der Ergebnisse langfristiger Studien aus dem humantoxikologischen Bereich

(NOEL, engl. „no observed effect level“) und einem Sicherheitsfaktor von konstant 0,01:
 $ADI = NOEL \cdot 0,01$.

Da nur wenige chronische humantoxikologische Studien vorlagen, die als „valide“ bzw. „bedingt valide“ bewertet wurden, wurden zudem für einige Substanzen anhand der bewerteten ökotoxikologischen Studien zunächst PNEC-Werte (engl. „predicted no effect concentrations“) abgeleitet. Diese geben die Konzentration eines Stoffes an, bei der noch keine Effekte auf das Ökosystem zu erwarten sind. Die Ableitung erfolgte hierbei über die sogenannte Faktorenmethode, das heißt durch die Anwendung von Sicherheitsfaktoren auf relevante Daten zu ökotoxikologischen Effekten. Die Höhe dieser Sicherheitsfaktoren ist abhängig von der Datenlage. Da anhand der vorliegenden Daten vor allem Vorsorgewerte für eine langfristige Belastung extrapoliert werden sollten, lag der Fokus in der vorliegenden Arbeit auf solchen Substanzen, für die NOEC-Werte aus chronischen Studien mit Daphnien oder Fischen vorlagen. Anhand der PNEC-Werte wurden anschließend GFS(Geringfügigkeitsschwellen)-Werte nach dem ursprünglich vom Umweltbundesamt entwickelten und später durch von der Trenck et al. (2018) publizierten Schema abgeleitet. Da das GFS-Konzept im eigentlichen Sinne zur Bewertung von Grundwasserkontamination entwickelt wurde, erfolgte eine indirekte Ableitung von ADI-Werten unter vereinfachender „Gleichsetzung“ von Grund- und Trinkwasser und mit Hilfe von realistischen Abschätzungen zum täglichen Trinkwasserkonsum eines Menschen (Kinder [25 kg]: 1 L/d; Erwachsene [50 kg]: 2 L/d und Erwachsene [80 kg]: 3 L/d), die auf Arbeiten von Drewnowski et al. (2013a, b) basierten, und unter der Annahme, dass die Resorption der jeweiligen PFAS bei 100 % läge.

Ergebnisse

Die Literaturrecherche resultierte in rund 200 potentiell relevanten wissenschaftlichen Veröffentlichungen, wobei diese sowohl Primärliteratur als auch Review-Artikel beinhalteten. Welche Substanzfamilien letztendlich für die Datenbank berücksichtigt wurden, ist Abbildung 64 zu entnehmen. Die Grundlage für diese Graphik sind die Substanzen, die von Buck et al. (2011) für die Substanzfamilien von Interesse aufgelistet wurden. Die meiste Literatur war für die PFAS zu finden, für die keine gezielte Literaturrecherche durchgeführt wurde, wie beispielsweise die PFCA oder die PFSA. Für diese beiden Substanzfamilien sind die angegebenen Zahlenwerte somit als Minimalangaben und nicht als Absolutwerte zu verstehen.

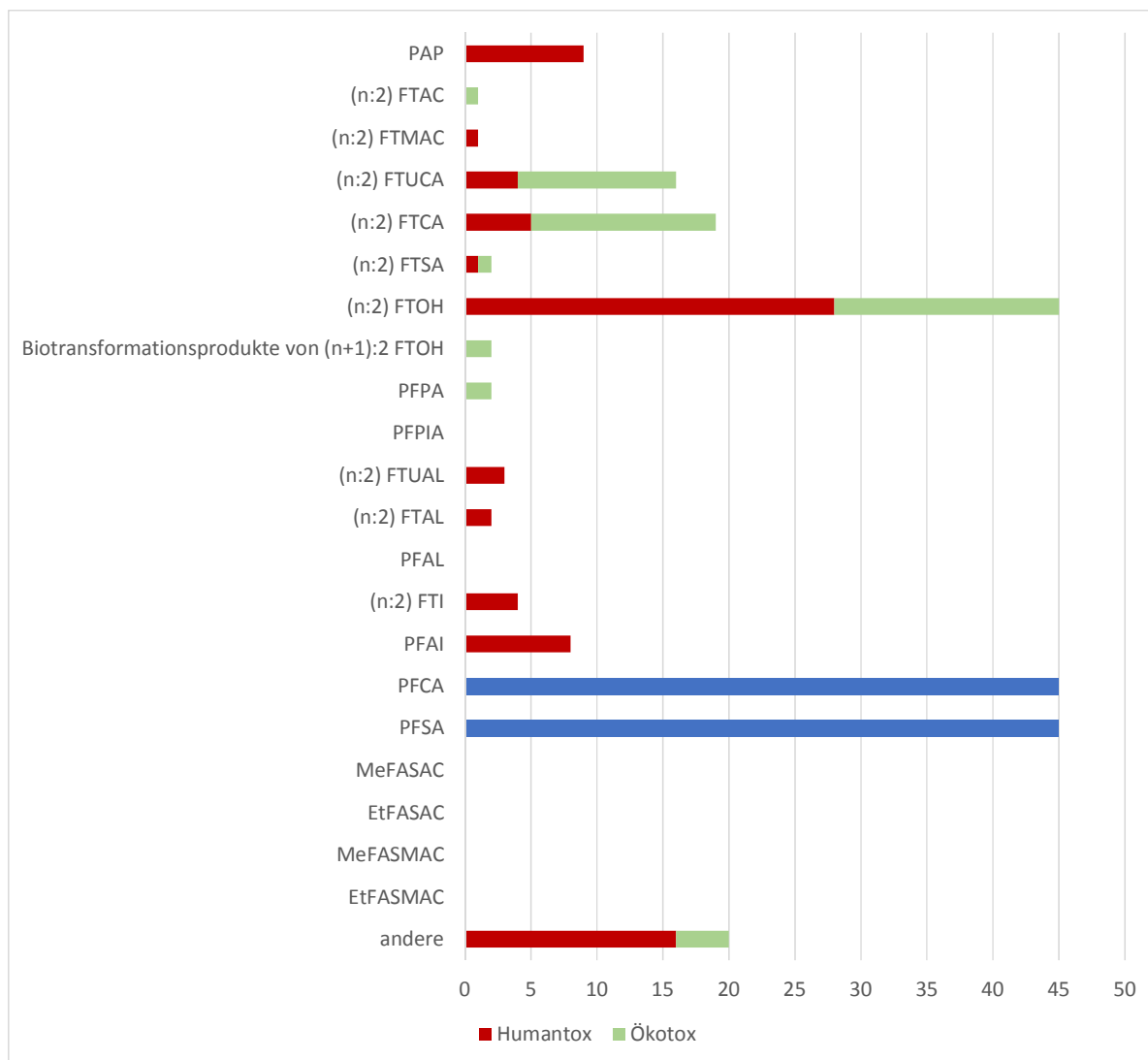


Abbildung 64: Anzahl der gefundenen Studien für verschiedene Substanzfamilien von Interesse nach Buck et al. (2011). Die roten Balken beziehen sich auf Literatur über humantoxische Effekte, die grünen Balken auf ökotoxikologische Effekte. Für PFCA und PFSA (blaue Balken) lag die Anzahl der Studien weit über der für andere Substanzfamilien gefundenen und es wurde in der Darstellung nicht in die Kategorien „Humantox“ und „Ökotox“ untergliedert. Die Kategorie „andere“ enthält u. a. Studien zu Perfluoralkansulfonamiden (FOSA, EtFOSA und MeFOSA), Perfluoralkansulfinsäuren (PFOSi) und Natriummono- und -trifluoracetat).

In der ausführlichen Literaturlauswertung wurden schließlich die Ergebnisse aus 164 wissenschaftlichen Artikeln in die Datentabelle überführt und bezüglich ihrer Validität bewertet. Insgesamt wurden 5683 (öko)toxikologische Endpunkte ausgewertet.

Die einzelnen Studien bedienten sich verschiedener Testsysteme, welche aus Abbildung 65 zu entnehmen sind. Es zeigte sich, dass ein Großteil der humantoxikologischen Literatur Zelltests oder Studien mit Ratten beinhaltet. Bezüglich der ökotoxikologischen Effekte stammt der größte Anteil der Literatur aus dem Bereich der aquatischen

Ökotoxikologie, wobei die meisten Studien mit den Standardtestsystemen Alge, Fisch oder aquatischen Invertebraten (zumeist Daphnien) durchgeführt wurden.

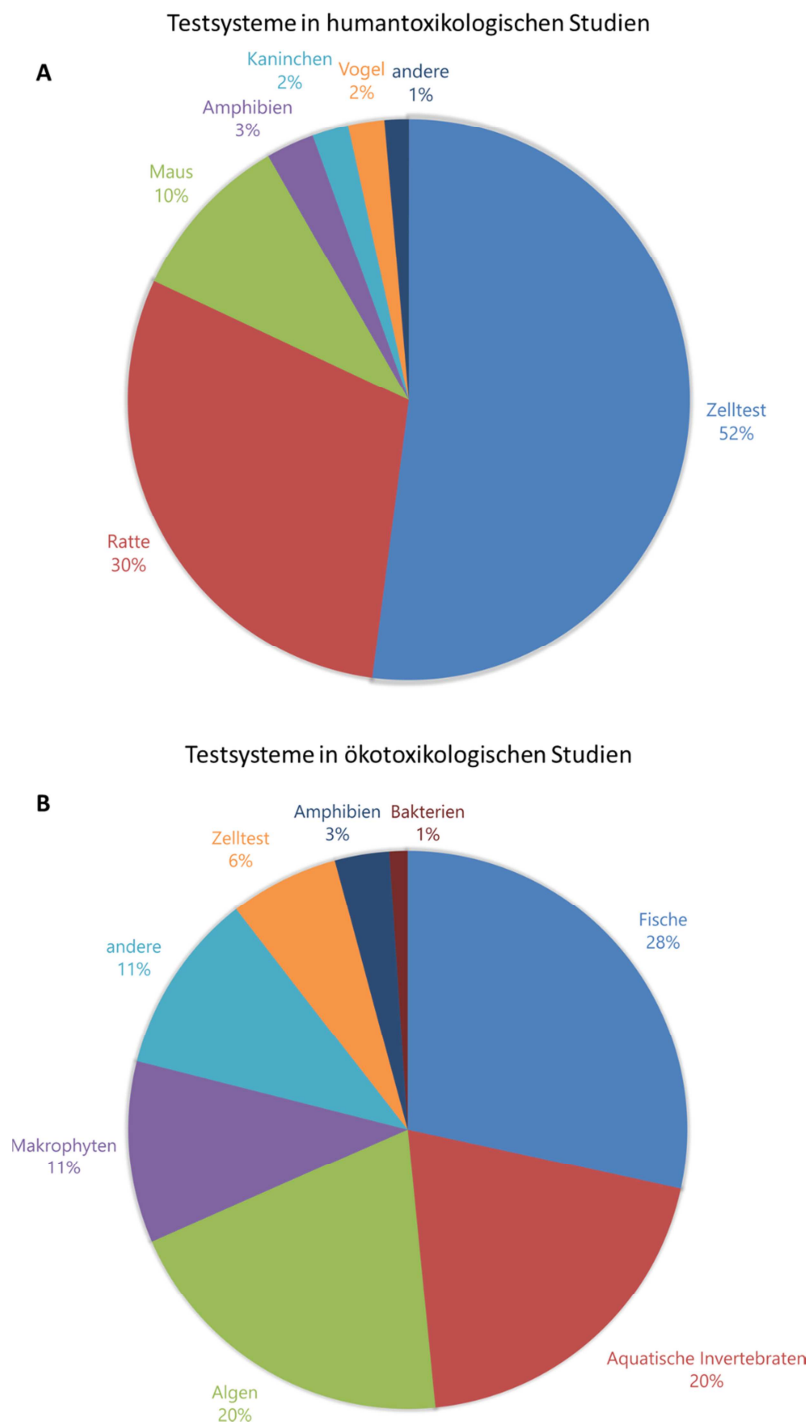


Abbildung 65: Verwendete Testsysteme in der (A) humantoxikologischen und (B) ökotoxikologischen Literatur. Die Graphik zu den humantoxikologischen Studien enthält die Testsysteme aus insgesamt 106 wissenschaftlichen Artikeln, die der ökotoxikologischen Studien die Testsysteme aus 58 Veröffentlichungen.

Neben den verwendeten Testsystemen wurden auch die verschiedenen Endpunkte, die in den Studien untersucht wurden, verschiedenen Übergruppen zugeordnet und in Abbildung 66 dargestellt.

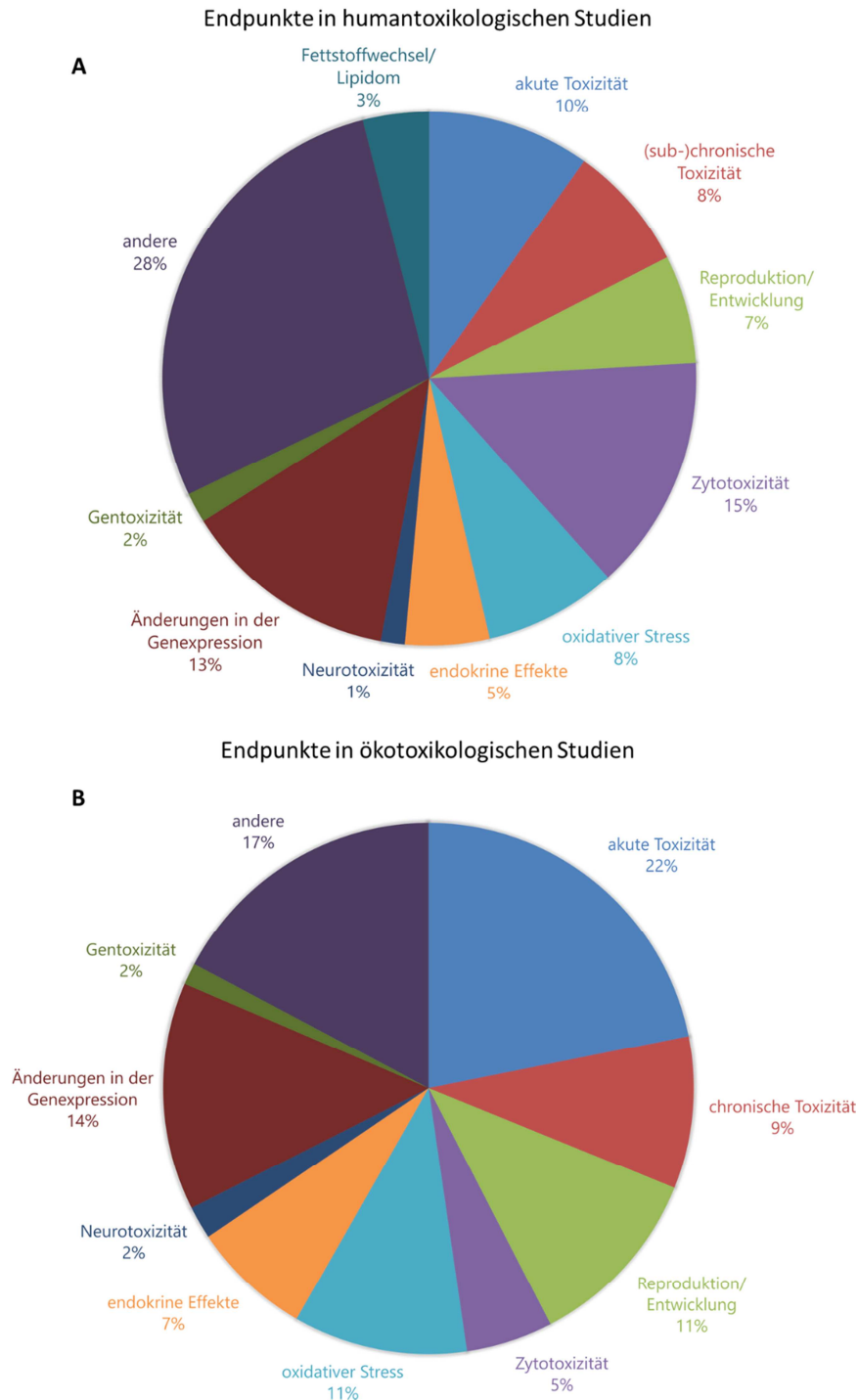


Abbildung 66: Untersuchte Testsysteme in der (A) humantoxikologischen und (B) ökotoxikologischen Literatur. Die Graphik zu den humantoxikologischen Studien enthält die Endpunkte aus insgesamt 106 wissenschaftlichen Artikeln, die der ökotoxikologischen Studien die Endpunkte aus 58 Veröffentlichungen.

Zu erwähnen ist, dass eine eindeutige Eingliederung mancher Endpunkte in eine der Übergruppen nur bedingt möglich war, da manche Endpunkte mehreren Gruppen zugeordnet werden konnten. Ein Beispiel hierfür ist die Genexpression von Vitellogenin, die zum einen als Veränderung der Genexpression, aber auch als endokriner Effekt angesehen werden kann. Zudem existieren auch einige Endpunkte wie z. B. die Inzidenz von Tumoren oder die Veränderungen von Enzymaktivitäten, die keiner der definierten Übergruppen zugeordnet werden konnten. Diese wurden unter „andere“ zusammengefasst. Bezüglich der humantoxikologischen Literatur lässt sich erkennen, dass hier weniger oft auf letale Toxizität getestet wurde. Vielmehr bediente man sich verschiedener, nicht standardisierter Endpunkte (Biomarker), wie die Untersuchung veränderter Enzymaktivitäten und Genexpressionen. Im Gegensatz dazu wurden im Bereich der Ökotoxikologie oft Standardtests durchgeführt, welche vor allem auf die Bestimmung der akuten Toxizität abzielen. Dennoch wurden auch in diesen Studien andere, subletale Endpunkte, wie Veränderungen in Genexpression oder Verhalten untersucht.

Tabelle 37 zeigt eine Übersicht zur Anzahl der Endpunkte, die nach den Kriterien von Wright-Walters et al. (2011) als valide, bedingt valide und nicht valide eingestuft wurden.

Es wird deutlich, dass insgesamt nur sehr wenige chronische humantoxikologische Studien vorlagen, welche Voraussetzung für die Ableitung eines ADI-Wertes sind. Folglich konnte dieser Wert nur für eine Substanz direkt abgeleitet werden, welche in der Tabelle unter der Kategorie „andere“ geführt wird. Für diese Substanz mit der CAS-Nummer 62037-80-3 (Ammonium-2,3,3,3-tetrafluor-2-(heptafluorpropoxy)propionat) wurde in einer bedingt validen chronischen Studie mit Ratten ein NOEL (no observed effect level) von 100 µg/kg*d ermittelt. Folglich lag der abgeleitete ADI-Wert für diese Substanz bei 1 µg/kg*d ($\text{NOEL}[\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{d}]*0,01$).

Auch bezüglich der ökotoxikologischen Effekte lagen nur sehr wenige chronische Studien mit Daphnien oder Fischen vor, aus denen PNEC-Werte abgeleitet werden konnten. So konnte auf Basis der vorliegenden NOEC-Werte für 10:2 FTCA ein PNEC-Wert von 0,3 µg/L, für 10:2 FTUCA ein PNEC von 0,75 µg/L und für PFTrDA ein PNEC von 0,1 µg/L berechnet werden. Aufgrund der geringen Datengrundlage wurde nach von der Trenck et al. (2018) anschließend für alle drei Substanzen ein GFS-Wert von 0,1 µg/L festgelegt. Anhand der Abschätzung des täglichen Wasserkonsums und unter der Annahme, die Resorption von PFAS aus ingestierten Medien läge bei 100 %, ergab sich für Ableitung der ADI-Werte aus den gegebenen GFS-Werten ein Umrechnungsfaktor von 0,04. Da die aus der vorliegenden Literaturstudie resultierende Datengrundlage sehr gering war, wurden zusätzliche GFS-Werte aus von der Trenck et al. (2018) entnommen und weitere ADI-Werte berechnet. Eine Übersicht über die abgeleiteten Werte ist in Tabelle 38 dargestellt. Zudem wurden zur Einschätzung der Berechnungen ADI-Werte für bereits bewertete Substanzen wie PFOA und PFOS berechnet. Es ist zu erkennen, dass die durch die U.S.-EPA jüngst vorgeschlagenen ADI-Werte (U.S.-EPA, 2016) für PFOA und PFOS um das 5-fache höher liegen als die in dieser Arbeit abgeleiteten Werte. Es ist jedoch zu beachten, dass für diese Stoffe in der vorliegenden Literaturstudie keine gezielte

Recherche erfolgte und die von der EPA publizierten Grenzwerte auf mehr Daten basieren. Generell sind jedoch bei einer zukünftigen Neuberechnung der ADI nach Verbesserung der Datenlage für bislang unzureichend untersuchte PFAS Korrekturen in einem ähnlichen Größenbereich zu erwarten.

Tabelle 37: Übersicht zur Gesamtanzahl der bewerteten Studien und der Anzahl an Endpunkten, die als „valide“, „bedingt valide“ (Endpunkte, die mehr als 4 aber nicht alle der Validitätskriterien nach Wright-Walters et al.(2011) erfüllt haben) und als „nicht valide“ bewertet wurden.

	humantoxikologische Studien								
	akute					chronische/subchronische			
	Anzahl Studien	valide Endpunkte	bedingt valide Endpunkte	nicht valide Endpunkte		Anzahl Studien	valide Endpunkte	bedingt valide Endpunkte	nicht valide Endpunkte
PAP	10	47/75	12/75	16/75		0			
PFFA	0					0			
(n:2) FTAC	0					0			
(n:2) FTMAC	1	0/38	15/38	23/38		0			
(n:2) FTOH	23	126/199	32/199	41/199		4	188/191	3/191	0/191
(n:2) FTCA	5	8/12	3/12	1/12		0			
(n:2) FTUCA	5	0/5	3/5	2/5		0			
(n:2) FTSA	1	0/8	8/8	0/8		0			
(n:2) FTAL	2	0/2	2/2	0/2		0			
(n:2) FTUAL	3	0/3	2/3	1/3		0			
(n:2) FTI	3	0/15	6/15	9/15		0			
PFAI	9	0/42	31/42	11/42		0			
PFCA	240	740/1725	512/1725	473/1725		13	321/378	54/378	3/378
PFSA	67	210/370	95/370	65/370		10	525/665	136/665	4/665
Biotransformationsprodukte von (n+1):2 FTOH	0					0			
andere	0	52/149	17/149	80/149		2	14/68	48/68	6/68
	ökotoxikologische Studien								
	akute					chronische/subchronische			
	Anzahl Studien	valide Endpunkte	bedingt valide Endpunkte	nicht valide Endpunkte		Anzahl Studien	valide Endpunkte	bedingt valide Endpunkte	nicht valide Endpunkte
PAP	0					0			
PFFA	2	30/30	0/30	0/30		0			
(n:2) FTAC	1	5/5	0/5	0/5		0			
(n:2) FTMAC	1	0/6	3/6	3/6		0			
(n:2) FTOH	13	81/97	7/97	9/97		5	46/49	3/49	0/49
(n:2) FTCA	11	29/65	23/65	13/65		6	0/16	16/16	0/16
(n:2) FTUCA	9	0/34	28/34	6/34		5	0/13	12/13	1/13
(n:2) FTSA	1	7/11	4/11	0/11		1	11/12	1/12	0/12
(n:2) FTAL	0					0			
(n:2) FTUAL	0					0			
(n:2) FTI	0					0			
PFAI	0					0			
PFCA	134	372/571	156/571	43/571		28	179/233	29/233	25/233
PFSA	19	88/134	34/134	12/134		7	74/90	15/90	1/90
Biotransformationsprodukte von (n+1):2 FTOH	2	0/7	0/7	7/7		0			
andere	5	62/65	3/65	0/65		0	0/0	0/0	0/0

Tabelle 38: In der vorliegenden Arbeit abgeleitete⁽¹⁾ und aus von der Trenck et al. (2018) entnommene⁽²⁾ GFS-Werte und GOW, daraus abgeleitete ADI und vorgeschlagene ADI nach US-EPA (2016).

Substanz	GFS/GOW in µg/L	abgeleitete ADI in µg/kg*d	ADI nach US-EPA (2016) in µg/kg*d
10:2 FTCA	0,01 ⁽¹⁾	0,0004	
10:2 FTUCA	0,01 ⁽¹⁾	0,0004	
PFTTrDA	0,01 ⁽¹⁾	0,0004	
PFBA	10 ⁽²⁾	0,4	
PFHxA	6 ⁽²⁾	0,24	
PFHpA	0,3 ⁽²⁾	0,012	
PFNA	0,06 ⁽²⁾	0,0024	
PFDA	0,1 ⁽²⁾	0,004	
PFBS	6 ⁽²⁾	0,24	
PFHxS	0,1 ⁽²⁾	0,004	
PFHpS	0,3 ⁽²⁾	0,012	
PFOA	0,1 ⁽²⁾	0,004	0,02
PFOS	0,1 ⁽²⁾	0,004	0,02

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass zu den PFAS, die in der vorliegenden Literaturstudie von Interesse waren, zu wenige chronische Studien vorliegen, um eine direkte Ableitung von ADI-Werten vorzunehmen. So konnte dies nur für eine Substanz (CAS-Nummer 62037-80-3, Ammonium-2,3,3,3-tetrafluor-2-(heptafluorpropoxy)propionat, Synonym: ADONA) erfolgen. Hier lag der vorgeschlagene ADI-Wert bei 1 µg/kg*d. Auf Basis der Ergebnisse ökotoxikologischer Studien konnte zudem ein ADI-Wert von 0,0004 µg/kg*d für die Substanzen 10:2 FTCA, 10:2 FTUCA und PFTTrDA abgeleitet werden, jedoch war auch hier die Datenlage stark begrenzt. Es besteht folglich ein hoher Bedarf für eine Verbesserung der Datenlage zu Wirkungen, insbesondere von PAP, Acrylaten und Metacrylaten, Phosphonsäuren, Phosphinsäuren, langkettigen Telomerkohlen, langkettigen Sulfonsäuren (C₇, >C₉) und der kurzkettigen Carbonsäure PFPrA.

4.4.2 Einsatz von PFAS in Verpackungspapieren

Die Literaturstudie zum Einsatz von PFAS in Verpackungsmaterialien ist in einen separaten Anhang ausgelagert.

EtFOSE und MeFOSE bei Sulfonamidoethanol-basierten Präkursoren, wie z. B. diSAmPAP). Der weitere Abbau des jeweiligen Alkohols führt über eine Reihe von Zwischenprodukten bis zu den perfluorierten Säure (PFAA).

Tabelle 40: Positivbefunde der untersuchten PFAS in den ausgewählten Boden- und Pflanzenproben; alle Angaben in µg/kg TS; BG = Bestimmungsgrenze*; k.A. = keine Angabe; Werte in Kursivschrift sind halbquantitative Werte; die Kennung „b“ in den Bezeichnungen der Proben steht für Proben von bekanntermaßen belasteten Flächen.

	Labor	% F	Forchheim	Hügelshelm, b	W1-MP1, b	E50-6, b	NAW, b	Weizenmehl	Weizenmehl, b	Maismehl	Maismehl, b	Maisblätter	Maisblätter, b	Weidelgras	Weidelgras, b	Topinambur	Topinambur, b	Topinambur (geschält), b	Topinambur-schale, b
EOF	TZW		<BG	1300	440	690	1100	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	40	<BG	130	<BG	50	60	90
6:2 diPAP	TZW	63	<BG	41	18	13	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
8:2 diPAP	TZW	64	<BG	160	76	100	26	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
6:2/8:2 diPAP	TZW	65	-	170	68	69	23	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
6:2 FTCA	UFZ	65	<BG	0,54	<BG	<BG	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	k.A.	<BG	<BG
8:2 FTCA	UFZ	68	<BG	0,10	0,12	0,23	0,32	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	k.A.	<BG	<BG
10:2 FTCA	UFZ	69	<BG	0,75	1,0	1,0	0,60	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	k.A.	<BG	<BG
6:2 FTUCA	UFZ	64	<BG	0,07	0,07	0,12	0,08	k.A.	0,225	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	0,203	k.A.	k.A.	<BG	<BG
8:2 FTUCA	UFZ	67	<BG	0,26	0,21	0,34	0,43	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	k.A.	<BG	<BG
10:2 FTUCA	UFZ	68	<BG	0,94	0,64	0,72	0,90	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	k.A.	<BG	<BG
5:3 acid	UFZ	61	<BG	8,57	4,5	6,8	2,3	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	k.A.	<BG	<BG
7:3 acid	UFZ	65	<BG	29,6	8,2	7,5	5,9	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	0,150	k.A.	<BG	k.A.	k.A.	<BG	0,037
TFA	TZW	50	1,1	0,6	0,4	0,3	0,7	160	38	54	100	480	280	180	130	27	210	220	120
PFPrA	TZW	58	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	18	<BG	<BG	<BG	134	<BG	18	<BG	46	18	20
PFBA	TZW	62	<BG	<BG	3	3	3	<BG	25	<BG	<BG	<BG	387	<BG	48	1	102	49	77
PFPeA	TZW	65	<BG	<BG	3	6	4	<BG	15	<BG	<BG	<BG	83	<BG	88	<BG	160	105	138
PFHxA	TZW	67	<BG	3	2	2	4	<BG	7	<BG	<BG	<BG	1	<BG	15	<BG	111	18	22
PFHpA	TZW	68	<BG	2	7	5	15	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	1	<BG	1	<BG	12	2	1
PFOA	TZW	69	<BG	19	36	24	82	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	2	<BG	<BG	<BG	7	<BG	<BG
PFNA	TZW	70	<BG	13	4	6	27	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	1	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
PFDA	TZW	70	<BG	277	49	70	62	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	3	<BG	2	<BG	7	<BG	10
PFUnA	TZW	71	<BG	34	5	5	10	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	1	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	1
PFDoA	TZW	71	<BG	77	11	17	16	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	1	<BG	1	<BG	<BG	<BG	2
diSAmPAP	TZW	54	<BG	230	11	<BG	11	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
EtFOSE	UFZ	57	<BG	11,9	0,81	0,69	0,24	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	k.A.	<BG	<BG
EtFOSAA	UFZ	55	<BG	215	4,2	1,3	3,1	k.A.	0,006	k.A.	0,006	k.A.	0,405	k.A.	0,016	k.A.	k.A.	0,011	0,125
EtFOSA	UFZ	61	<BG	0,56	1,1	0,20	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	0,067	k.A.	<BG	k.A.	k.A.	<BG	<BG
FOSAA	UFZ	58	<BG	5,81	0,13	0,03	0,13	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	0,152	k.A.	0,027	k.A.	k.A.	<BG	<BG
FOSA	TZW/UFZ	65	<BG	11,5	1,1	0,55	0,57	k.A.	0,003	k.A.	0,002	k.A.	0,223	k.A.	0,007	k.A.	k.A.	0,002	0,002
MeFOSE	UFZ	58	<BG	0,12	0,12	<BG	0,18	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	k.A.	<BG	<BG
MeFOSAA	UFZ	57	<BG	0,21	0,01	0,01	0,03	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	0,002	k.A.	<BG	k.A.	k.A.	<BG	<BG
MeFOSA	UFZ	63	<BG	0,18	<BG	<BG	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	<BG	k.A.	k.A.	<BG	<BG
PFOS	TZW	65	<BG	110	11	4	25	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	34	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
6:2 FTSA	TZW	58	<BG	<BG	<BG	<BG	2	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG
8:2 FTSA	TZW	61	<BG	<BG	<BG	<BG	5	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG	<BG

* Die Bestimmungsgrenze (BG) des EOF beträgt 10 µg/kg TS für Bodenproben und 25 µg/kg für pflanzliche Matrices; Die BG der PFCA (außer TFA), PFOS, 6:2 FTSA und 8:2 FTSA liegen bei 1 µg/kg. Weitere BG der einzelnen Verbindungen in den unterschiedlichen Matrices können den analytischen Abschnitten 4.2.1, 4.2.2 und 4.2.3 entnommen werden.

diPAP und diSAmPAP wurden nur in Bodenproben nahe der Eintragsquelle (bis in den mg/kg-Bereich), jedoch nicht in den untersuchten Pflanzenmaterialien gefunden (Tabelle 40).

Der Transfer in die untersuchten Pflanzen wurde vor allem für die Endabbauprodukte nachgewiesen. Dazu gehören die PFCA mit den Kettenlängen C₂ bis C₁₂ und PFOS. Die Zwischenabbauprodukte der Telomerverbindungen spielten in allen Matrices mengenmäßig nur eine untergeordnete Rolle. In den pflanzlichen Matrices lagen nur vereinzelt quantifizierbare Rückstände dieser Verbindungen vor. Im Gegensatz dazu sind die Intermediate der EtFOSE-basierten Verbindungen, insbesondere EtFOSAA in der Bodenprobe aus Hügelsheim, von Bedeutung. Ein Transfer dieser Intermediate in die Pflanzen wurde zweifelsfrei nachgewiesen. Ob bzw. zu welchem Anteil die in den Pflanzen enthaltenen PFCA und PFOS bereits als solche aus dem Boden oder aus dem Beregnungswasser in die Pflanze aufgenommen worden waren (direkte Aufnahme) oder über die Aufnahme von Intermediaten in die Pflanzen gelangt waren, wo sie erst zu den Endprodukten metabolisiert wurden (indirekte Aufnahme), lässt sich aus den vorliegenden Daten nicht ableiten. Der vereinzelte Nachweis des stark an Boden adsorbierenden (Gellrich und Knepper, 2012) und damit geringer pflanzenverfügbaren PFOS lässt vermuten, dass auch Intermediate, wie z. B. EtFOSAA in die Pflanze aufgenommen und dort weiter bis zu PFOS abgebaut wurden. Der Abbau von EtFOSAA nach Aufnahme aus dem Boden wurde kürzlich in einer Studie anhand von Boden-Pflanzen-Mikrokosmen mit sieben verschiedenen Pflanzenarten belegt (Wen et al., 2018).

Die in der Literatur beschriebene Reihenfolge der Abbauraten der EtFOSE-Intermediate (Rhoads et al., 2008) spiegelt sich weitgehend in der Höhe der gefundenen Intermediat-Konzentrationen wider. Je geringer die Abbaukonstante eines Intermediats und je höher die Abbaurate des im Abbauweg vorangehenden Intermediats ist, desto höher war i. d. R. der Gehalt des betrachteten Intermediats im Boden.

Die Fluorbilanzierung durch Vergleich von EOF und der Summe des Organofluors aus den quantifizierten Einzelsubstanzen ergab nicht identifizierte Anteile des EOF von 31 % für die Probe aus Baden-Baden/Rastatt und 51 %-80 % für die drei Bodenproben aus dem Raum Mannheim (Abbildung 67).

Die hohen nicht identifizierten EOF-Anteile in den Proben aus dem Raum Mannheim deuten darauf hin, dass hier möglicherweise weitere Stoffklassen an Papierchemikalien, z. B. stabile, fluorierte Polyacrylate, -methacrylate oder Polyfluorpolyether vorhanden sind, von denen bei der methanolischen Extraktion der EOF-Bestimmung niedermolekulare Anteile erfasst worden sein könnten.

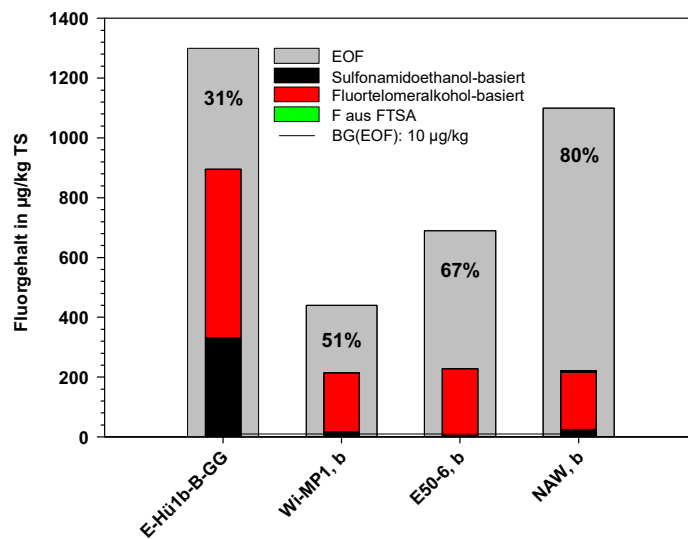


Abbildung 67: Vergleich von EOF mit der ΣF aus PFAS; die Prozentzahlen in den Balken des EOF geben die Höhe des unbekanntem EOF-Anteils an.

Tabelle 41: Fluorbilanz für die untersuchten Boden- und Pflanzenmaterialien; die Kennung „b“ in den Bezeichnungen der Proben steht für Proben von bekanntermaßen belasteten Flächen

Bodenproben aus dem Raum Mannheim haben höheren Anteil an unbekanntem Präkursoren als aus dem Raum Rastatt/Baden-Baden.

	Einheit	Forchheim	Hügelsheim, b	W1-MP1, b	E50-6, b	NAW, b	Weizenmehl, b	Maismehl, b	Maisblätter, b	Weidelgras	Weidelgras, b	Topinambur	Topinambur, b	Topinambur (geschält), b	Topinamburschale, b
EOF	µg/kg	< BG	1300	440	690	1100	< BG	< BG	40	< BG	130	< BG	50	60	90
ΣF (PFAS) nach TOP-Assay	µg/kg	4,8	1200	410	530	840	46	78	434	73	327	12	190	225	226
ΣF (PFAS) Originalprobe	µg/kg	0,6	895	214	228	221	59,7	50,4	543	90,8	351	14,2	215	233	234
Unbekannter Anteil am EOF	%	-	31	51	67	80	-	-	-1257	-	-170	-	-331	-289	-160
Unbekannter Anteil am TOP-Assay	%	88	25	48	57	74	-30	35,3	-25,1	-24	-7,4	-19	-13	-3,7	-3,5

Im Boden sind kaum kurzkettige Verbindungen enthalten. Daher spiegelt der EOF gut den Organofluorgehalt wider.

EOF erfasst die in Pflanzen enthaltenen, kurzkettigen Einzelsubstanzen (z. B. PFCA, C₂-C₅) nicht oder nur unvollständig.

→ EOF und/oder TOP messen!

→ Einzelsubstanzen und ggf. TOP messen!

Im Rahmen der Fluorbilanzierung waren mit dem TOP-Assay keine nennenswerten Konzentrationen an Präkursoren in den pflanzlichen Matrices nachweisbar (Tabelle 41). Die Summe des Organofluors aus den einzelnen bekannten PFAS überschreitet bis auf einen Fall (belastetes Maismehl) die mit dem TOP-Assay gefundene Organofluorkonzentration um 4-30 %. Dies kann zum Teil auf den Verlust von Fluor am Kopf der Perfluoralkyl-carbonsäure-Gruppe bei der Persulfat-Oxidation von Telomerverbindungen zurückzuführen sein. Des Weiteren weist TFA die mit Abstand höchsten Konzentrationen in den pflanzlichen Matrices auf (Tabelle 40). Die beobachteten Abweichungen zwischen Organofluor aus dem TOP-Assay und dem Fluor aus den Einzelsubstanzen liegen im Bereich der Ungenauigkeit der TFA-Bestimmungen und sind wahrscheinlich darin begründet.

Da kurzkettige PFCA ($<C_6$) beim Clean-up-Schritt der EOF-Bestimmung größtenteils abgetrennt werden, ist der Parameter EOF gut für die Erfassung von Präkursoren in PFAS-belasteten Böden geeignet. Da er jedoch, wie die in diesem Projekt gewonnenen Ergebnisse zeigen, die in den Pflanzenmaterialien nachgewiesenen kurzkettigen PFAS nicht erfasst, ist die EOF-Bestimmung in pflanzlichen Materialien nicht zweckmäßig. Daher sollte für diese Art von Matrices der TOP-Assay zur Prüfung auf ggf. vorhandene Präkursorkonzentrationen herangezogen werden. Die bisherigen Ergebnisse legen sogar nahe, dass die Einzelsubstanzeanalytik mittels LC-MS/MS auf PFAA zweckmäßiger ist und unter Einbeziehung einiger wichtiger Zwischenabbauprodukte, wie z. B. EtFOSAA, eine ausreichend sichere Beurteilung der PFAS-Gehalte in pflanzlichen Materialien bietet.

Die Anwendung des Non-Target-Screenings auf einen methanolischen Extrakt der belasteten Bodenprobe aus Hügelsheim (E-Hü-1b-B-GG) ließ neben den aus der Target-Analytik schon bekannten PAP, SamPAP und deren Zwischen- und Endabbauprodukten auch einige weitere Homologenreihen erkennen. U. a. ergab sich im Molmassenbereich 1071 Da–1221 Da eine homologe Reihe mit vier Vertretern, die im Einklang mit der Struktur vergleichsweise niedermolekularer Homologe eines technischen Produkts zur Papierimprägnierung auf der Basis von Perfluorpolyethern (Fomblin HC/P2 1000, Trier et al., 2011) steht. Mangels Verfügbarkeit entsprechender Referenzverbindungen konnte die Identität allerdings nicht abschließend bestätigt werden. Da solche Produkte hauptsächlich aus Polymeren bestehen, ist nicht auszuschließen, dass sich der größte Teil der Kontamination des Bodens mit einem solchen Produkt nicht mit Methanol extrahieren lässt und sich dementsprechend dem analytischen Nachweis entzieht.

Des Weiteren wurden mit dem Non-Target-Screening im methanolischen Extrakt der Bodenprobe E-Hü-1b-B-GG 15 Homologe der sog. 2H-PFCA erkannt. Hierbei handelt es sich um Abbauprodukte von Telomeralkoholen, die beim aeroben Abbau von FTOH entstehen können. Die 2H-PFCA wurden aufgrund fehlender Standardsubstanzen über einen positiven Match mit einem Literaturspektrum bestätigt (Liu et al., 2015).

Als fluorspezifische Screening-Methode für flüchtige Verbindungen wurde die GC-EPED-Analytik getestet. Die untersuchten Bodenproben waren schon vor längerer Zeit mit PFAS kontaminiert worden, sodass davon ausgegangen werden kann, dass flüchtige Verbindungen

dungen größtenteils schon entwichen sind. Dementsprechend konnten mit diesem Screening vor dem Hintergrund der vergleichsweise geringen Nachweisempfindlichkeit (Nachweisgrenze ca. 100 µg/kg FG für FTOH) keine flüchtigen Fluorverbindungen gefunden werden. Diese Analytik ist daher für Proben bei den im Untersuchungsgebiet zu vermutenden geringen Konzentrationen kein geeignetes Screening-Verfahren.

Ein getestetes Aufschlussverfahren für Poly(meth)acrylate und dem anschließenden Nachweis der entstandenen Acrylat-Monomere mittels GC-PCI-MS erwies sich ebenfalls als nicht zielführend. Daher wurde anstelle der Thermo-/Hydrolyse ein oxidativer Ansatz getestet. Hierzu wurden Bodenextrakte mit dem fluorierten Lösungsmittel HFIP hergestellt. Nach einer Entfernung niedermolekularer fluorierter Vorläuferverbindungen durch eine fraktionierende Gelpermeationschromatographie (GPC) wurde die erhaltene Fraktion einer Oxidation unterworfen, bei der die hochpolymeren fluorierten Papierhilfsmittel zu kleineren Molekülen wie PFOA oder PFOS transformiert werden, die mittels LC-MS/MS bestimmt werden können. Vorversuche mit dem technischen Produkt Cartafluor CFI zeigten allerdings, dass mit diesem Verfahren nur ca. 1 % des eingesetzten Polymers als bestimmbare PFAS quantifiziert werden kann.

Die auf diese Weise untersuchten Bodenproben NAW, E50-6 und insbesondere die Probe Wi-MP1 zeigten Konzentrationen an PFCA deutlich über der Nachweisgrenze und dem Blindwert. Hier ist davon auszugehen, dass entsprechende fluorierte Polymer-Seitenketten als Vorläufer für die Bildung von PFCA zur Verfügung standen. Die beiden Proben E-BAD1-M4 und E-Hü16-B-GG ergaben bei dieser Analytik erhöhte Gehalte für PFOS, die sich klar von den anderen Verteilungsmustern unterscheiden. Hier ist davon auszugehen, dass entsprechende hochmolekulare fluorierte Vorläufer für die Bildung von PFOS zur Verfügung stehen.

Zusammenfassend haben die Ergebnisse dieses Projekts gezeigt, dass die Anwendung von summarischen Parametern, wie z. B. die EOF-Bestimmung oder die Anwendung des TOP-Assays vor allem quellennah (im PFAS-kontaminierten Boden) sinnvoll ist, während der Transfer Boden-Pflanze bereits durch die Anwendung der Target-Analytik auf PFAS unter Einbeziehung einiger wichtiger Zwischenabbauprodukte gut beschrieben werden kann.

Das in diesem Projekt EOFplus erfolgreich entwickelte analytische Instrumentarium wird zukünftig in dem vom Land Baden-Württemberg geförderten Folgeprojekt FluorTECH (FKZ BWPFC19007) eingesetzt. In diesem Folgeprojekt werden Abbau und Verlagerung von PFAS auf den Pfaden Boden-Grundwasser und Boden-Pflanze anhand von Versuchen mit PFAS-haltigen Mitteln zur Oberflächenveredelung und -beschichtung aus der Papierindustrie genauer untersucht.

6 Literatur

- Anastassiades, M.; Kolberg, D.I.; Benkenstein, A.; Eichhorn, E.; Zechmann, S.; Mack, D.; Wildgrube, C.; Sigalov, I.; Dörk, D.; Barth, A. (2017) Quick method for the LC-MS/MS analysis of highly polar pesticides in foods of plant origin involving a common extraction step with methanol (QuPPE-method). Version 9.3. EU Reference Laboratory for pesticides requiring Single Residue Methods (EURL-SRM).
- Begley, T.H.; Hsu, W.; Noonan, G.; Diachenko, G. (2008) Migration of fluorochemical paper additives from food-contact paper into foods and food simulants. *Food Additives & Contaminants: Part A* 25 (3), 384–390.
- Benskin, J.P.; Ikononou, M.G.; Gobas, F.A.; Begley, T.H.; Woudneh, M.B.; Cosgrove, J.R. (2013) Biodegradation of *N*-ethyl perfluorooctane sulfonamido ethanol (EtFOSE) and EtFOSE-based phosphate diester (SAmPAP diester) in marine sediments. *Environ. Sci. Technol., Environ. Sci. Technol.* 47 (3), 1381–1389.
- Berger, T.W.; Likens, G.E. (1999) Effects of acid anion additions (trifluoroacetate and bromide) on soil solution chemistry of a northern hardwood forest soil. *Water, Air, Soil Pollut.* 116 (3/4), 479–499.
- Berger, U.; Glynn, A.; Holmström, K.; Berglund, M.; Halldin Ankarberg; E., Törnkvist, A. (2009) Fish consumption as a source of human exposure to perfluorinated alkyl substances in Sweden – Analysis of edible fish from Lake Vättern and the Baltic Sea. *Chemosphere*, 76: p. 799-804.
- Boutonnet, J.C.; Bingham, P.; Calamari, D.; de Rooij, C.; Franklin, J.; Kawano, T.; Libre, J.-M.; McCulloch, A.; Malinverno, G.; Odom, J.M.; Rusch, G.M.; Smythe, K.; Sobolev, I.; Thompson, R.; Tiedje, J.M. (1999) Environmental risk assessment of trifluoroacetic acid. Human and ecological risk assessment: An International Journal 5 (1), 59–124.
- Buck, R.C.; Franklin, J.; Berger, U.; Conder, J.M.; Cousins, I.T.; de Voogt, P.; Jensen, A.A.; Kannan, K.; Mabury, S.A.; van Leeuwen, S.P. et al. (2011) Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: terminology, classification, and origins. *Integr. Environ. Assess. Managem.* 7(4): 513-541.
- Cahill, T.M.; Benesch, J.A.; Gustin, M.S.; Zimmerman, E.J.; Seiber, J.N. (1999) Simplified method for trace analysis of trifluoroacetic acid in plant, soil, and water samples using headspace gas chromatography. *Anal. Chem.* 71 (20), 4465–4471.
- Christoph, E. (2002) Bilanzierung und Biomonitoring von Trifluoracetat und anderen Halogenacetaten. Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Fakultät Biologie, Chemie und Geowissenschaften der Universität Bayreuth.
- Conant, J.B.; Tuttle, N. (1921). Mesityl oxide. *Organic Syntheses* 1:53.
- D'eon, J.C.; Crozier, P.W.; Furdui, V.I.; Reiner, E.J.; Libelo, E.L.; Mabury, S.A. (2009) Observation of a commercial fluorinated material, the polyfluoroalkyl phosphoric acid diesters, in human sera, wastewater treatment plant sludge, and paper fibers. *Environ. Sci. Technol.* 43 (12), 4589–4594.

- Ding, H.; Peng, H.; Yang, M.; Hu, J. (2012) Simultaneous determination of mono- and disubstituted polyfluoroalkyl phosphates in drinking water by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1227, 245–252.
- Drewnowski, A.; Rehm, C.D.; Constant, F. (2013a) Water and beverage consumption among adults in the United States: Cross-sectional study using data from NHANES 2005–2010. *BMC Public Health* 13(1):1068.
- Drewnowski, A.; Rehm, C.D.; Constant, F. (2013b) Water and beverage consumption among children age 4-13y in the United States: Analyses of 2005–2010 NHANES data. *Nutr. J.* 12(1):85.
- EUURL-SRM (2017). EUURL-SRM – Residue Findings Report. Residues of DFA and TFA in Samples of Plant Origin. Version 1 (last update: 5.06.2017). EU Reference Laboratory for Pesticides Requiring Single Residue Methods.
- Gautam, R.; Bhardwaj, N.; Saini, Y. (2010). Fluoride accumulation by vegetables and crops grown in Nava Tehsil of Nagaur district (Rajasthan, India). *J. Phytol.* 2 (2), 80–85.
- Gellrich, V.; Knepper, T.P. (2012) Sorption and Leaching Behavior of Perfluorinated Compounds in Soil. In: Knepper, T.P.; Lange, F.T. (Hrsg.) *Polyfluorinated Chemicals and Transformation Products*, Wiley.
- Gruber, L.; Wolz, G.; Hagl, T.; Fiedler, D.; Gescheidl, A.; Schlummer, M. (2014) Water-repellent textiles for technical applications release perfluorinated carboxylic acids (PFAA) after chemical oxidation, 6th International Workshop on PFASs, Idstein.
- Guo, R.; Megson, D.; Myers, A.L.; Helm, P.A.; Marvin, C.; Crozier, P.; Mabury, S.; Bhavsar, S.P.; Tomy, G.; Simcik, M.; McCarry, B., Reiner, E.J. (2016) Application of a comprehensive extraction technique for the determination of poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) in Great Lakes Region sediments. *Chemosphere* 164, 535-546.
- Gupta, S., Banerjee, S. (2011) Fluoride in crops and dietary intake in a fluoride-endemic area of West Bengal. *Fl. Off. Q. J. Int. Soc. F.* 44 (3), 153–157.
- Higgins, C.P.; Field, J.A.; Criddle, C.S., Luthy, R.G. (2005) Quantitative determination of perfluorochemicals in sediments and domestic sludge. *Environ. Sci. Technol.* 39(11), 3946-3956.
- Houtz, E.F.; Sedlak D.L. (2012) Oxidative conversion as a means of detecting precursors to perfluoroalkyl acids in urban runoff. *Environ. Sci. Technol.* 46:9342–9349.
- Houtz, E.F.; Higgins, C.P.; Field, J.A.; Sedlak, D.L. (2013) Persistence of perfluoroalkyl acid precursors in AFFF-impacted groundwater and soil. *Environ. Sci. Technol.* 47:8187–8195.
- Janda, J.; Nödler, K.; Brauch, H.-J.; Zwiener, C.; Lange, F.T. (2018) Robust trace analysis of polar (C2-C8) perfluorinated carboxylic acids by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Method development and application to surface water, groundwater and drinking water. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, doi: 10.1007/s11356-018-1731-x.
- Landkreis Rastatt (2018). Untersuchung der Tiefenverlagerung von PFC und potentiellen Vorläufersubstanzen auf landwirtschaftlich genutzten Flächen im Raum Rastatt / Baden-Baden, https://rp.baden-wuerttemberg.de/rpk/Abt5/Ref541/PFC/Documents/9a_pfc_forsch_tiefenverlagerung_eof.pdf

- Lange, F.T.; Müller, J.; Körner, B. (2017) Entwicklung eines fluorspezifischen Gruppenparameters „EOF“ für Boden und weitere Feststoffmatrices. Forschungsbericht BWPLUS, Förderkennzeichen L7515008, <https://fachdokumente.lubw.baden-wuerttemberg.de/servlet/is/125554/l7515008.pdf?command=downloadContent&filename=l7515008.pdf&FIS=203>.
- Lee, H.; Mabury, S. A. (2011) A pilot survey of legacy and current commercial fluorinated chemicals in human sera from United States donors in 2009. *Environ. Sci. Technol.* 45 (19), 8067–8074.
- Likens, G.E.; Tartowski, S.L.; Berger, T.W.; Richey, D.G.; Driscoll, C.T.; Frank, H.G.; Klein, A. (1997) Transport and fate of trifluoroacetate in upland forest and wetland ecosystems. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 94, 4499–4503.
- Liu, J.; Mejia Avendaño, S. (2013) Microbial degradation of polyfluoroalkyl chemicals in the environment: A review. *Environ. Int.* 61, 98-114.
- Liu, Y.; Pereira Ados, S.; Martin, J.W. (2015) Discovery of C5-C17 poly- and perfluoroalkyl substances in water by in-line SPE-HPLC-Orbitrap with in-source fragmentation flagging. *Anal. Chem.* 87, 4260-4268.
- Liu, C.; Liu, J. (2016) Aerobic biotransformation of polyfluoroalkyl phosphate esters (PAPs) in soil. *Environ. Pollut.* 212, 230-237.
- Mueller, L.; Behrendt, A.; Schalitz, G.; Schindler, U. (2005) Above ground biomass and water use efficiency of crops at shallow water tables in a temperate climate. *Agric. Water Manage.* 75, 117–136.
- Niu, J.; Lin, H.; Xu, J.; Wu, H.; Li, Y. (2012) Electrochemical mineralization of perfluorocarboxylic acids (PFCAs) by Ce-doped modified porous nanocrystalline PbO₂ film electrode. *Environ. Sci. Technol.* 46(18), 10191-10198.
- Nürnberg, G.; Nödler, K.; Scheurer, M.; Lange, F.T. (2018) Weiterentwicklung und Validierung einer Methode zum spurenanalytischen Nachweis von polyfluorierten Alkylphosphaten (PAP) im Boden unter Einbeziehung von Perfluoroktansulfonamidoethanol-basierenden Phosphateestern (SAmPAP). Abschlussbericht zu einem Auftrag der Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg (LUBW), Februar 2018.
- Polson, C.; Sarkar, P.; Incledon, B.; Raguvaran, V.; Grant, R. (2003) Optimization of protein precipitation based upon effectiveness of protein removal and ionization effect in liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B* 785, 263-275.
- Richey, D.G.; Driscoll, C.T.; Likens, G.E. (1997) Soil retention of trifluoroacetate. *Environ. Sci. Technol.* 31, 1723–1727.
- Rhoads, K.R.; Janssen, E.M.-L.; Luthy, R.G.; Criddle, Craig, S. (2008) Aerobic biotransformation and fate of *N*-ethyl perfluorooctane sulfonamidoethanol (*N*-EtFOSE) in activated sludge. *Environ. Sci. Technol.* 42, 2873–2878.
- Rollins, A.; Barber, J.; Elliott, R.; Wood, B. (1989) Xenobiotic monitoring in plants by ¹⁹F and ¹H nuclear magnetic resonance imaging and spectroscopy. Uptake of trifluoroacetic acid in *Lycopersicon esculentum*. *Plant Phys.* 91, 1243–1246.
- Roth, D.; Günther, R.; Knoblauch, S.; Michel, H. (2005) Wasserhaushaltsgrößen von Kulturpflanzen unter Feldbedingungen. Ergebnisse der TLL-Lysimeterstation. Schriftenreihe Heft 1 / 2005. Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft.

Scheurer, M.; Nödler, K.; Freeling, F.; Janda, J.; Happel, O.; Riegel, M.; Müller, U.; Storck, F. Rüdiger; Fleig, M.; Lange, F.T.; Brunsch, A.; Brauch, H.-J. (2017) Small, mobile, persistent: Trifluoroacetate in the water cycle - Overlooked sources, pathways, and consequences for drinking water supply. *Water Res.* 126, 460–471.

Schlummer M.; Gruber L.; Fiedler D.; Kizlauskas M.; Müller J. (2013) Detection of fluorotelomer alcohols in indoor environments and their relevance for human exposure. *Environ. Int.* 57–58, 42–49.

Schymanski, E.L.; Jeon, J.; Gulde, R.; Fenner, K.; Ruff, M.; Singer, H.P.; Hollender, J. (2014) Identifying small molecules via high resolution mass spectrometry: communicating confidence. *Environ. Sci. Technol.* 48, 2097–2098.

Solomon, K.R.; Velders, G.J. M.; Wilson, S.R.; Madronich, S.; Longstreth, J.; Aucamp, P.J.; Bornman, J. F. (2016) Sources, fates, toxicity, and risks of trifluoroacetic acid and its salts: Relevance to substances regulated under the Montreal and Kyoto Protocols. *J. Toxicol. Environ. Health, Part B* 19, 1–16.

Souverain, S.; Rudaz, S.; Veuthey, J.L. (2004) Protein precipitation for the analysis of a drug cocktail in plasma by LC-ESI-MS. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 35, 913-920.

Standley, L.J.; Bott, T.L. (1998) Trifluoroacetate, an atmospheric breakdown product of hydrofluorocarbon refrigerants. Biomolecular fate in aquatic organisms. *Environ. Sci. Technol.* 32, 469–475.

Stiles, R.; Yang, I.; Lippincott, R.L.; Murphy, E.; Buckley, B. (2007) Potential sources of background contaminants in solid phase extraction and microextraction. *J. Sep. Sci.* 30, 1029-21036.

Trier, X.; Granby, K.; Christensen, J.H. (2011) Polyfluorinated surfactants (PFS) in paper and board coatings for food packaging. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 18, 1108-1120.

Trier, X.; Peaslee, D.L.G.; Wang, Z. (2015) PFASTRIER compound list; Available from: https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical_lists/pfastrier.

Ullah, S.; Huber, S.; Bignert, A.; Berger, U. (2014) Temporal trends of perfluoroalkane sulfonic acids and their sulfonamide-based precursors in herring from the Swedish west coast 1991–2011 including isomer-specific considerations. *Environ. Int.* 65, 63-72.

US-EPA (2016) Drinking water health advisory for perfluorooctanoic acid (PFOA). U.S. Environmental Protection Agency. URL: https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-05/documents/pfoa_health_advisory_final-plain.pdf. Zuletzt aufgerufen: 30.09.2018.

von der Trenck; K.T., Konietzka, R.; Biegel-Engler, A.; Brodsky, J.; Hadicke, A.; Quadflieg, A.; Stockerl, R.; Stahl, T. (2018) Significance thresholds for the assessment of contaminated groundwater: perfluorinated and polyfluorinated chemicals. *Environ. Sci. Eur.* 30(1):19. doi: 10.1186/s12302-018-0142-4.

Walters, C.B.; Sherlock, J.C.; Evans, W.H.; Read, J.I. (1983) Dietary intake of fluoride in the United Kingdom and fluoride content of some foodstuffs. *J. Sci. Food Agric.* 34, 523–528.

Washington, J.W.; Ellington, J.J.; Jenkins, T.M.; Evans, J.J.; Yoo, H.; Hafner, S.C. (2009) Degradability of an acrylate-linked, fluorotelomer polymer in soil. *Environ. Sci. Technol.* 43, 6617-6623.

Washington, J.W.; Jenkins, T.M.; Rankin, K.; Naile, J.E. (2015) Decades-scale degradation of commercial, side-chain, fluorotelomer-based polymers in soils and water. *Environ. Sci. Technol.* 49, 915-923.

Washington, J.W.; Jenkins, T.M. Weber, E.J. (2015) Identification of unsaturated and 2H polyfluorocarboxylate homologous series and their detection in environmental samples and as polymer degradation products. *Environ. Sci. Technol.* 49, 13256-13263.

Wen, B.; Pan, Y.; Shi, X.; Zhang, H.; Hu, X.; Huang, H.; Lv, J.; Zhang, S. (2018) Behavior of *N*-ethyl perfluorooctane sulfonamido acetic acid (*N*-EtFOSAA) in biosolids amended soil-plant microcosms of seven plant species: Accumulation and degradation. *Sci. Tot. Environ.* 642, 366-373.

Wolz, G.; Gruber, L.; Ewender, J.; Fiedler, D.; Schlummer, M. (2010) Development of screening methods for fluorinated coatings of food contact materials and other everyday commodities. *Organohalogen Compd.* 72, 1173-1176.

Wolz, G.; Schlummer, M.; Gruber, L.; Fiedler, D. (2010) Levels of perfluorinated carboxylic acids (PFCA), perfluorinated sulfonic acids (PFSA), and fluorinated telomers (FTOH) identified in paper-based food contact materials from the German market. *Organohalogen Compd.* 72 (2010), 1310-1313.

Wright-Walters, M.; Volz, C.; Talbott, E.; Davis, D. (2011). An updated weight of evidence approach to the aquatic hazard assessment of bisphenol A and the derivation a new predicted no effect concentration (PNEC) using a non-parametric methodology. *Sci. Tot. Environ.* 409(4): 676-685.

Yu, Y.; Xu, D.; Lu, M.; Zhou, S.; Peng, T.; Yue, Z.; Zhou, Y. (2015) QuEChERs combined with online interference trapping LC-MS/MS method for the simultaneous determination of 20 polyfluoroalkane substances in dietary milk. *J. Agric. Food Chem.* 63, 4087-4095.

7 Anhang

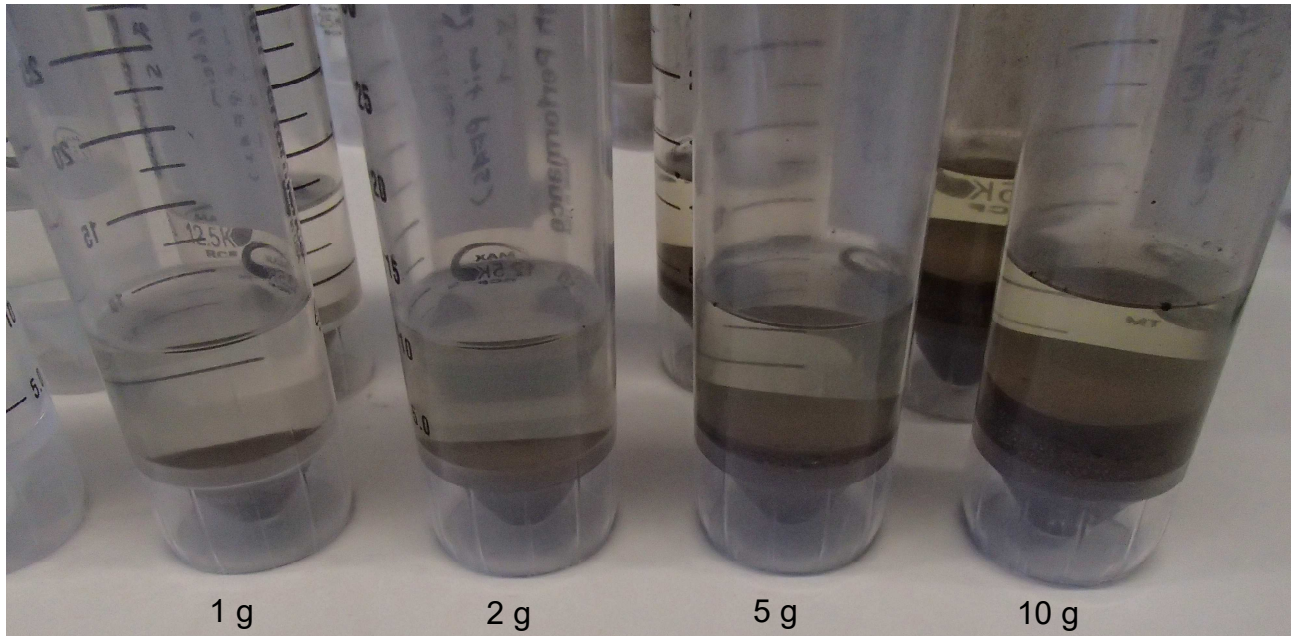


Abbildung A1: Veranschaulichung der Handhabbarkeit einer erhöhten Bodeneinwaage im Labor hinsichtlich eines ausreichenden Überstands nach der Zentrifugation.

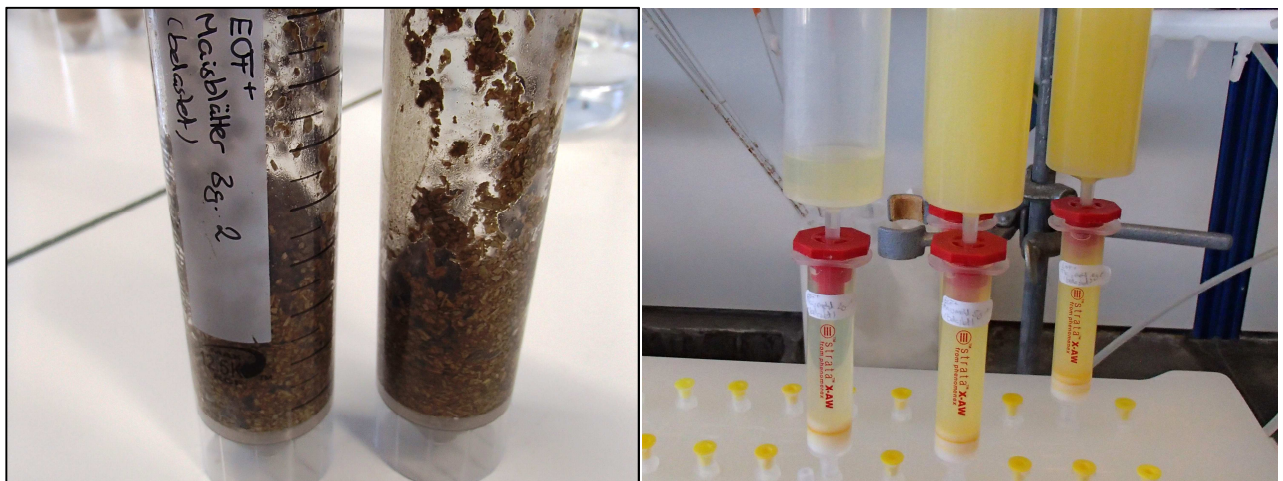


Abbildung A2: Probleme bei der Probenvorbereitung von Pflanzenproben: Nicht ausreichende Benetzung und unzureichender Überstand nach der Zentrifugation (links); komplette Verblockung der für den Clean-up-Schritt eingesetzten SPE-Kartuschen Weizen- und Mais Korn.

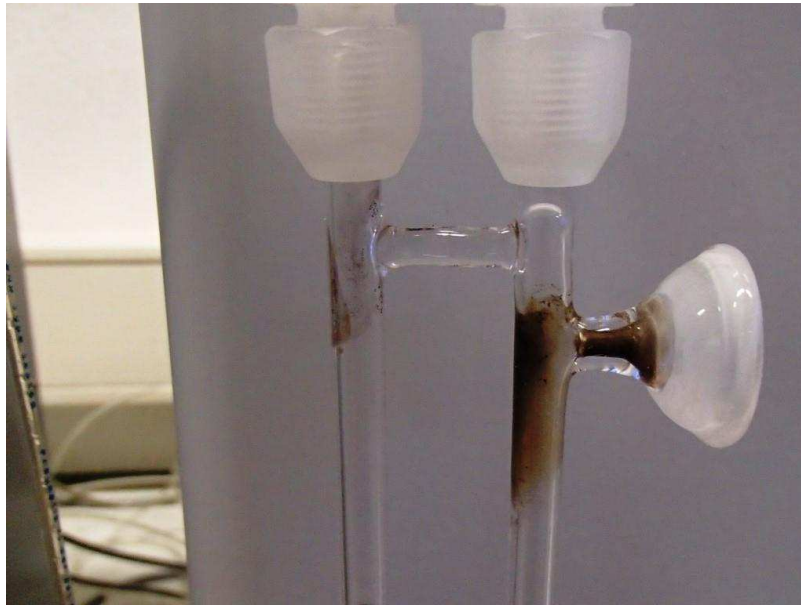


Abbildung A3: Kontaminationen an der Gasableitung der CIC nach der Direktverbrennung von Pflanzenproben



Abbildung A4: Schwefelsäureaufschlüsse von jeweils 0,05 g Maiskorn (links), Tobinambur (Mitte) und Maisblatt (rechts) nach Neutralisation mit Natronlauge.

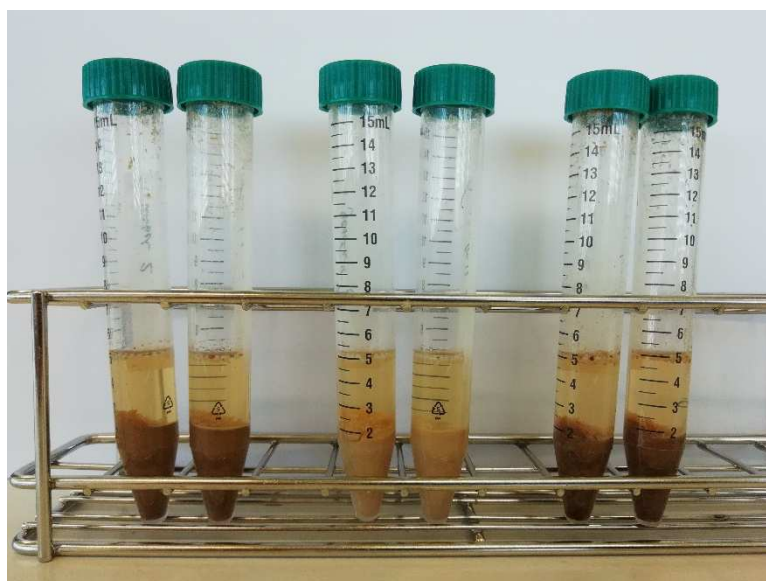


Abbildung A5: Unterschiedliche Pflanzenteile von Topinambur nach einfacher Ameisensäurer, wässrig-methanolischer Extraktion und anschließender Zentrifugation. Links: Tobinambur (gesamt). Mitte: geschälter Tobinambur. Rechts: Tobinamburschale.

Tabelle A1: Übersicht über die (a) 25 Zielanalyten im EOFplus Projekt, (b) die 16 repräsentativen, käuflich erwerblichen Stoffe, die für die Methodenentwicklung und -validierung genutzt wurden und (c) die zur Qualitätssicherung verwendeten isotoopenmarkierten internen Standards.

**(a)
25 Zielanalyten**

n:2 FTCA
n:2 FTUCA
(n-1):3 Acid
(n-1):3 UAcid
Jeweils n=6,8,10,12

FOSE
FOSA
FOSAA
Jeweils -,Me,Et

**(b)
16 repräsentative
Analyten**

FOSA
MeFOSA
EtFOSA
MeFOSE
EtFOSE
FOSAA
MeFOSAA
EtFOSAA
6:2 FTCA
8:2 FTCA
10:2 FTCA
6:2 FTUCA
8:2 FTUCA
10:2 FTUCA
5:3 Acid
7:3 Acid

**(c)
Isotoopenmarkierte interne
Standards**

M8-FOSA
d-EtFOSA
d7-MeFOSE
d3-MeFOSAA
M-8:2 FTCA
M-6:2 FTUCA

Tabelle A2: Übersicht über die genutzten MRM-Übergänge, Cone Voltages und Kollisionsenergien im negativen Ionisierungsmodus für die massenspektroskopische Detektion der analysierten, polyfluorierten Analyten.

PFAS	Precursor m/z	Produkt m/z Quantifier Qualifier	Cone Voltage [V]	Kollisionsenergie [eV]
FOSA	498,2	77,9	6	30
		478,1		24
MeFOSA	512,1	169,0	2	28
		219,0		24
EtFOSA	526,2	169,0	2	28
		219,0		24
MeFOSE (Acetataddukt)	616,2	59,0	10	12
EtFOSE (Acetataddukt)	630,1	-	16	16
		59,0		
FOSAA	556,2	419,1	2	26
		498,0		26
MeFOSAA	570,1	419,0	34	20
		483,0		16
EtFOSAA	584,2	419,0	2	18
		526,0		20
6:2 FTCA	377,2	293,0	10	34
		313,0		30
8:2 FTCA	477,2	393,0	6	12
		413,0		4
10:2 FTCA	577,2	493,0	15	17
		513,0		8
6:2 FTUCA	357,3	243,0	10	28
		293,0		18
8:2 FTUCA	457,1	343,0	18	34
		393,0		18
10:2 FTUCA	557,1	243,0	4	34
		493,1		20
5:3 Acid	341,3	217,1	24	24
		237,1		12
7:3 Acid	441,2	317,1	24	24
		337,1		10

Tabelle A3: Gradientenelutionsprogramm für die chromatographische Trennung von polyfluorierten Vorläuferverbindungen mit Hilfe der Säule Acquity UPLC BEH Shield RP18 (50 × 2,1 mm, 1,7 µm Partikeldurchmesser) bei einer Flussrate von 0,4 mL/min und einer Säulentemperatur von 40°C; NH₄OAc: Ammoniumacetat.

Zeit	2 mM NH ₄ OAc in H ₂ O/MeOH (95/5)	2 mM NH ₄ OAc in H ₂ O/MeOH/ACN (5/75/20)
0,00 min	90 %	10 %
1,50 min	90 %	10 %
4,50 min	35 %	65 %
8,25 min	20 %	80 %
8,26 min	0,1 %	99,9 %
9,50 min	0,1 %	99,9 %
10,80 min	0,1 %	99,9 %
10,81 min	90 %	10 %
15,00 min	90 %	10 %

Tabelle A4: Übersicht über die extrahierten Probenmengen, die durchschnittlichen Volumina und experimentell bestimmten Dichten der finalen Extrakte nach Aufkonzentrierung, die Injektionsvolumina, die Konzentrationen der internen Standards (IS) und die resultierende injizierte Matrixmenge für die LC-MS/MS Analytik.

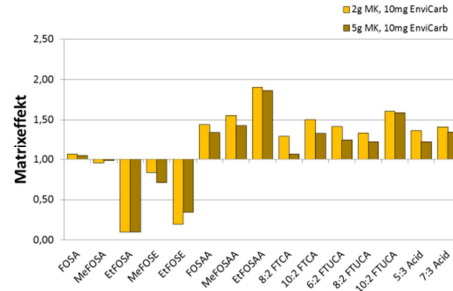
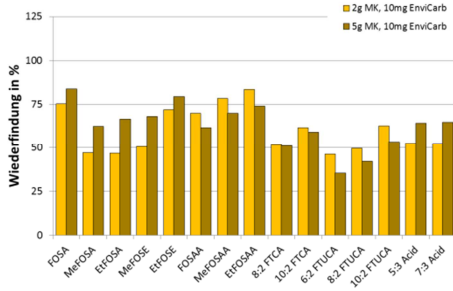
Art der Matrix	extrahierte Probemenge in (g)	durchschnittliches Volumen des Extrakts (mL)	Dichte des Extrakts (g/mL)	Injektions- volumen (µL)	Konzentration der IS (ng/g)	Injizierte Matrixmenge (mg)
Maiskorn	5	0,569	0,87	2,5	2	22,0
Maisblatt	1	0,662	0,85	2,5	10	3,78
Topinambur	2	0,690	0,84	2,5	5	7,25
Weizenkorn	5	0,720	0,84	2,5	2	17,4
Weidelgras	1	0,739	0,83	2,5	10	3,38

Tabelle A5: Übersicht über die ermittelten Matrixeffekte bei optimierten Extraktionsbedingungen in Boden, Maiskorn (MK), Maisblatt (MB), Weizenkorn (WE), Topinambur (TO) und Weidelgras (WG). Die Abwesenheit von Matrixeffekten ist durch den Faktor 1 charakterisiert, während bei Werten <1 Signalsuppression (0,5 bedeutet halbe Signalfläche) und bei Werten >1 Signalverstärkung (2 bedeutet doppelte Signalfläche) beobachtet wurde.

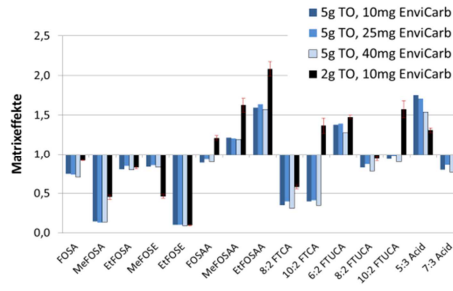
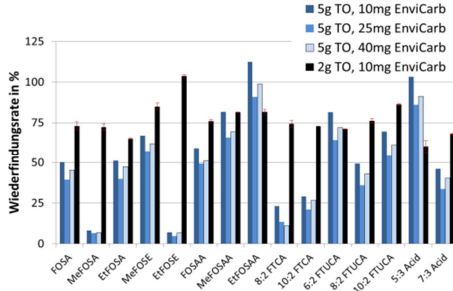
	Boden*	MK	MB	WE	TO	WG
FOSA	1,09	1,05	0,78	1,11	0,92	0,49
MeFOSA	1,10	0,98	0,70	0,86	0,45	0,25
EtFOSA	1,07	0,10	0,70	0,08	0,83	0,30
MeFOSE	1,14	0,71	0,40	0,68	0,46	0,24
EtFOSE	1,13	0,34	0,08	0,17	0,09	0,07
FOSAA	1,13	1,34	0,94	1,43	1,21	0,69
MeFOSAA	1,09	1,43	1,00	1,57	1,63	0,77
EtFOSAA	1,06	1,86	1,20	1,92	2,08	0,99
6:2 FTCA	1,79	-	-	-	-	-
8:2 FTCA	1,15	1,06	0,54	1,10	0,58	0,13
10:2 FTCA	1,19	1,33	0,55	1,33	1,37	0,61
6:2 FTUCA	1,12	1,25	1,15	1,68	1,48	0,57
8:2 FTUCA	1,09	1,23	0,80	1,22	0,94	0,27
10:2 FTUCA	1,13	1,59	0,96	1,52	1,58	0,62
5:3 Acid	1,11	1,23	1,17	1,80	1,31	0,51
7:3 Acid	1,12	1,35	0,75	1,44	0,93	0,26

* Die Matrixeffekte können zwischen verschiedenen Bodenproben variieren, da diese unterschiedlich zusammengesetzt sein können.

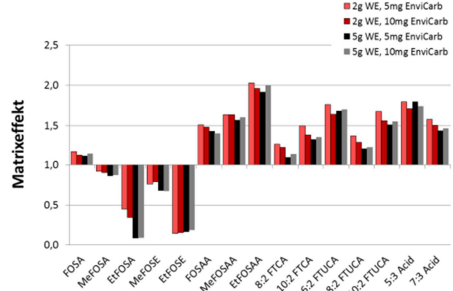
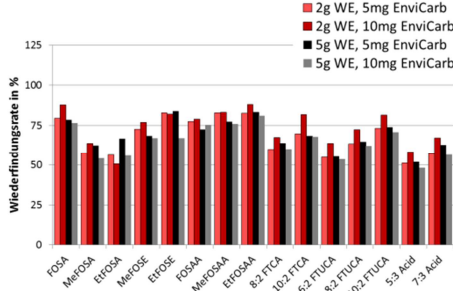
(a) Maiskorn



(b) Topinambur



(c) Weizenkorn



(d) Weidelgras

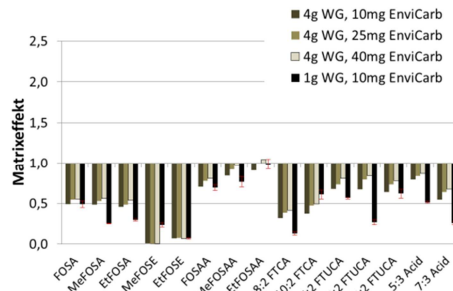
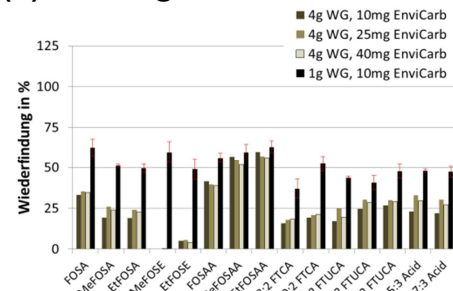


Abbildung A6: Wiederfindungen (links) und Matrixeffekte (rechts) der Analyten unter Verwendung von unterschiedlichen Mengen ENVI-Carb nach Extraktion von dotierten Proben (2-10 µg/kg) von (a) Maiskorn, (b) Topinambur, (c) Weizenkorn und (d) Weidelgras.

Tabelle A6: Konzentration der Analyten in den 10 dotierten Proben zur Erstellung der MME-Kalibrierung in Maisblattmatrix zur Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze nach DIN 32645 und zur Quantifizierung in kontaminierter Matrix. Gruppe A: 8:2 FTUCA, MeFOSAA, FOSA, 10:2 FTUCA, MeFOSA. Gruppe B: EtFOSAA, 6:2 FTUCA, 7:3 Acid, FOSAA. Gruppe C: 5:3 Acid, EtFOSA. Gruppe D: MeFOSE. Gruppe E: 10:2 FTCA. Gruppe F: 8:2 FTCA, EtFOSE. Gruppe G: 6:2 FTCA.

Konzentrationslevel in Maisblattmatrix	Gruppe A (pg/g)	Gruppe B (pg/g)	Gruppe C (pg/g)	Gruppe D (pg/g)	Gruppe E (pg/g)	Gruppe F (pg/g)	Gruppe G (pg/g)
#1	4,0	8,5	22,0	108,0	280,0	770	2100
#2	16,0	34,0	88,0	432,0	1120	3080	8400
#3	26,7	56,7	146,7	720,0	1867	5133	14 000
#4	37,3	79,3	205,3	1008	2613	7187	19 600
#5	48,0	102,0	264,0	1296	3360	9240	25 200
#6	58,7	124,7	322,7	1584	4107	11 293	30 800
#7	69,3	147,3	381,3	1872	4853	13 347	36 400
#8	80,0	170,0	440,0	2160	5600	15 400	42 000
#9	90,7	192,7	498,7	2448	6347	17 453	47 600
#10	101,3	215,3	557,3	2736	7093	19 507	53 200

Tabelle A7: Konzentration der Analyten in den 10 dotierten Proben zur Erstellung der MME-Kalibrierung in Maiskornmatrix zur Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze nach DIN 32645 und zur Quantifizierung in kontaminierter Matrix. Gruppe A: 8:2 FTUCA, MeFOSAA, FOSA, 10:2 FTUCA, MeFOSA, EtFOSAA. Gruppe B: 6:2 FTUCA, 7:3 Acid, FOSAA. Gruppe C: 5:3 Acid. Gruppe D: MeFOSE, 10:2 FTCA. Gruppe E: 8:2 FTCA, EtFOSA, EtFOSE. Gruppe F: 6:2 FTCA.

Konzentrationslevel in Maiskornmatrix	Gruppe A (pg/g)	Gruppe B (pg/g)	Gruppe C (pg/g)	Gruppe D (pg/g)	Gruppe E (pg/g)	Gruppe F (pg/g)
#1	0,6	1,3	3,6	12,0	46,0	392,0
#2	2,4	5,2	14,4	48,0	184,0	1568
#3	4,0	8,7	24,0	80,0	306,7	2613
#4	5,6	12,1	33,6	112,0	429,3	3659
#5	7,2	15,6	43,2	144,0	552,0	4704
#6	8,8	19,1	52,8	176,0	674,7	5749
#7	10,4	22,5	62,4	208,0	797,3	6795
#8	12,0	26,0	72,0	240,0	920,0	7840
#9	13,6	29,5	81,6	272,0	1043	8885
#10	15,2	32,9	91,2	304,0	1165	9931

Tabelle A8: Konzentration der Analyten in dotierten unkontaminierten Matrices zur Erstellung der MME-Kalibrierung in Boden, Weizenkorn, Weidelgras und Topinambur zur rationalen Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenze und zur Quantifizierung in kontaminierten Matrices. Alle Experimente wurden im Duplikat durchgeführt.

Konzentrationslevel	Konzentration in Boden (pg/g)	Konzentration in Weizenkorn (pg/g)	Konzentration in Weidelgras (pg/g)	Konzentration in Topinambur (pg/g)
#1	6,4	2,0	10	5,0
#2	32	4,0	20	10
#3	160	8,0	40	20
#4	800	16	80	40
#5	4000	30	150	75
#6	20 000	-	-	500
#7	100 000	-	-	1250
#8		-	-	4000

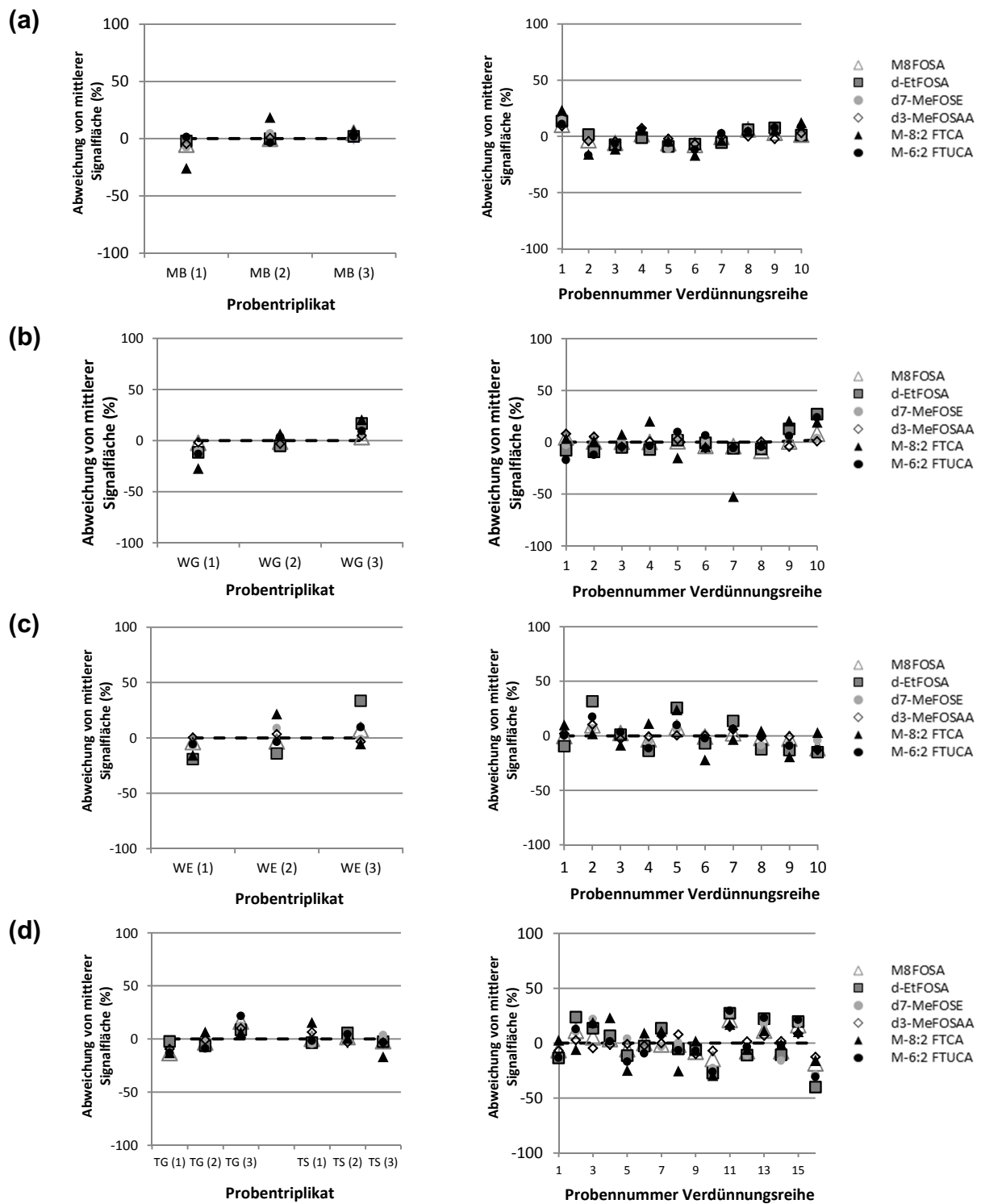


Abbildung A7: Übersicht der Variation der Signalflächen von sechs internen Standards (dotiert mit 2-10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) zur Kontrolle der Wiederholbarkeit der Quantifizierung von kontaminierten Proben (links, Triplikate) und von dotierten unkontaminierten Proben (rechts, zur Erstellung der MME-Kalibrierung). (a) Maisblatt, (b) Weidelgras, (c) Weizenkorn und (d) Topinambur.

Tabelle A9: Konfidenzstufen der massenspektrometrischen Detektion von Analyten ohne authentische Referenzstandards.

Konfidenzstufe	Bedeutung
a	Zwei MRM wurden detektiert. Vorhergesagte und experimentell ermittelte Retentionszeiten weichen maximal 30 Sekunden voneinander ab.
b	Lediglich ein MRM wurde detektiert. Vorhergesagte und experimentell ermittelte Retentionszeiten weichen maximal 30 Sekunden voneinander ab.
c	Lediglich ein MRM mit sehr geringer Intensität/nicht in allen Replikaten wurde detektiert. Vorhergesagte und experimentell ermittelte Retentionszeiten weichen maximal 30 Sekunden voneinander ab.
d	Zwei MRM wurden detektiert. Vorhergesagte und experimentell ermittelte Retentionszeiten weichen mehr als 30 Sekunden voneinander ab.
e	Ein MRM wurde detektiert. Vorhergesagte und experimentell ermittelte Retentionszeiten weichen mehr als 30 Sekunden voneinander ab.