

Programm Lebensgrundlage Umwelt  
und ihre Sicherung (BWPLUS)

## **SPEZIES DER KFZ-EMITTIERTEN PLATINGRUPPENELEMENTE (PGE) UND IHRE TOXISCHE WIRKUNG**

Stüben D.<sup>1</sup>, Eckhardt J.-D.<sup>1</sup>, Berner, Z.<sup>1</sup>, Zeller A.<sup>2</sup>, Hartwig A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut für Mineralogie und Geochemie der Universität Karlsruhe, 76128 Karlsruhe

<sup>2</sup>Institut für Lebensmittelchemie und Toxikologie der Universität Karlsruhe, 76128 Karlsruhe

Förderkennzeichen: BWB 21011 und BWB 20012

Die Arbeiten des Programms Lebensgrundlage Umwelt und ihre Sicherung werden mit Mitteln des  
Landes Baden-Württemberg gefördert

Dezember 2004

## ZUSAMMENFASSUNG

Seit Mitte der 80er Jahre werden die Edelmetalle Rh, Pd und Pt in Autoabgaskatalysatoren zur Verminderung des Schadstoffgasausstoßes eingesetzt. Der Einsatz der Platingruppenelemente (PGE) hat zu einem drastischen Anstieg der Konzentrationen dieser Elemente in der Umwelt, besonders im städtischen Staub und entlang stark befahrener Straßen, geführt. Dabei werden die PGE während des Fahrbetriebes als Partikel mit einer Korngröße vorwiegend  $\leq 10 \mu\text{m}$  emittiert.

In den letzten 10 Jahren wurden vor allem Daten über die Verteilung dieser Elemente in verschiedenen Umweltkompartimenten veröffentlicht, über ihre chemischen und mineralogischen Bindungsformen, ihre Mobilität und den Einfluss auf die menschliche Gesundheit ist aber wenig bekannt. Dies liegt vor allem an den insgesamt niedrigen Konzentrationen und der heterogenen Verteilung der PGE-haltigen Partikel in Umwelt- und biologischen Proben. Die Aufnahme dieser Kfz-emittierten Partikel in Lungenzellen, Folgereaktionen und das toxische Potential der Platingruppenelemente hängen stark von der Form bzw. Spezies ab, in der sie in den Partikeln vorliegen. Diese offenen Fragen wurden im gemeinsamen Forschungsansatz durch die Kombination unserer Erfahrung in der Mikroanalytik mit der Kompetenz des Instituts für Lebensmittelchemie und Toxikologie in der Toxikologie auf zellulärer Ebene untersucht.

Ziel der toxikologischen Untersuchungen im Rahmen dieses Projektes war die Abklärung eines möglichen genotoxischen Potentials von Platin- und Palladiumverbindungen in A549 menschlichen Lungenzellen.

Für das IMG ergaben sich in diesem Projekt zwei wichtige Schwerpunkte: 1. die Entwicklung und Durchführung einer zuverlässigen Analytik der PGE-Gehalte in Proben aus den toxikologischen Versuchen; 2. die Charakterisierung PGE-haltiger Partikel und die Untersuchung der Speziation der PGE in straßennah gesammelten Materialien.

Die hochauflösende ICP-MS hat sich für die Messung von Pt und Pd in DNA-Addukten und intrazellulären Proteinen als zuverlässig und effizient herausgestellt. Das analytische Vorgehen wurde mit qualitätssichernden Maßnahmen abgesichert. Die Ergebnisse zu den toxikologischen Untersuchungen werden im Berichtsteil B des Gemeinschaftsprojekts vorgestellt.

Zur Untersuchung der Partikel wurde eine Beprobungsstrategie konzipiert, die Kfz-emittierte PGE-Partikel in Abhängigkeit ihrer Korngröße direkt an einem Motorversuchsstand gewinnt. Weiterhin wurde eine Probennahme in den für Menschen relevanten Expositionshöhen (0 bis 2,5 m) an einer stark befahrenen Straße durchgeführt. Zusätzlich wurden verschiedene Straßenstäube gesammelt und in mehrere Korngrößenklassen klassifiziert.

Um die PGE-haltigen Partikel zu charakterisieren (Form, mineralogische und chemische Zusammensetzung) und die Speziation der PGE in Staub, Abgas, Atmosphäre und Straßenabfluss zu bestimmen, wurden verschiedene analytische Methoden (HR-ICP-MS (*High-resolution inductively coupled plasma mass spectrometer*)  $\pm$  Kopplung mit SEC (*Größenausschlusschromatographie*)  $\pm$  Kopplung mit Laser-ablation,  $\mu$ -Synchrotron-EDX (*Energiedispersive Röntgenfluoreszenz-Analyse mit Anregung durch Synchrotronquelle*), ESEM („*Environmental Scanning*“ *Elektronenstrahl-Mikrosonde*), XPS (*Röntgen-Photoelektronenspektroskopie*), XRD (*Röntgendiffraktometrie*)) angewendet. Trotz der

hohen räumlichen Auflösung und der Empfindlichkeit dieser Methoden, war es bisher, vermutlich aufgrund der heterogenen Verteilung und der geringen Größe, nicht möglich, PGE-haltige Partikel in Staubproben zu erfassen und hinreichend zu charakterisieren.

Nach Bestimmung der Gesamtkonzentrationen im Straßenstaub zeigte sich, dass mit abnehmender Partikelkorngröße (0,63 – 0,063 mm) die PGE-Konzentration zunimmt. Dies unterstreicht die potentielle, toxische Wirkung lungengängiger, Kfz-emittierter PGE-Partikel. Es wurde gezeigt, dass die Löslichkeit elementar vorliegender PGE (Katalysatormaterial) stark durch die Anwesenheit von Komplexbildnern, hier natürlich vorkommende Huminstoffe, erhöht wird.

Die indirekten Methoden der sequentiellen Extraktion und Säulenversuche wurden an dem ausgewählten Probenmaterial erfolgreich abgeschlossen. Die Extraktionsversuche wurden an Tunnelstaub und Gullysediment durchgeführt. Hierfür wurde ein zuverlässiges Aufschlussverfahren für kleine Mengen dieses spezifischen Materials entwickelt. Die sequentielle Extraktion hat gezeigt, dass ein hoher Anteil (bis zu 40%) des emittierten Pt in mobiler oder leicht verfügbarer Form vorliegt. Das restliche Pt ist als immobil zu bezeichnen. Die Säulenversuche dienten dazu, bisher nicht vorliegende Daten über das Adsorptionsverhalten der PGE an typischen Bodenphasen festzulegen. Sie wurden in der Projektlaufzeit an zwei repräsentativen Materialien (Mn-/Fe-Oxide, Quarz) durchgeführt und haben gezeigt, dass das Adsorptionsverhalten der PGE in diesen Materialien analog zu anderen Schwermetallen ist, diese Edelmetalle also bezüglich ihrer Mobilität in gelöster Form nicht anders einordnen sind. Diese Ergebnisse wurden auch durch parallel durchgeführte Adsorptionsversuche bestätigt.

Teil B des Vorhabens beschäftigte sich mit der Frage, inwieweit Platin- und Palladiumverbindungen in Lungenzellen in Kultur bioverfügbar sind und möglicherweise ein genotoxisches Potential aufweisen. Dabei konnte anhand der Bindung von Palladium und Platin zunächst gezeigt werden, dass nach Inkubation mit partikulären Verbindungen Assoziationen an Cytoplasma- und Kernproteine zu beobachten sind, wobei eine zeitabhängige Anreicherung im Zellkern stattfand. Darüber hinaus wurden nach Inkubation intakter Zellen mit unterschiedlichen partikulären Platin- und Palladiumverbindungen dosis- und zeitabhängige Pt- bzw. Pd-DNA-Addukte nachgewiesen; höchste Adduktzahlen bezogen auf den Platingehalt wurden nach Inkubation mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Pt-Partikeln beobachtet, die weitgehend den von Katalysatoren emittierten Partikeln ähneln. Ein erheblicher Anteil der entstandenen Addukte zeigte eine ähnliche chemische Stabilität wie durch das Chemotherapeutikum Cisplatin induzierte Addukte. Die von uns bislang durchgeführten Untersuchungen ergaben keinen Hinweis auf ein mutagenes oder Mikrokern-induzierendes Potential der Partikel; allerdings kann eine Unempfindlichkeit der verwendeten Testsysteme gegenüber partikulären Verbindungen nicht ausgeschlossen werden. Zusammenfassend demonstrieren die Ergebnisse dieses Vorhabens eine zelluläre Bioverfügbarkeit der partikulären Platingruppenelemente, so dass nicht von einem „inerten“ Verhalten gegenüber biologischen Systemen ausgegangen werden kann.

## **SUMMARY**

The noble metals Rh, Pd and Pt are used in catalytic converters since the mid-eighties to reduce emissions of pollutants. The application of these platinum group elements (PGE) has led to a drastic increase of the PGE-concentration in the environment, especially in urban particulate matter and along roads with high traffic density. Most emitted particles are smaller than 10 µm.

Despite the considerable efforts during the last 10 years to trace the fate of PGE emitted by car exhausters into the environment, the possible toxic and ecotoxic consequences of high concentrations of PGE in different environmental compartments health are still unknown. This lack of knowledge is due to the heterogeneous distribution and overall low concentration of PGE-containing particles in environmental and biological samples. The assessment of the chemical and mineralogical speciation of these elements is of fundamental importance to estimate the mobility of PGE and their impact on human health. This topic was the main focus of this joint research project processed by the *Institut für Lebensmittelchemie und Toxikologie (ILT)* and the *Institut für Mineralogie und Geochemie (IMG)*.

The toxicological investigations of ILT focussed on the genotoxic capability of Pt- and Pd-compounds in A549 human lung-cells.

The IMG stressed on 1. development and carrying out reliable analyses of PGE-concentration in the samples of the toxicological experiments; 2. characterization of PGE-bearing particles and investigation of the PGE-speciation in road-side sampled materials.

During this project, high-resolution ICP-MS has turned out to be a reliable and efficient method for measuring Pt und Pd in DNA-adducts and intracellular proteins. The analytical procedure was ensured by quality assurance. The PGE-data of the toxicological investigations are presented in report part B of this joint project.

A specific sampling strategy was conceived to collect car-emitted particles at an engine test stand with respect to the particle diameter. Furthermore, air dust samples were taken, which represent different heights of exposure to human beings (0 – 2.5 m), at a road with a great volume of traffic. In addition, road dust was collected and classified in several particle size fractions.

To characterize the PGE bearing particles (form, mineralogical and chemical composition) and speciation of the PGE in deposition (road/tunnel dust, exhaust gas, atmosphere, run-off) a combination of different sampling devices/techniques (exhaust sampler, Bergerhof-sampler, different impactors and devices) and analytical methods (HR-ICP-MS ±HPLC, ±laser ablation, µ-Synchrotron-EDX, ESEM, XPS, XRD) were used. Despite the high spatial resolution and sensitivity of some of these methods and due to the heterogeneous distribution and the particle size it was not possible to spot and sufficiently characterize PGE bearing grains in dust samples.

Not only the overall concentration in road dust, but also the particle size distribution with the total PGE concentration increasing with decreasing particle size, underlines the potential toxic effect of emitted PGE particles. By carrying out shaking experiments it was found that the solubility of elemental PGE (catalyst material) is enhanced by the interaction with complexing agents, in this case by natural organic matter.

Indirect characterisation of the mineralogical speciation of PGE were carried out by sequential extractions and column experiments. The sequential extraction experiments were performed on tunnel dust and on gully sediments using a dissolution method specially developed for small sample amount and a matrix specific for such kind of environmental materials. The sequential extraction experiments showed, that a high portion (up to 40 %) of Pt is emitted in a mobile or easily mobilised form. The remaining part of Pt showed to be immobile in both, tunnel dust and gully sediments. Column experiments aimed to fill out the gap of the adsorbing behaviour of different environmentally relevant materials on PGE. So far the experiments were carried out with two different kinds of materials (Mn-/Fe-Oxides, Quartz), showing that PGE behaves very similar to heavy metals. These results were underlined by adsorption-experiments.

Within part B of the projects it was investigated whether or no platinum and/or palladium is bioavailable and genotoxic in cultured human lung cells. It was shown that after incubation with particulate platinum compounds platinum was bound to cytoplasmic and nuclear proteins, showing a time-dependent accumulation in the nucleus. Furthermore, platinum-induced DNA adducts were detected, most pronounced after incubation with  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Pt-particles, which closely resemble those emitted from automobile catalysts. Nevertheless, no mutagenic potential and no increase in micronuclei formation was observed; it cannot be excluded, however, that these test systems may not be sensitive enough towards particulate compounds. Taken together, our results point towards a bioavailability also of particulate platinum compounds, demonstrating that they are not inert towards biological systems.

Zusammenfassung und Summary	
Einleitung und Zielsetzung .....	7
<u>Projektteil A:</u>	
<i>Analytik der PGE in den Proben aus den toxikologischen Versuchen und</i>	
<i>Charakterisierung Kfz-emittierter PGE-haltiger Partikel und Untersuchung der</i>	
<i>Speziation der PGE .....</i>	9
Analytik der PGE-DNA-Addukte mittels HR-ICP-MS und Isotopenverdünnung .....	10
Material und Methodik der Partikeluntersuchungen .....	12
Beprobung der Partikel.....	12
Beprobte Materialien und Partikeln.....	16
Untersuchungen der Partikel.....	17
Aufbereitung des Straßenstaubs .....	17
Methodenentwicklung zur Bestimmung der PGE-Gehalte in den beprobten	
Partikeln .....	17
Phasen- und Speziesanalytik.....	18
Charakterisierung der Tunnelstäube - Feststoffanalytik .....	19
Bestimmungen der PGE-Konzentrationen.....	21
Methoden zur direkten Untersuchung PGE-haltiger Partikel .....	22
Löslichkeit und Speziation .....	30
Literaturverzeichnis .....	46
<u>Projektteil B:</u>	
<i>Toxikologische Untersuchungen.....</i>	48
Material und Methoden der toxikologischen Untersuchungen.....	49
Zellkultur .....	49
Verwendete Partikel .....	49
Partikelcharakterisierung .....	49
Vorbereitung der Partikel und Inkubation der Zellen.....	49
Nachweis der Partikelaufnahme in die Zellen.....	50
Intrazelluläre Proteinbindung nach Platin-Inkubation.....	50
DNA-Isolierung .....	50
Quantifizierung der PGE-DNA-Addukte mittels HR-ICP-MS .....	51
Messung der Reversibilität der Metall-DNA-Bindung.....	51
Untersuchungen zum Bindungsort der Addukte an der DNA mit präparativer HPLC	
.....	52

Bestimmung der Cytotoxizität der Partikel anhand der Koloniebildungsfähigkeit ..	52
HPRT-Test in V79-Zellen .....	52
Mikrokerntest in A549-Zellen .....	53
Ergebnisse und Diskussion .....	54
Bindungsort der Addukte an der DNA .....	59
Schlussfolgerungen und Ausblick.....	60
Literatur.....	61
Danksagung.....	62
Veröffentlichungen aus dem Projekt .....	63

## **EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG**

Hohe Edelmetallemissionen aus dem Straßenverkehr wurden in den letzten Jahren entlang von Autobahnen und in Städten nachgewiesen (ZEREINI F. & ALT F. 1998, SCHÄFER J. ET AL. 1999). Platin-, Palladium- und Rhodiumverbindungen werden aus Automobil-Katalysatoren als Metallpartikel oder Metalloxide in geringen Konzentrationen in die Umwelt freigesetzt (WEI & MORRISON, 1994; CUBELIC ET AL., 1997; LFU, 1999). Während einige Literaturdaten zur Toxikologie löslicher Platin-, Palladium- und Rhodiumkomplexe vorliegen, ist über die toxische Wirkung chronischer Expositionen gegenüber Platingruppenelementen (PGE) aus Autokatalysatoren noch vergleichsweise wenig bekannt (GEBEL ET AL. 1997, BÜNGER ET AL. 1996). In dem vorliegenden interdisziplinären Forschungsprojekt (Institut für Mineralogie und Geochemie (IMG) und Institut für Lebensmittelchemie und Toxikologie der Universität Karlsruhe) sollte die Aufnahme der PGE in Zellen und deren daraus resultierendes toxisches Potential aufgezeigt werden. Anhand der im Luftstaub ermittelten Spezies, deren Transformationsprodukte und der Verteilung der PGE im Luftstaub (IMG) sollten unter definierten Laborbedingungen Modellstudien mit ausgewählten Zellkulturen und Staubpartikeln bzw. Modellsubstanzen durchgeführt werden. An den Zelllinien sollten die Bioverfügbarkeit und toxische Wirkung der PGE unter Berücksichtigung der speziesabhängigen Reaktionen untersucht werden. Hierbei kam der Zusammenführung der leistungsfähigen analytischen Methoden der beiden beteiligten Institute eine tragende Rolle zu.

Ziel des Projektes war es somit, das toxische Potential der Kfz-emittierten PGE auf den menschlichen Organismus in Abhängigkeit von den im Luftstaub auftretenden PGE-Spezies und deren Transformationen und Reaktionen abzuschätzen. Dabei war die Grundlage der toxikologischen Arbeiten die Untersuchung der unterschiedlichen Formen bzw. Spezies der Kfz-emittierten Partikel, die in der primären Emission (Auspuff) sowie dem Luft- und Straßenstaub in der Umwelt auftreten. Insbesondere die Elemente Rh und Pd wurden bisher keiner detaillierten Untersuchung unterzogen. Ein besonderes Augenmerk sollte deswegen auf der Charakterisierung der auftretenden Bindungsform der PGE im Luftstaub (Spezies) sowie der Morphologie und Korngrößenverteilung der PGE-haltigen Partikel gelegt werden. Dieses Konzept erforderte zur Erfassung sowohl der Gesamtkonzentrationen als auch der auftretenden Pt-Spezies in biologischen Matrices in diesen sehr niedrigen Konzentrationsbereichen die Entwicklung neuer analytischer Methoden, insbesondere für die Elemente Rh und Pd.

Die Frage einer möglichen Bioverfügbarkeit von Platin aus Katalysatoren auf der Ebene des Gesamtorganismus wurde von ARTELT ET AL. (1999) untersucht. Hierbei wurde eine Modellsubstanz synthetisiert, bei der Platinpartikel  $\geq 4$  nm auf Aluminiumoxidpartikel  $\leq 5$   $\mu$ m aufgebracht wurden. Diese Modellsubstanz zeigte eine nur geringe Löslichkeit in reinem Wasser, aber eine vergleichsweise hohe Löslichkeit in physiologischer, 0,9 %iger Kochsalzlösung. In anschließenden Versuchen mit Ratten, die entweder durch intratracheale Instillation oder durch Inhalation exponiert wurden, waren bis zu 30 % der inhalierten Platinpartikel bioverfügbar. Ziel der toxikologischen Untersuchungen im Rahmen dieses Projektes war die Abklärung der Partikelaufnahme in menschliche Zellen sowie eines möglichen genotoxischen Potentials von Platin- und Palladiumverbindungen in Säugerzellen. Von besonderem Interesse waren dabei zum einen partikuläre Verbindungen, die aus Katalysatoren emittiert werden, sowie die Verbindungsformen, die nach Transformationsprozessen



in der Umwelt bzw. im menschlichen Organismus auftreten bzw. vermutet werden. Diese Untersuchungen wurden in möglichen Zielzellen der toxischen Wirkung (Lungenzellen) durchgeführt. In den ersten Projektphasen konnte für käufliche Platin- und Palladiumpartikel sowie für die vom Fraunhofer-Institut (ITEM) zur Verfügung gestellten  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Pt-Partikel nach Inkubation von menschlichen Lungenzellen eine Internalisierung sowie eine dosis- und zeitabhängige Zunahme der Metalladdukte an zellulärer DNA nachgewiesen werden. Später wurden neben Löslichkeitsversuchen der Partikel in Zellkulturmedium die DNA-Addukte bezüglich ihrer chemischen und biologischen Eigenschaften näher untersucht. Dabei waren insbesondere Art und Ort der DNA-Bindung sowie eventuell daraus resultierende mutagene Effekte von Interesse.

## **PROJEKTTEIL A:**

### **ANALYTIK DER PGE IN DEN PROBEN AUS DEN TOXIKOLOGISCHEN VERSUCHEN**

### **CHARAKTERISIERUNG KFZ-EMITTIERTER PGE-HALTIGER PARTIKEL UND UNTERSUCHUNG DER SPEZIATION DER PGE**

## **ANALYTIK DER PGE-DNA-ADDUKTE MITTELS HR-ICP-MS UND ISOTOPENVERDÜNNUNG**

Die PGE-DNA-Analytik beinhaltet die Bestimmung der PGE-Gehalte in der extrahierten DNA aus den Versuchen der Instituts für Lebensmittelchemie und Toxikologie. Die Methodik der Extraktion und Veraschung der DNA-Addukte kann dem Projektbericht des Instituts für Lebensmittelchemie entnommen werden.

Insgesamt wurden über 50 Messreihen mit mehr als 800 Proben bearbeitet, die Proben wurden überwiegend auf Pt und teilweise auf Pd analysiert.

Die detaillierten Ergebnisse werden im Teilbericht von Frau Prof. Hartwig vorgestellt.

Die Analytik wurde unter Einsatz der im ersten Projektjahr etablierten Methode (BERNER ET AL. in prep.) mittels des hochauflösenden ICP-MS (Axiom, VG Elemental) durchgeführt:

Aus 10 mg/L Pt- bzw. Pd-Standards (AlfaProducts, USA) wurden Eichlösungen (in 1 vol.% HNO<sub>3</sub>-Matrix) über den erwarteten Konzentrationsbereich erstellt (meistens 5 Eichpunkte von 25 bis 500 ng/L) und die Elementgehalte über externe Kalibrierung bestimmt. Für die Korrektur unvermeidbarer Signalschwankungen während der Messung wurden die Elemente In (für Pd) bzw. Tm oder Ho (für Pt) als interne Standards eingesetzt. In allen Schritten wurden doppelt destillierte (subboiled) Säure und deionisiertes Wasser (18.2 MΩcm) verwendet.

Alle Lösungen wurden mit einem Vibrationsschüttler ("Vortex", Scientific Instruments, USA) homogenisiert. Zusätzlich wurden für die Messreihe Waschlösungen aus 1%iger HNO<sub>3</sub> angesetzt, die nach jeder fünften Probe zur Spülung des HR-ICP-MS angesaugt und gemessen wurden. Zur Ermittlung der Reproduzierbarkeit wurden Lösungen einer definierten PGE-Konzentration angesetzt und innerhalb der Messreihe mit der aufgestellten Kalibrationsgerade quantifiziert.

Sowohl Pt wie auch Pd wurden auf jeweils drei Isotopen gemessen (Pt auf den Massen 194, 195 und 196 und Pd auf 105, 106, 108). Versuche mit der Probenmatrix haben gezeigt, dass auf keiner der gemessenen Isotopen nachweisbare Masseninterferenzen (aus Clusterbildung bzw. aus isobaren Überlappungen mit <sup>106</sup>Cd, <sup>108</sup>Cd oder <sup>196</sup>Hg) auftraten, die bei maximaler Auflösung (R=10.000) detektiert werden könnten. Deswegen und um höchste Empfindlichkeit und möglichst niedrige Nachweisgrenzen zu erzielen, wurde mit einer Massenauflösung von R=400 gearbeitet.

Während der Messung nimmt das HR-ICP-MS 25 Datenpunkte pro Peakweite bei einer "dwell time" von 80 ms auf. Jede Probe wurde dreimal nacheinander gemessen und daraus, nach eventueller Elimination von Ausreißern, der Mittelwert gebildet. Vor jedem Messtag wurden die Schläuche des Probenzuführungssystems erneuert, alle Glasteile über Nacht in 5%iger HNO<sub>3</sub>-Lösung (subboiled) gereinigt sowie das Gerät mindestens 1 h lang mit einer aus 1%iger HNO<sub>3</sub> bestehenden Reinigungslösung gespült.

Die statistische Auswertung der gewonnenen Datensätze ergab folgende wichtige Aussagen für die Analytik mittels HR-ICP-MS:

- Die getrennte Auswertung der einzelnen Isotope führt, statistisch gesehen, bei Platin in den meisten Fällen zu praktisch identischen Konzentrationen. Die relative

Standardabweichung der aus den drei Isotopen gebildeten Mittelwerte der Einzelmessungen für eine Probe lag bei 91% der Proben unter 3% (bei 39% der Proben sogar unter 1%). Die aus den einzelnen Isotopen errechneten Gehalte wichen bei 70-75% der Proben weniger als 3% voneinander ab. Dennoch zeigte der Vergleich der Abweichungen jeweils zwischen zwei Isotopen, dass die aus der Masse 196 gewonnenen Konzentrationen tendenziell leicht niedriger lagen (etwa 2/3 der Proben ergaben niedrigere Gehalte als die, die sich aus den Massen 194 bzw. 195 bestimmen ließen), während die aus den Massen 194 und 195 bestimmten Gehalte keine systematischen Unterschiede aufwiesen (die Quotienten der aus den Massen 194 und 195 erhaltenen Konzentrationen waren symmetrisch um 1.00 verteilt, bzw. 51% der Werte <1.00 und 49% >1.00). Die Unterschiede waren jedoch gering und es empfahl sich, aus allen drei Isotopen einen Mittelwert zu bilden.

- Bedingt durch die höhere Anfälligkeit der Pd Isotope, von verschiedenen Clustern (z.B. ArCu, SrO, ZrO, Cl<sub>3</sub>H<sup>+</sup>) überlagert zu werden, zeigte die getrennte Auswertung der Palladiumgehalte über die drei gemessenen Isotope im Vergleich zum Pt eine stärkere Streuung. Tendenziell ergaben sich die höchsten Gehalte auf der Masse 106 und die niedrigsten auf dem Isotop 108. Die Unterschiede waren jedoch in den meisten Fällen gering; die Abweichung zwischen den einzelnen Messwerten ist bei 70% der Proben kleiner als 6%. Es empfahl sich auch hier eine Mittelwertbildung über alle drei Isotope.
- Die aus drei Wiederholungsmessungen berechnete interne Reproduzierbarkeit der Messwerte (bei Mittelwertbildung aus drei Isotopen) lag bei 70% der Proben unter 5% (bei 92% der Proben unter 10%) für Pt bzw. bei 29% der Proben unter 5% (bei 69% der Proben unter 10%) für Pd. Die Reproduzierbarkeit verschlechterte sich wesentlich bei niedrigen Gehalten. Während z.B. bei Proben mit Konzentrationen >100 ppt Pt die Reproduzierbarkeit bei fast 80% der Proben besser als 5% war, traf dies bei Gehalten <100 ppt nur auf 47% der Proben zu .
- Die aus der dreifachen Standardabweichung aller Blindwerte („Wasch-Löschungen“) berechnete generelle instrumentelle Nachweisgrenze lag sowohl für Pt wie auch für Pd bei 14 µg/l. Dieser relativ hohe Wert ergab sich durch das Zusammenlegen von Blindproben aus unterschiedlichen Messreihen, die manchmal Proben mit sehr unterschiedlichen Messbereichen enthielten. Bezogen auf einzelne Messreihen lagen die Nachweisgrenzen mit wenigen Ausnahmen bei <4,5 µg/l für Pt und <3 µg/l für Pd.

## MATERIAL UND METHODIK DER PARTIKELUNTERSUCHUNGEN

### Beprobung der Partikel

#### Beprobungsstrategie

Bei der Beprobung der Partikel wurden zwei Ansätze verfolgt: einerseits die direkte Beprobung der Emission und andererseits die Beprobung der im Bereich der Straße vorliegenden Partikel.

#### Beprobung der Emissionen

##### Direktbeprobung der Emission

###### Motorstand

Um die PGE-Emissionen und die dabei entstehenden Partikel unmittelbar an der Emissionsquelle "Auspuff" zu beproben, wurde eine speziell am IMG gefertigte Konstruktion für eine bestehende Motorversuchsstandanlage (Institut für Kolbenmaschinen der Universität Karlsruhe, Prof. Spicher) konzipiert (Abb. 1).

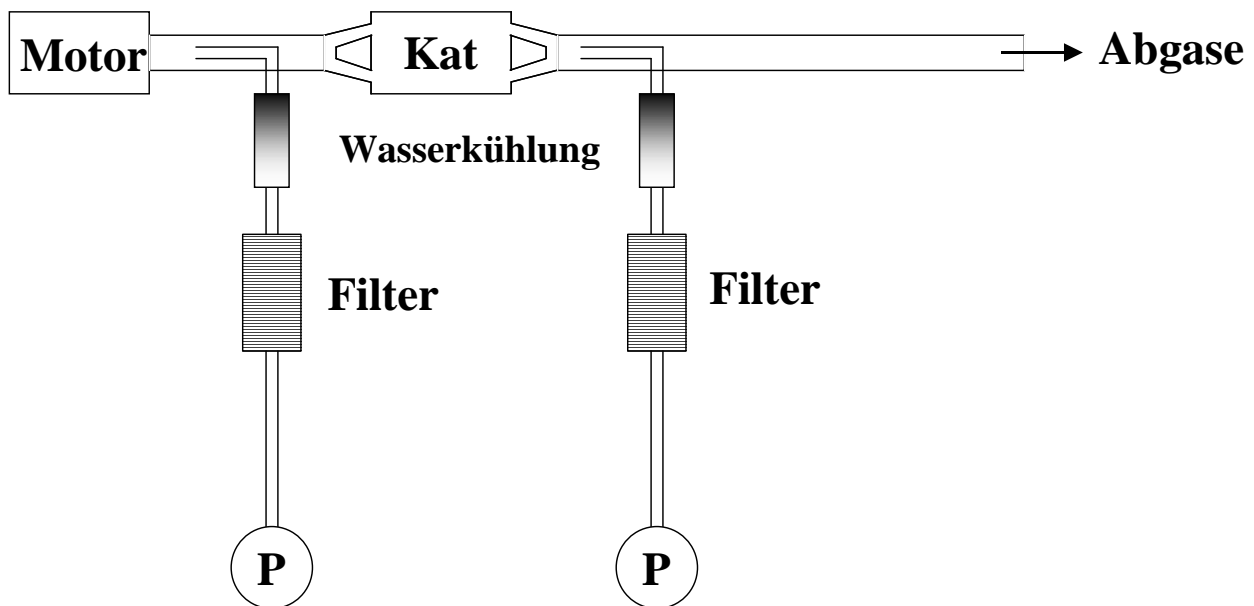


Abb. 1: Motorversuchsstand zur Beprobung der direkten PGE-Emission.  
Kat = Katalysator, P = Pumpe

Der eingesetzte Katalysator (UniKat, BRD) wurde von den Abgasen eines Benzinmotors (2,8 l Hubraum, 280 PS, sechs Zylinder; mündliche Mitteilung S. Bernhard vom Institut für Kolbenmaschinen der Universität Karlsruhe) durchströmt. Jeweils vor und nach dem Katalysator wurde durch ein Innenrohr ein Teil des Abgases entnommen. Nach einer Abkühlung des Abgases mit einer Wasserrücklaufkühlung auf  $< 120^{\circ}\text{C}$  sollten die emittierten Partikel an Filtern abgeschieden werden. Somit sollte eine eindeutige Erfassung der Partikel, die ausschließlich dem Katalysator entstammen, mit einer partikelgrößenabhängigen Klassifizierung erzielt werden.

Die Beprobung eines Katalysators konnte im Juni 2002 am Motorteststand des Instituts für Kolbenmaschinen erstmalig durchgeführt werden, nachdem im Vorfeld verschiedenste technische Schwierigkeiten überwunden wurden und das Konzept der Filteranlage noch einmal verbessert und diese gebaut wurde. Die Filteranlage ermöglichte es, direkt im Abgasstrom Filter abnehmender Porengröße hintereinander anzuordnen und dadurch eine Korngrößen-klassierte Beprobung durchzuführen. Es konnten Fluoropore™ Membranfilter der Porengrößen 20, 11, 3, 1, 0.5, 0.2  $\mu\text{m}$  eingesetzt werden.

Beim ersten Lauf der Anlage konnten Partikel beprobt werden. Diese wurden mittels Röntgen-Photoelektronenspektroskopie (XPS) analysiert. Leider musste nach diesem erfolgreichen Lauf das Institut für Kolbenmaschinen mitsamt den Motortestständen in ein anderes Gebäude umziehen, so dass während der Projektlaufzeit keine weiteren Beprobungen am Teststand möglich waren.

### Fahrzeug im Straßenverkehr

Um dennoch direkt die aus dem Katalysator emittierten Partikel zu beproben, wurde ein Halter konstruiert, der es ermöglicht, direkt im Auspuffrohr einen für die Röntgen-Photoelektronenspektroskopie (XPS) geeigneten Probenträger einzubringen (Abb. 2). Das Fahrzeug, dessen Abgase beprobt wurden, war mit einem 1497  $\text{cm}^3$  Benzinmotor mit 78kW ausgestattet und hatte erst eine geringe Laufleistung. Dies war von Wichtigkeit, da aus früheren Versuchen bekannt ist, dass neuere Katalysatoren eine höhere PGE-Emission zeigen als ältere (KNOBLOCH 1993). Die beprobte Fahrtstrecke betrug etwa 3000 km, davon wurden etwa die Hälfte auf Landstraße sowie je ein Viertel auf Autobahn und im Stadtverkehr, also bei unterschiedlichen Motorbelastungen, zurückgelegt. Unter Annahme eines mittleren Ausstoßes von 200 ng Pt pro gefahrenem Kilometer (HELMERS 1997, SCHÄFER ET AL. 1999), einer Partikelgröße von 1  $\mu\text{m}$  und einer Partikeldichte von 5g/ $\text{cm}^3$  (Washcoat + Pt) wurden während des Beprobungszeitraums  $1.5 \times 10^8$  Katalysator-Partikel ausgestoßen. Die Fläche des Probenträgers beträgt 2.25  $\text{cm}^2$ , der Querschnitt des Auspuffrohrs etwa 12.5  $\text{cm}^2$ .

Der mit Partikeln belegte Probenträger wurde mittels XPS analysiert.

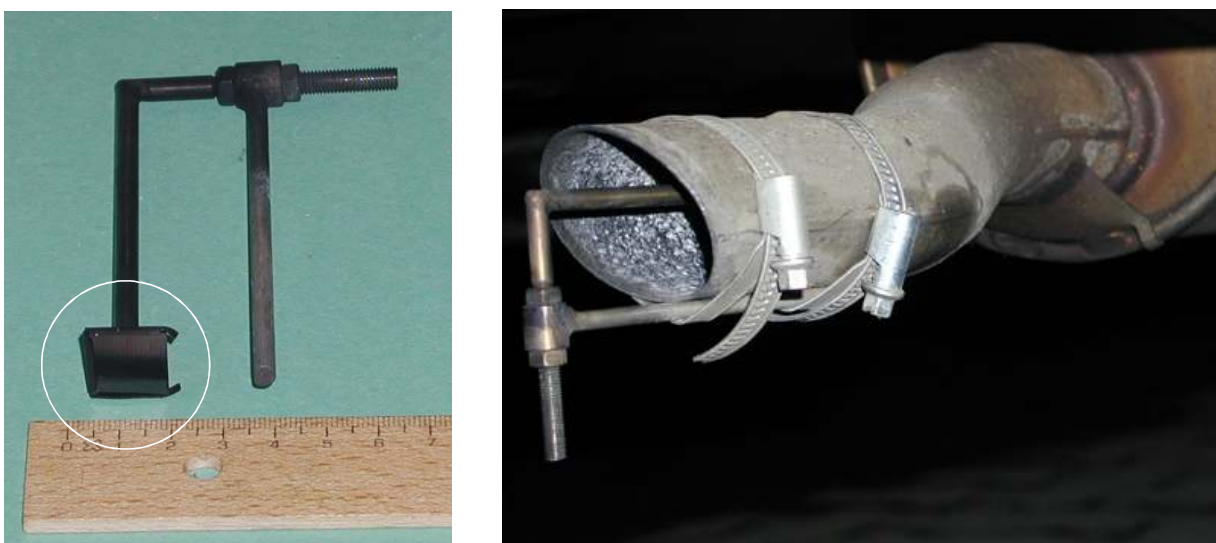


Abb. 2: Beprobung von Partikeln im Auspuff eines Pkw  
links: Probenhalter mit XPS-Träger (Kreis)      rechts: Befestigung am Auspuff



## BEPROBUNG DER PARTIKEL IM BEREICH DER STRAÙE

### Luftstaub

Für die Beprobung des Luftstaubs wurden Probennahmegeräte bzw. -gefäÙe (Bergerhoff-SammelgefäÙe) weiterentwickelt und an einer verkehrsreichen, innerstädtischen Straße (Karlsruhe, Brauerstraße, Testfeld des Instituts für Geographie und Geoökologie) im Zeitraum zwischen 07.12.2001 und 16.12.2002 aufgestellt. Eine weitere Probennahme wurde im Laufe des Februars 2002 unternommen. Der an unserem Institut entwickelte Aufbau ermöglichte es, in einer Beprobungshöhe gleichzeitig 5 Bergerhoff-GefäÙe anzubringen, so dass eine größere Probenmenge gesammelt werden konnte. Es fand eine höhenabhängige Beprobung mit GefäÙen am Boden, in 0,5 m, 1 m, 1,5 m, 2 m und 2,5 m Höhe statt (Abb. 3).



Abb. 3: Probennahmegeräte und -standort an verkehrsreicher, innerstädtischer Straße

Alle Probennahmegefäße wurden vor dem Einsatz einer gründlichen Reinigung, die aus dreimaligen Ausspülen mit 10% HNO<sub>3</sub> (subboiled p.a. Qualität, Roth, BRD) und bidestilliertem H<sub>2</sub>O bestand, unterzogen.

Das in der zweiten Kampagne gesammelte Material wurde zurückgestellt, um zunächst die unten beschriebenen Methoden endgültig zu etablieren.

### **Glasfilter aus Beprobung mit „low-volume-sampler“ (IfGG)**

Das Institut für Geographie und Geoökologie (IfGG) hat auf seiner Beobachtungsfläche an der Brauerstraße unter anderem „low-volume-sampler“ betrieben, die über Glasfilter den Luftstaub beproben. Hierbei werden 2.3 m<sup>3</sup> Luft pro Stunde durch die Filter gesaugt. Die Glasfaserfilter haben einen Abscheidegrad von 99.97 % für Öltröpfchen <1µm. Einige dieser Filter konnten uns zur Verfügung gestellt werden. Da die Partikel sich innerhalb der Filter befinden, wurde an diesen Proben der Gesamtgehalt an PGE und anderen Schwermetalle bestimmt.

### **Beprobung der Straßenstäube**

Für die Untersuchung der Partikel wurde der Schwerpunkt auf zwei Tunnelstäube (Kehricht) und ein Gullysediment gelegt. Alle Proben stammen von zwei stark befahrenen Hauptverkehrsstraßen in direkter Nähe von Karlsruhe. Die Straßensedimentproben wurden mit einem Handbesen gewonnen.

### **Tunnelbeprobung**

WKT I stammt aus dem Wattkopftunnel (L 605 Ortsumfahrung Ettlingen) und wurde zwischen 1995 und 1997 gesammelt. Im November 2002 wurden erneut zwei Straßentunnel beprobt. Im Wattkopftunnel bei Ettlingen (WKT II) und im Tunnel der B10 in Grötzingen (GRT I) wurde jeweils in Nischen der Straßenstaub zusammengekehrt (Abb. 4). Die Probe GRT I wurde im November 2002, 4 Wochen nach einer Tunnelreinigung (Hochdruck-Bürsten-Reinigung) gesammelt.



Abb. 4: Beprobung des Grötzingener Straßentunnels,  
links Probennahmestelle, rechts: Tunnelstaub-Ablagerung

Die Straßensedimente wurden zunächst durch Bestimmung wichtiger Haupt- und Spurenelemente mittels Energiedispersiver Röntgenfluoreszenzanalyse und der PGE über Mikrowellenaufschluss und Isotopenverdünnungsanalyse mittels ICP-MS charakterisiert.



## Beprobung von Gullysediment

Ebenfalls im Rahmen einer Diplomarbeit wurde im November 2002 Gullysediment am westlichen Portal des Grötzinger Tunnels beprobt (B10). Im November 2002 war das Wetter regnerisch, im Zeitraum der Probennahme regnete es nicht.

## Beprobung des Straßenabflusses in Gullys

Am IMG wurden Probennehmer zur Beprobung des ersten Straßenabflusses bei Niederschlagsereignissen entwickelt. Es handelt sich hierbei um trichterförmig angeordnete Kunststofffolien, die über ein Gestell im Gully montiert werden und in einer mit Schwimmer versehenen Polyethylenflasche münden (Abb. 5). Der Schwimmer verschließt die Probeflasche, sowie sie gefüllt ist, so dass kein weiterer Abfluss in die Flasche gelangen kann.

Der erste Straßenabfluss nach einem Niederschlag hat den intensivsten Kontakt zum Straßenstaub. Dadurch ist es möglich, gelöste PGE-Formen zu identifizieren, die durch die Umsetzung Katalysator-emittierter Partikel entstehen. Die Wasserproben wurden mittels Größenausschlusschromatographie (SEC) und Kopplung an die hochauflösende ICP-MS analysiert. Zusätzlich zur Bestimmung der PGE-Gesamtkonzentrationen und der PGE-Spezies wurden weitere wasserchemische Parameter aufgenommen, um die Matrix, in der sich die gelösten PGE befinden, näher zu charakterisieren: pH-Wert, elektrische Leitfähigkeit, DOC, Kationen, Anionen, hydrophobe Substanzen.



Abb. 5: Vorrichtung zur Beprobung des Straßenabflusses im Gully

## Beprobte Materialien und Partikeln

Für die Untersuchung standen aufgrund der breit gefächerten Beprobungsstrategie folgende Materialien in größerer Menge zur Verfügung:

- Tunnelstäube:
  - WKT I
  - WKT II
  - GRT I (GRÖTS)

- zur Qualitätssicherung der zertifizierte Tunnelstaubstandard BCR-723
- Gullysediment

Folgende Einzelproben lagen vor:

- Filter von Motorstandbeprobung
- Glaskohlenstoffträger Direktbeprobung Autoabgas
- Höhenabhängige Luftstaubproben aus Bergerhoff-Geräten
- Glasfilter aus Beprobung IfGG
- Straßenerstabfluss (Gully)

## **UNTERSUCHUNGEN DER PARTIKEL**

### **Aufbereitung des Straßenstaubs**

Der gesammelte Straßenstaub wurde bei 40°C im Trockenschrank vorgetrocknet und daraufhin zur Abtrennung von Unrat < 2 mm gesiebt. Anschließend wurde die Korngrößenfraktion < 2 mm durch Sieben in die Fraktionen 2 – 0,63 mm, 0,63 – 0,2 mm, 0,2 – 0,063 mm und < 0,063 mm aufgeteilt. Die jeweiligen PGE-Gesamtkonzentrationen dieser Siebfraktionen wurde mittels NiS-Dokimasie und anschließender ICP-MS-Messung bestimmt.

Bei der Probenaufbereitung mittels NiS-Dokimasie erfolgt, nach Zugabe von Ni, S, SiO<sub>2</sub> und Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, eine Schmelzextraktion der PGE bei 1140°C über zwei Stunden. Alle chalkophilen Elemente sammeln sich während dem schnellen Abkühlen der Schmelze in einem NiS-Regulus, wodurch ein großer Teil der Matrix abgetrennt wird. Anschließend werden die weniger edlen Schwermetalle wie Cd, Pb, Zn oder Cu mit 12 M HCl (p.a. 30%, Merck, BRD) innerhalb von zwölf Stunden aus dem aufgebrochenen und zerkleinerten NiS-Regulus gelöst. Nach einer Filtration werden die im NiS-Regulus verbliebenen PGE mit HCl und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (suprapur 30%, Merck, BRD) in die lösliche Phase gebracht. Diese Lösung wird durch Abdampfen auf 10 mL eingengt und deren PGE-Gehalte daraufhin mittels ICP-MS bestimmt (ROBERT et al. 1971).

### **Methodenentwicklung zur Bestimmung der PGE-Gehalte in den beprobten Partikeln**

Aufgrund der geringen Rh- und Pd-Gesamtkonzentrationen in Staubpartikeln und da bei der Beprobung am Motorversuchsstand bzw. mit den Bergerhoff-Geräten nur geringe Probenmengen im mg-Bereich anfielen, mussten neue analytische Methoden zur PGE-Gesamtkonzentrationsbestimmung entwickelt bzw. bestehende Methoden modifiziert und optimiert werden.

Hierfür wurden zwei unterschiedliche Wege eingeschlagen. Zum einen wurde ein schnelles, kombiniertes Verfahren aus der modifizierten NiS-Dokimasie und anschließender Analyse des NiS-Regulus mittels Laserablation (LA)/HR-ICP-MS-Kopplung aufgebaut. Zum anderen wurde ein Mikroaufschussverfahren für Probenmengen von ca. 2 mg entwickelt.

Die NiS-Dokimasie stellt eine sehr aufwendige und zeitintensive, jedoch oft eingesetzte Probenvorbereitung PGE-haltiger Feststoffproben dar (ZEREINI & URBAN 1999, SCHÄFER et al. 1999). Um diese zeitintensive und aufwendige

Probenvorbereitung, die aufgrund des großen Einsatzes an Chemikalien bei den Aufschlüssen vielfältige Kontaminationsmöglichkeiten in sich birgt, zu verkürzen, wurde das oben beschriebene Verfahren modifiziert. Anstatt die PGE aus dem NiS-Regulus mittels mehrerer Aufschlussschritte zu lösen, wurde ein NiS-Regulus, der genügend klein für die Probenkammer des Laser war, geschmolzen; aufgrund der geringen vorhandenen Probeneinwaage, sollte mit wesentlich geringeren Mengen von Schmelzmitteln gearbeitet werden. Die PGE wurden direkt aus dem NiS-Regulus nach der Laserablation in das ICP-MS (LA-ICP-MS) geleitet und detektiert (JARVIS et al. 1995, JORGE et al. 1998; Abb. 6). Das Laserablationssystem besteht aus dem Laser "VG Micro Probe II" (ThermoElemental, BRD), das HR-ICP-MS stammt von ThermoElemental, BRD ("Axiom").

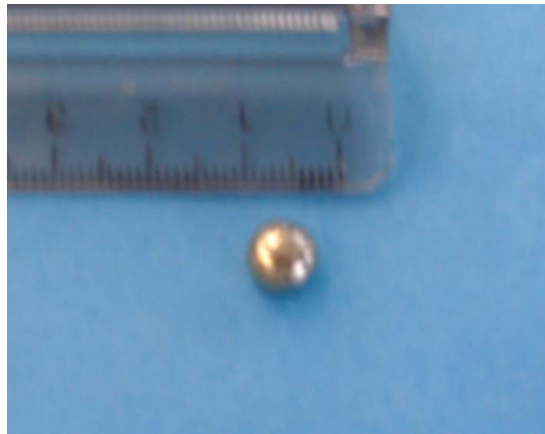


Abb. 6: Ni-Regulus für die LA-ICP-MS

Parallel wurde für die PGE-Gesamtkonzentrationsbestimmung ein Mikroaufschlussverfahren für die gesammelten Staubproben entwickelt und für die PGE-Analytik optimiert, um die geringen Probenmengen auf ihre PGE-Gehalte untersuchen und anschließend einen Kreuzvergleich mit den Ergebnissen der LA-ICP-MS-Bestimmung führen zu können. Das Mikroaufschlussverfahren sieht vor, 2 mg des Luftstaubes mit 5 ml HF (p.a. 40%, Merck, Deutschland) und 1 ml HClO<sub>4</sub> (pro analysi 70%, Merck, Deutschland) bei 150 – 170°C in Teflontiegeln aufzuschließen. Nach mehrmaligem Abrauchen wird der Rückstand in 1 ml 10%iger HNO<sub>3</sub> (subboiled pro analysi Qualität 65% v/v, Roth, Deutschland) aufgenommen, mit bidestilliertem H<sub>2</sub>O auf 5 ml aufgefüllt und steht für die Analyse mittels ICP-MS zur Verfügung.

## **PHASEN- UND SPEZIESANALYTIK**

Die Methode zur Bestimmung der PGE-Festphasenspeziation zielte darauf, unterschiedliche Festphasenuntersuchungen miteinander zu kombinieren und aus den daraus gewonnenen Ergebnissen Rückschlüsse auf die im Luftstaub enthaltenen PGE-Spezies ziehen zu können. Als Festphasenanalysen wurden zu Beginn der Untersuchungen die Röntgendiffraktometrie und Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS) eingesetzt.

Des Weiteren wurde ein sequentielles Extraktionsverfahren, angepasst auf die geringen Probenmengen und die zu untersuchenden Edelmetalle Rh, Pd und Pt, entwickelt, das verschiedene Extraktionsmethoden (WEI & MORRISON 1994, ZEIEN & BRÜMMER 1991) miteinander kombiniert. Als weitere indirekte Methoden zur Speziesbestimmung wurden Adsorptions- und Säulenversuche durchgeführt.

## Charakterisierung der Tunnelstäube - Feststoffanalytik

### Röntgendiffraktometrie zur Phasenanalytik (XRD)

Die Röntgendiffraktometrie dient zur Bestimmung der Mineralzusammensetzung der untersuchten Proben, die Nachweisgrenze liegt im Bereich weniger Prozent, abhängig von der Probenmatrix. Durch die XRD ist eine grundlegende Materialcharakterisierung möglich und es lassen sich daraus wichtige Schlüsse auf die chemische Zusammensetzung ziehen. Mit dieser Methode wurden die drei Tunnelsedimente und das Gullysediment analysiert. Als Hauptmineralphasen zeigten sich in allen Proben Quarz, Feldspat, Calcit und Tonminerale (Abb. 7), mit nur geringen Unterschieden in der Gesamtverteilung. Diese Phasen sind vor allem auf die natürliche geologische Umgebung, Lkw-Transporte von mineralischen Rohstoffen sowie auf Zement aus der Tunnelverschalung und dem Straßenbelag zurückzuführen. In einer Tunnelprobe konnte Thenardit ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) nachgewiesen werden, dieses Mineral ist ein Indikator-Mineral für trockene Depositionsbedingungen.

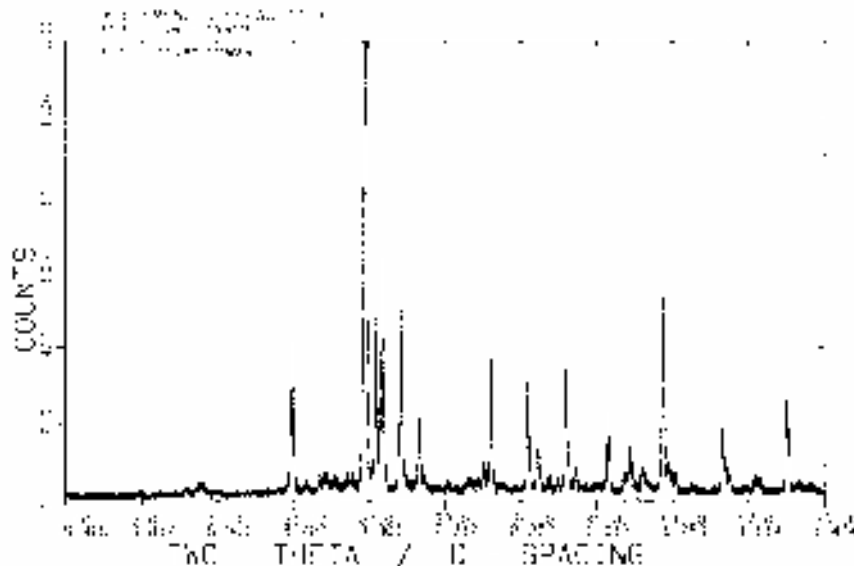


Abb. 7: Röntgendiffraktogramm GRT I

### Energiedispersive Röntgenfluoreszenzanalyse (EDX)

Mittels EDX lassen sich eine Reihe von Haupt- und Nebenelementen bis in den unteren mg/kg-Bereich zerstörungsfrei an meist pulverförmigen Proben quantifizieren. Für die untersuchten Tunnelstäube ergaben sich folgende Elementkonzentrationen:

Tabelle 1: Haupt- und Spurenelementkonzentrationen in den beprobten Tunnelstäuben

Probe	CaO [%]	TiO <sub>2</sub> [%]	MnO [%]	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> [%]	Cu [ppm]	Zn [ppm]	Rb [ppm]	Sr [ppm]	Y [ppm]	Zr [ppm]	Sn [ppm]	Sb [ppm]	Ba [ppm]	Pb [ppm]
WKT I	7	0,3	0,1	2	86	360	77	138	16	252	10	5	404	90
WKT II	9	0,3	0,1	2	160	491	67	160	13	162	19	15	412	57
GRT I	12	0,3	0,1	3	292	539	56	184	16	706	19	23	388	83

Diese Ergebnisse werden unten gemeinsam mit den Daten aus den weiteren Haupt- und Spurenelementanalysen diskutiert.

### Environmental scanning microprobe (ESEM) des FZK

Zur Charakterisierung der Morphologie und Korngrößenverteilung der Luftstaubpartikel wurden das Straßenkehrgut mit einem Environmental Scanning Electron Microscope (ESEM) mikroskopiert. Hierbei wurde gleichzeitig die chemische Zusammensetzung der Hauptelemente mittels einer integrierten energiedispersiven Röntgenanalyse (EDX) ermittelt.

Das ESEM am Institut für technische Chemie des FZK ermöglicht es, ohne Anlegen eines Vakuums, Mikrosonden-Analysen mit hoher Auflösung durchzuführen. Deswegen ist es möglich, pulverförmige Proben direkt ohne Präparation in Kunstharz zu untersuchen. Solche Untersuchungen wurden am Tunnelstaub WKT1 durchgeführt.

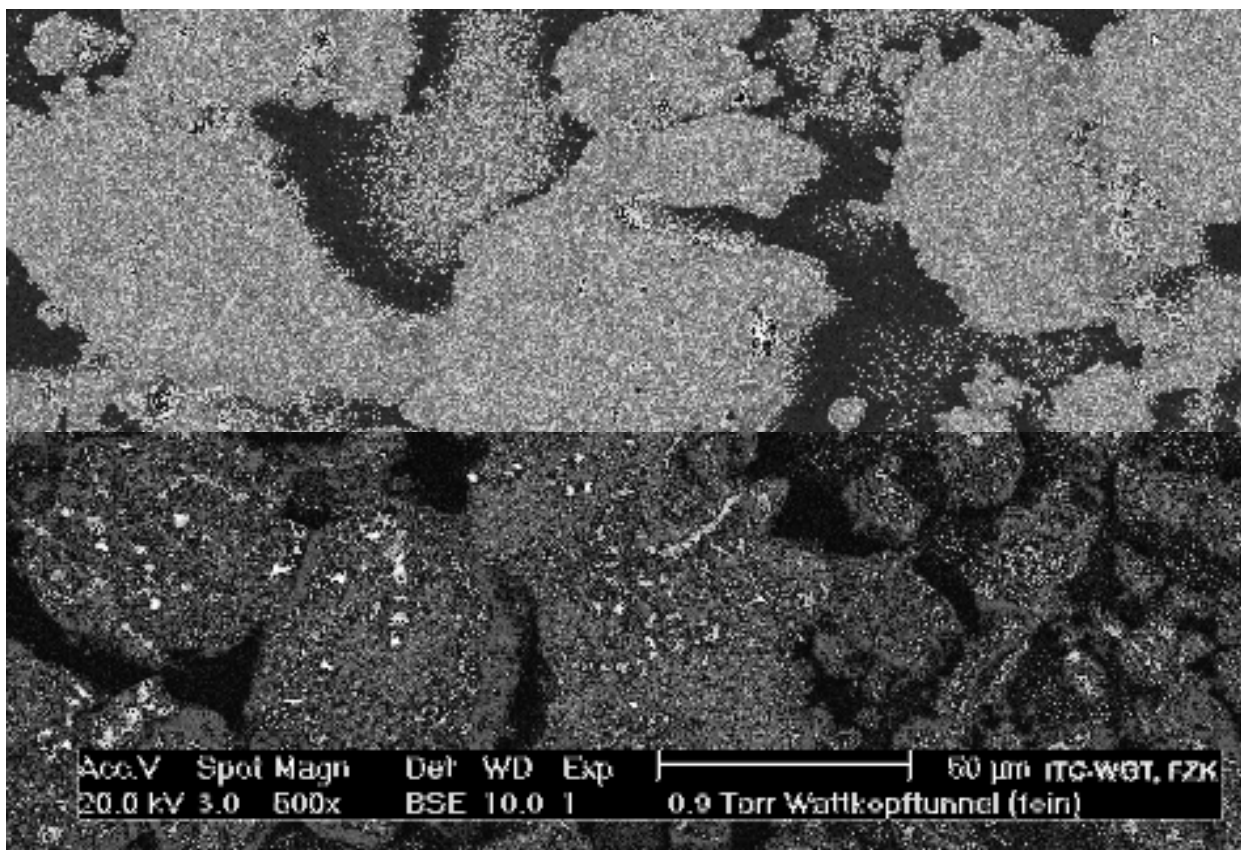


Abb. 8: ESEM-Aufnahme des gesammelten Straßenkehrgutes

Auf den ESEM-Aufnahmen ist zu erkennen, dass selbst die feingesiebte Korngrößenklasse (< 2 mm) sehr heterogen aufgebaut ist. Die Aufnahmen belegen sehr unterschiedliche Korngrößen und -formen selbst im fein gesiebten Anteil. Die helleren Flecken in der Aufnahme stellen Punkte dar, die im Vergleich zu den dunkleren Flächen an schwereren Elementen angereichert ist. Mittels des ESEM/EDX war es jedoch aufgrund der zu niedrigen Empfindlichkeit und der Größe

des Elektronenstrahl (ca. 2 –3 µm) nicht möglich, PGE in Partikeln kleiner als < 1 µm zu detektieren, d.h. es waren im „backscatter“-Bild keine PGE-Partikel identifizierbar.

Mittels EDX wurde eine Analyse über einen größeren Probenbereich durchgeführt, die ein Elementspektrum zeigt, das typisch für die Zusammensetzung von Straßenstaub mit silikatischen Mineralen, Karbonaten und organischer Substanz ist. Ein ähnliches Elementspektrum wurde auch mit EDX, DESY und an der XPS gemessen. Diese EDX-Messung ermittelte für die Elemente C 16,4% s/s (eventuell C-haltiger Klebefilm des Probenträgers), O 18,6% s/s, Al 2,3% s/s, Si 10,6% s/s, K 0,6% s/s, Ca 1,2% s/s und Fe 50,2% s/s als prozentuale Anteile der Hauptelemente. Dies lässt auf Quarz und Feldspäte als Hauptmineralphasen schließen. Auffallend waren erhöhte Fe-Gehalte und sporadisch auftretende erhöhte Ti-Gehalte einiger Partikel.

## **Bestimmungen der PGE-Konzentrationen**

### **Nasschemische Aufschlussverfahren und Quantifizierung mittels ICP-MS**

Die Quantifizierung der PGE-Gehalte in den Tunnelstaubproben erfolgte sowohl nach Anreicherung über NiS-Dokimasie (WKT I) als auch nach Säureaufschluss im Mikrowellenofen. Die Aufschlusslösungen wurden mit ICP-MS auf die PGE-Konzentrationen und eventuelle Störelemente analysiert. Zur Überprüfung der Richtigkeit des Verfahrens wurde das Referenzmaterial RD CW 7 im gleichen Verfahren analysiert. Die untersuchten Proben zeigen repräsentative bzw. typische Elementgehalte und sind damit sehr gut für die Laborversuche zur Untersuchung der Bindungsform der PGE geeignet. In Tabelle 2 sind beispielhaft die PGE-Gesamtkonzentrationen von WKT I (Wattkopftunnel) in Abhängigkeit der untersuchten Korngrößenklassen zusammengestellt.

Tab. 2: PGE-Gesamtkonzentration (in µg/kg) in WKT I in verschiedenen Korngrößenklassen

Korngrößenfraktion	Rh	Pd	Pt
2 – 0,63 mm	2,12	1,79	1,75
0,63 – 0,2 mm	1,95	0,71	1,13
0,2 – 0,063 mm	5,13	2,41	2,16
< 0,063 mm	8,94	7,37	5,06

Tabelle 2 zeigt, dass die PGE-Konzentrationen umso höher sind, je kleiner die Korngrößen der Partikel sind.

Die Glasfaserfilter der Luftstaubbeprobung mittels „low-volume-sampler“ wurden ebenfalls einem Vollaufschluss mit Säuren im Mikrowellenofen unterzogen. Die PGE-Gehalte sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tab. 3: PGE-Gehalte in den Glasfaserfiltern der „low volume sampler“-Luftstaubproben

Probe	Filterbelegung [mg]	Rh [µg/kg]	Pd [µg/kg]	195Pt [µg/kg]	Pt/Rh	Pd/Rh
60201	12,4	20	259	87	4,3	12,7
230102	8,9	45	244	153	3,4	5,5
10203	7,4	83	314	190	2,3	3,8
40205	5,3	51	265	159	3,1	5,2
140106	1,1	151	955	375	2,5	6,3
130107	1,9	112	693	247	2,2	6,2
260109	3,1	88	495	268	3,0	5,6
250110	14,4	54	61	103	1,9	1,1

Diese Daten belegen die hohen PGE-Gehalte im städtischen Staub, die auch hier fast 1 mg/kg erreichen können. Obwohl die Messwerte der Proben mit niedrigeren Gehalten teilweise nur wenig oberhalb der Nachweisgrenzen liegen, lässt sich außer bei Probe 250110 aus dem Pt/Rh-Verhältnis auf die Herkunft aus dem Katalysator schließen.

### **Methoden zur direkten Untersuchung PGE-haltiger Partikel**

Aufgrund der in den Tunnelstäuben vorliegenden Gehalte war zu erwarten, dass genügend PGE-haltige Partikel in den Präparaten der meisten Methoden vorhanden waren, um sicher zu stellen, solche Partikel zu finden und zu analysieren; je nach Partikelgröße liegen über 100 Körner/cm<sup>2</sup> vor. Die wiederholten Aufschlüsse ergaben bereits bei 100 mg Einwaage reproduzierbare Ergebnisse, also muss bei dieser Einwaage auch die Partikelmenge reproduzierbar sein. Bezogen auf die bei den jeweiligen Methoden untersuchte Materialmenge (abhängig beispielsweise vom Durchmesser des Elektronenstrahls) wird beim „Anfahren“ eines solchen Korns immer die Nachweisgrenze deutlich überschritten. Der Katalysator enthält, bezogen auf das Gesamtmaterial, etwa 0.3 % Edelmetalle. Der zu erwartende Gehalt der emittierten und im Staub enthaltenen Partikel ist je nach anhaftender Menge „washcoat“ noch deutlich höher. Trotzdem ist es, mit Ausnahme der Laser-Ablation mit HR-ICP-MS-Kopplung nicht gelungen, Pt-, Pd- oder Rh-haltige Partikel in den untersuchten Präparaten zu finden.

Im folgenden sind die eingesetzten Methoden im einzelnen beschrieben, um die Bemühungen darzustellen, die von uns und den beteiligten Instituten eigentlich als erfolgversprechend durchgeführt wurden.

### **Entwicklung von Präparationstechniken**

Für die Analyse der Partikel der Stäube und den Einzelproben mussten für die verschiedenen Analysenmethoden jeweils spezielle Präparationsmethoden entwickelt werden.

Für die Ablation der Probe mit dem an die hochauflösende ICP-MS gekoppelten Laser ist der Einsatz von in Kunstharz eingebetteten Partikeln nicht geeignet. Nach Versuchen mit verschiedenen Wachsen, Haftfolien und Klebern für die Fixierung der



Partikel auf dem Probenträger, wurden Präparate mit einem speziellen Klebespray angefertigt.

Für die Synchrotron-Messungen wird das Kunstharzpräparat nicht wie bei anderen Methoden (z.B. Mikrosonde) auf einer planen Glasscheibe fixiert, sondern auf einem Aluminiumträger mit Lochblende (Abb. 9). Dieser Träger ist jedoch nicht geeignet, um darauf das Präparat herzustellen. Zudem war es notwendig, vorher das pulverförmige Material in einem geeigneten Kunstharz zu homogenisieren und bei der notwendigen Festigkeit trotzdem eine möglichst hohe Partikeldichte zu erreichen. Nachdem letzteres gelungen war, wurde der Kunstharzblock mit einem Alkohol-löslichen Klebstoff auf einem Glasträger fixiert und ein planer Schliff von 100µm Dicke hergestellt. Danach muss das Präparat vorsichtig abgelöst werden. Da das Präparat zunächst in der Mikrosonde (Vakuum-Probenkammer) analysiert werden sollte, konnte für die Fixierung auf dem Aluminiumträger kein lösungsmittelhaltiger Klebstoff eingesetzt werden. Hierfür wurde auf spezielle Graphitklebefolien zurückgegriffen.

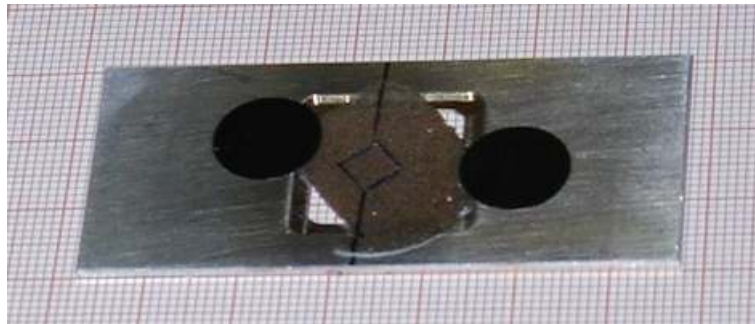


Abb. 9: Straßenstaubpräparat auf Aluminiumprobenträger für Synchrotron-Messung

### **Laser-Ablation, gekoppelt mit Hochauflösendem ICP-MS**

Vom Tunnelstaub WKT I wurde ein Präparat hergestellt, das in einer ausführlichen Messserie mit Laserablation (gekoppelt mit HR-ICP-MS) untersucht wurde. Die größte Schwierigkeit stellt bei dieser Technik das Auffinden PGE-haltiger Partikel dar, da die Körner, die ablatiert werden sollen, mit dem Lichtmikroskop ausgesucht werden. Bisher konnten aber keine eindeutigen morphologischen Charakteristika solcher Partikel spezifiziert werden. Die andere Möglichkeit besteht darin, einen Scan über das Präparat zu fahren und dabei im Rahmen der zu erwartenden Häufigkeit ein entsprechendes Partikel zu analysieren. Bei unserer Messung wurde so verfahren und es ist gelungen, ein Katalysator-bürtiges Partikel zu ablatieren. Das ablatierte Partikel wurde aber sofort vollständig durch den Laserstrahl in das Plasma gebracht, so dass die Analyse eines größeren Elementspektrums nicht möglich war. Aufgrund dieser Erfahrung wurden mit dieser Methodik zunächst keine weiteren Analysen durchgeführt.



## Mikrosonden

### MIKROSONDE DES ZENTRALLABORS FÜR ELEKTRONENMIKROSKOPIE

Mit dieser Methode wurden die Tunnelstäube WKT I und GRT I untersucht.

Die Messungen mit der Mikrosonde liefern Nachweisgrenzen im X00 mg/kg-Bereich, bezogen auf den Messpunkt. Die aus den Katalysatoren emittierten Partikel haben Gehalte bis in den Prozentbereich. Da der Durchmesser des Elektronenstrahls in der gleichen Größenordnung wie die GröÙer der Partikel liegt, ist der Edelmetallgehalt in einem Katalysator-emittierten Partikel somit weit oberhalb der Nachweisgrenze.

Die „back-scatter“-Bilder der Elektronenstrahlmikrosonde zeigen die Elektronendichte (=Atommasse) über der untersuchten Probe. Abbildung 10 zeigt für GRT I Partikel mit eindeutig unterschiedlicher Masse. Hellere Bereiche zeigen hohe Elementarmassen an. Die Analyse mit „elementscaans“ (flächennahe Röntgenfluoreszenzanalyse für ein Element) zeigt jedoch, dass die schwereren Bereiche nicht Pt-haltigen Partikeln zuzuordnen sind (Abb. 10).

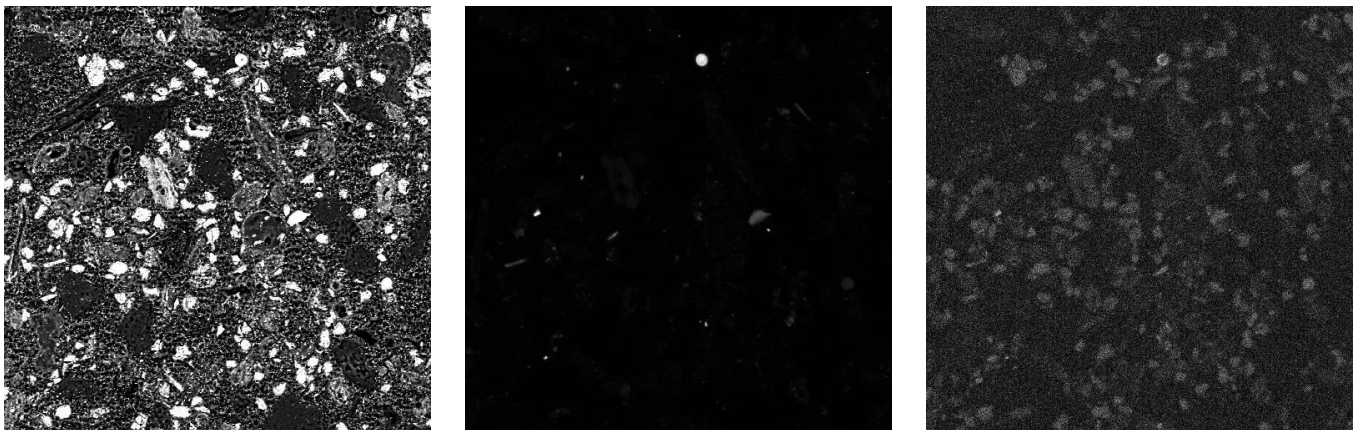


Abb. 10: Mikrosondenaufnahmen WKT I (Kantenlänge jeweils 1024µm).  
Links: back-scatter-Bild, Mitte: Fe-Verteilung, rechts: Pt-Verteilung

### MIKROSONDE DER BUNDESANSTALT FÜR GEOWISSENSCHAFTEN UND ROHSTOFFE

An der derzeit hochwertigsten uns zur Verfügung stehenden Mikrosonde (Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe, Hannover) wurde in zwei Messkampagnen der Tunnelstaub GRT I auf PGE-haltige Partikel untersucht. In den Präparaten wurden verschiedene Bereiche „kartiert“, wobei folgende relevante Messparameter angegeben werden: Mess-Spotgröße: 1-2 µm, Nachweisgrenze: 10-100mg/kg bezogen auf Messspot, Schrittgröße: 1 µm Profilabstand: 1 µm. Je

Messbereich wurden mindestens 1024 x 1024 Messpunkte angefahren, dies entspricht jeweils etwa 1 mm<sup>2</sup>.

Die erste Messkampagne im Januar und Februar 2003 zeigte eine sehr heterogene Zusammensetzung des Staubs, in der neben geogenen Al-haltigen Silikatphasen (vermutlich Feldspat) auch zahlreiche möglicherweise anthropogene Fe-reiche Partikel auffielen. Es konnten bei diesen Versuchen keine Anreicherungen von Pt, Pd oder Rh festgestellt werden. Falls Partikel in der Größenordnung von 1-2 µm vorlägen, hätten sie mit dem oben beschriebenen Setup detektiert werden können. In einigen Körnern, vor allem in Fe-Oxiden/Hydroxiden, fielen lokal etwas höhere Pt-Konzentrationen auf. Solche Stellen wurden bei extremer Vergrößerung mit Strahlabständen von 0,1 µm nachgemessen, leider konnten diese erhöhten Konzentrationen an keinem der in Frage kommenden Partikel bestätigt werden. Es wird angenommen, dass lokal auftretende "helle Punkte" in den Pt-Verteilungen auf den Bildern durch Spannungsunterschiede oder lokale Aufladungen zustande kommen.

Das könnte bedeuten, dass die PGE-Partikel sehr viel kleiner als der Strahldurchmesser (1-2 µm) sind, und als homogen über die Probe verteilte Cluster vorlagen. Zusammenballungen solcher Cluster sind zwar zu vermuten, konnten aber nicht nachgewiesen werden.

Aufgrund des bei diesem Setup unbefriedigenden Ergebnisses und weil aus gerätetechnischen und softwarespezifischen Gründen (riesige Datenmengen) nur bedingt, flächendeckend gearbeitet werden konnte, wurde im Mai 2003 eine weitere Messkampagne durchgeführt (Abb. 11 und 12).

Es wurden mehrere „Kartierungen (Maps)" der bereits bedampften Probe durchgeführt. Dabei wurden speziell auf die Katalysator-spezifischen Elemente Al, Pt, Ce, Ba und Zr analysiert. Die analysierten Flächen waren je nach Messprogramm 1.5 x 1 mm oder 3 x 2 mm groß, die Auflösung betrug 1 µm. Dadurch ergab sich eine Scanzeit von knapp 36 Stunden. Leider brachten auch diese Versuche kein positives Ergebnis bezüglich der Katalysator-Partikel. Im Mapping der Ce-Verteilung konnte eine Ce-reiche Phase identifiziert werden, die jedoch in Biotit eingeschlossen war. Es zeigten sich zwar Partikel mit hohen Konzentrationen von Ce, die jedoch von La, Ca und anderen Seltenen Erden begleitet wurden. Es handelte sich also wahrscheinlich um ein Selten-Erd Element-haltiges Karbonat oder Oxid (geogen). Partikel mit hohen Zr-Konzentrationen waren generell geogene Zirkone. Ba war in manchen Glimmern erhöht. Partikel mit Al+Ce wurden nicht gefunden.

Es konnte also wiederum kein genügend großes PGE-haltiges Partikelchen gefunden werden. Neben der Möglichkeit extrem feinkörniger Cluster könnte andererseits auch in Betracht gezogen werden, dass die PGE in sehr großen Partikeln vorlagen, so dass es zu einem Nuggett-Effekt kommt und kein Partikel in der Schliffebene anzutreffen ist. Dies stünde allerdings im Gegensatz zu den bisher veröffentlichten Ergebnissen (GSF 1997).

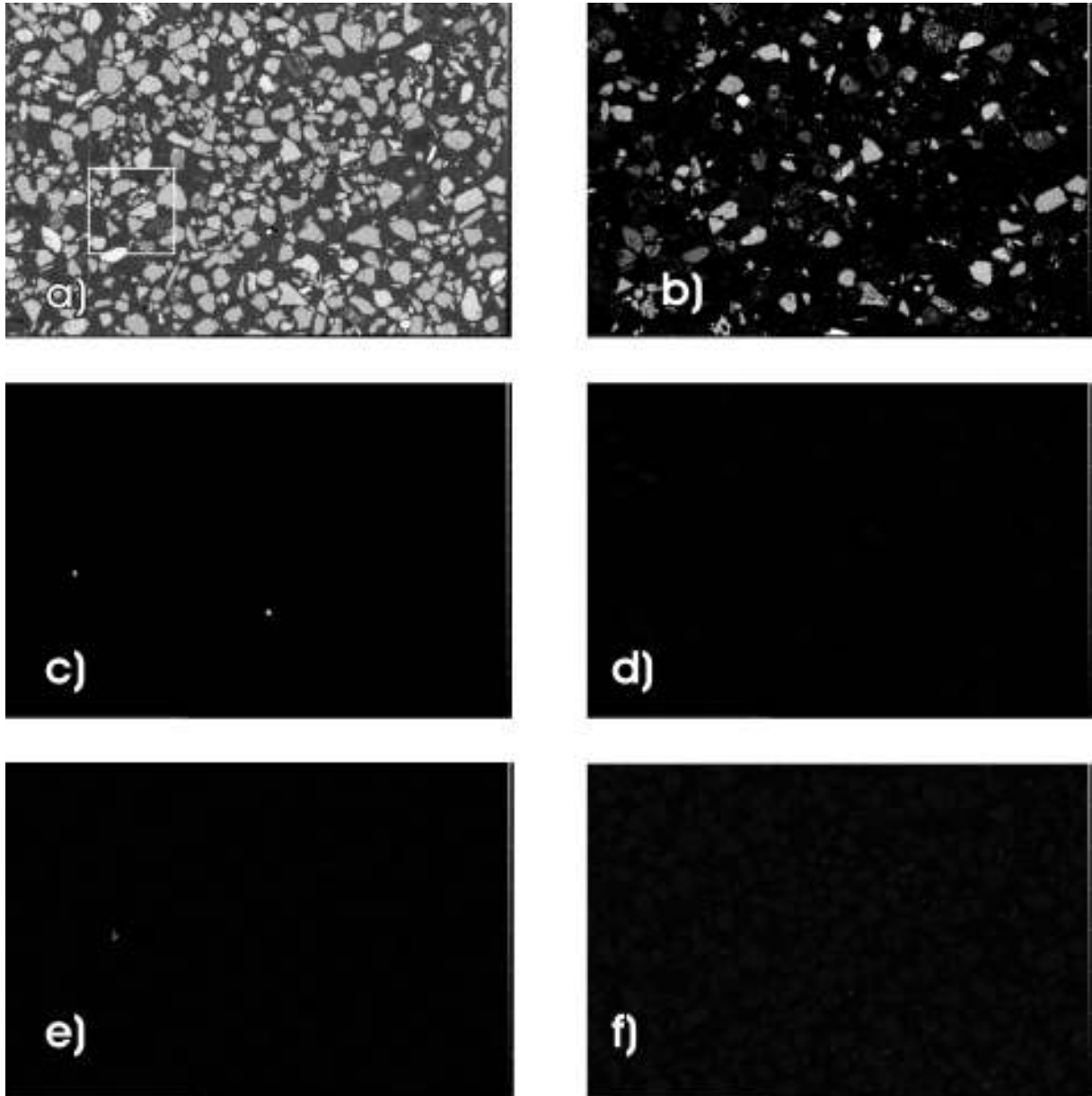


Abb 11: Mikrosondemessungen am Tunnelstaub GRT I untere Kantenlänge = 3 mm  
a) Rückstrahlelektronenbild (BSE), b) Al-Verteilung, c) Zr-Verteilung,  
d) Ba-Verteilung, e) Ce-Verteilung, f) Pt-Verteilung

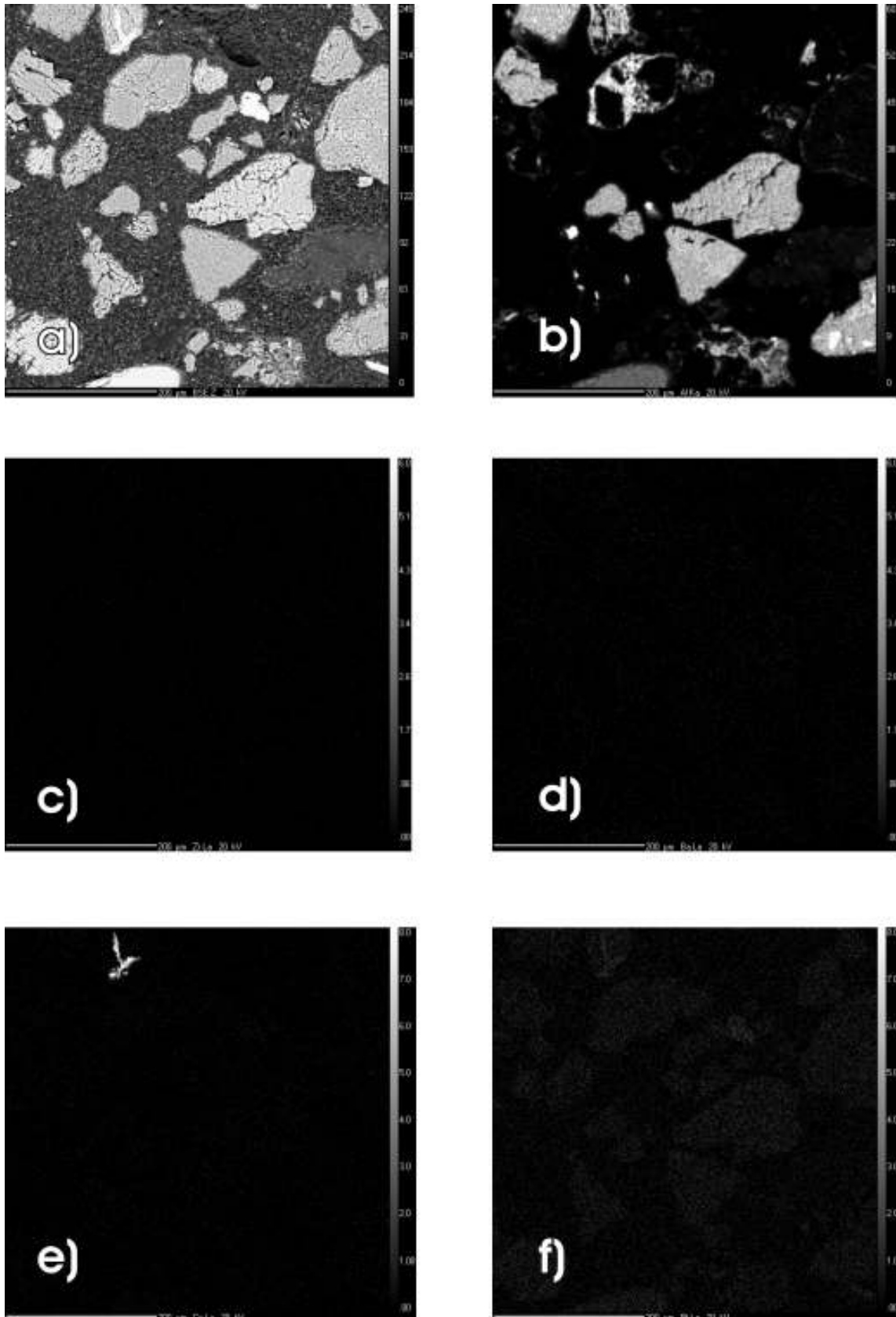


Abb. 12: Ausschnittvergrößerung von Abb. 11 (im BSE-Bild markierter Bereich),  
Kantenlänge 500  $\mu\text{m}$   
a) Rückstrahlelektronenbild (BSE), b) Al-Verteilung, c) Zr-Verteilung,  
d) Ba-Verteilung, e) Ce-Verteilung, f) Pt-Verteilung

## Messung an der Synchrotronquelle Desy

An der Synchrotronquelle in Hamburg (DESY) wurden Präparate des Tunnelstaub WKT I mittels  $\mu$ -Synchrotron-Röntgenfluoreszenz gemessen. Die Nachweisgrenzen liegen zwischen 1 und 10 mg/kg für Elemente mit Ordnungszahlen größer 26 (Fe) je nach Masse des Elements und sind damit deutlich niedriger als bei der Mikrosonde. Damit wäre es ohne weiteres möglich, PGE im Messstrahl von 15  $\mu\text{m}$  Durchmesser zu messen, wenn ein Katalysator-emittiertes Partikel angefahren wird. Auf einem Messraster vom 1mm auf 100  $\mu\text{m}$  wurden im Abstand von 10  $\mu\text{m}$  10 Profile mit einer Schrittweite von 100  $\mu\text{m}$  aufgenommen. Das gemessene Elementenspektrum in einem Partikel sollten Rückschlüsse auf die mögliche Bindungsform erlauben. Das Elementenspektrum (Abb. 13) zeigte typischerweise ein ähnliches Muster für den Tunnelstaub WKT I, wie es auch durch die Analytik der Gesamtprobe mit EDX quantifiziert wurde. Die genetische Zuordnung der Elemente wird unten diskutiert. Edelmetalle konnten nicht nachgewiesen werden, die Positionen der spezifischen Signale sind im Diagramm (Abb. 13) markiert. Leider war es auch bei dieser aufwändigen Methode nicht möglich, PGE-haltige Partikel zu finden.

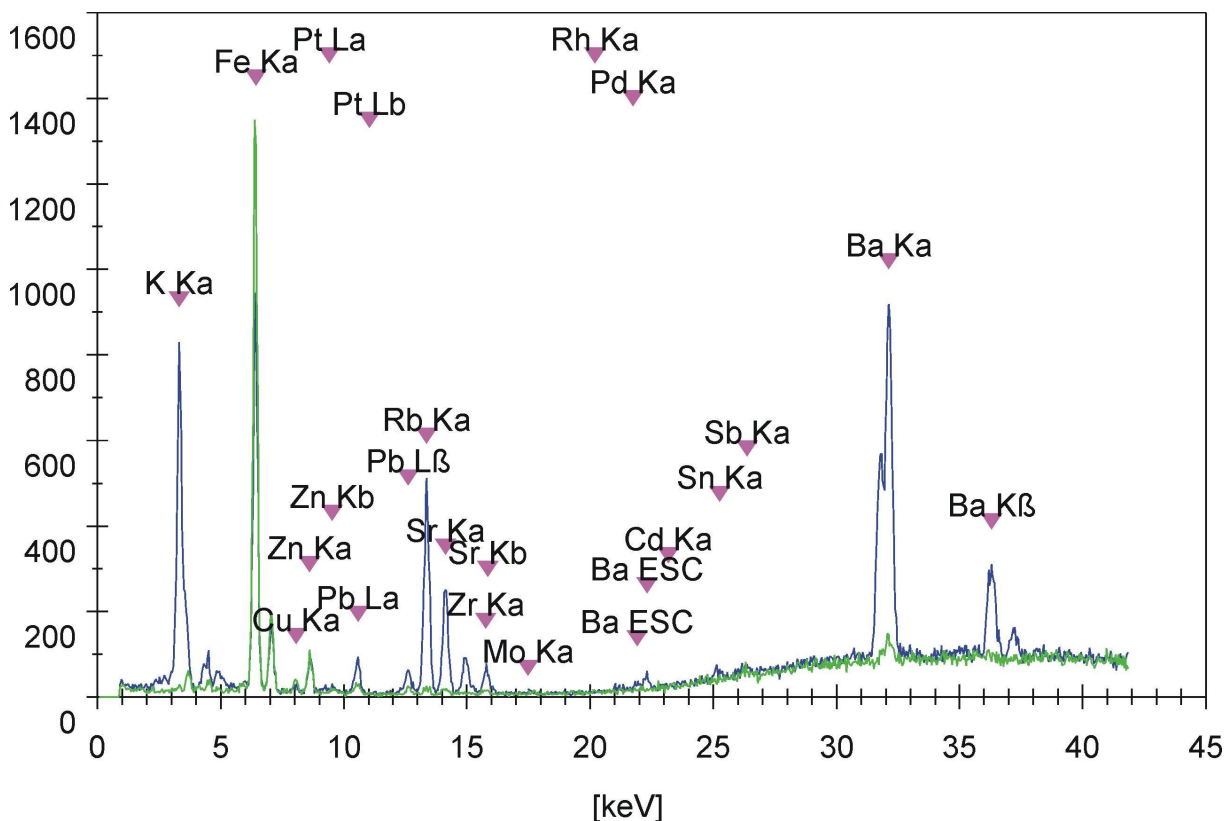


Abb. 13: DESY-Spektrum des Tunnelstaub WKT I

## Messungen mittels Röntgen-Photoelektronenspektroskopie (XPS) am Forschungszentrum Karlsruhe (Institut für instrumentelle Analytik)

Mit der Röntgen-Photoelektronenspektroskopie (XPS) ist es möglich, im betrachteten Messbereich die Elementzusammensetzung zu bestimmen. Hierbei wird die Energie

der austretenden Elektronen, die von der Bindungsenergie abhängig ist, bestimmt. Die Nachweisgrenze liegt bei etwa 1 Atomprozent im Informationsvolumen, ebenfalls ausreichend bei Vorhandensein eines PGE-haltigen Partikels im Messfeld.

Messungen mit XPS wurden am Filterstaub aus der Motorstandbeprobung, am Tunnelstaub WKT I (Abb. 14), am zertifizierten Tunnelstaub und am Probenträger aus der Fahrzeugdirektbeprobung durchgeführt. In keiner der Messungen konnte eines der Edelmetalle in den Spektren nachgewiesen werden.

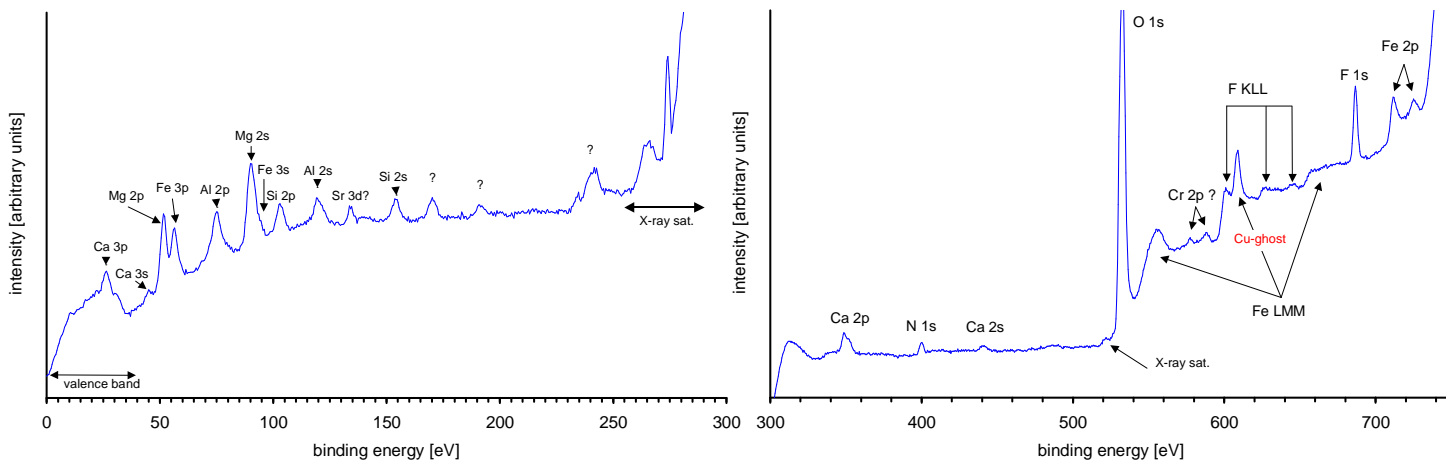


Abb. 14: XPS-Spektrum des Tunnelstaubs WKT I

## Bedeutung der Haupt- und Spurenelementgehalte

Die Ergebnisse der Messungen mittels EDX, den Synchrotronquellen, Mikrosonden und XPS zeigten übereinstimmende und sinnvolle Ergebnisse bezüglich der Elementgehalte. Die Elemente lassen sich bestimmten genetischen Gruppen zuordnen. Der geogene Eintrag wird vor allem durch Si, Al, die Alkali- und Erdalkalielemente, Mn und Fe vertreten. Insbesondere Ca und Sr stehen für einen anthropogenen Eintrag des Zements aus Straßenbau und Bauwerken. Dem Kfz-bürtigen Eintrag lassen sich verschiedene Schwermetalle zuordnen, wie Fe, Cr, Zn, Cu aber auch immer noch das im Treibstoff seit Einführung der Katalysatoren stark reduzierte Pb. Barium, eigentlich geogen bzw. zu einem gewissen Teil dem Zement zuzuordnen wird neuerdings auch in Auto-Katalysatoren verwendet und ist damit kein eindeutiges „Pfadfinderelement“ mehr. Antimon wird in den letzten Jahren verstärkt diskutiert, da es seit einiger Zeit in Bremsbelägen Verwendung findet, die hier mittels EDX nachgewiesenen Gehalte liegen tatsächlich deutlich über den geogenen Gehalten von normalerweise  $<1\mu\text{g}/\text{kg}$ . Zirkon ist geogen vorhanden, ist aber auch im „washcoat“ der Auto-Katalysatoren in größeren Mengen enthalten und damit keiner der beiden Quellen eindeutig zuzuordnen.

## Löslichkeit und Speziation

### Vorversuch mit gemahlenem Katalysator

In einer Vorversuchsreihe wurden die PGE-Löslichkeit und die dabei auftretende PGE-Speziation gemahlene Katalysatormaterials untersucht.

In der durchgeführten Versuchsreihe wurde die Löslichkeit und Speziation der PGE, die in Form gemahlene Katalysatormaterials vorlagen, in reinem bidestilliertem H<sub>2</sub>O und in Anwesenheit von Huminstoffen untersucht.

Dafür wurden Schüttelversuche des gemahlene Katalysatormaterials mit huminstoffreichem Wasser (NOM) durchgeführt. Zur Kontrolle wurde bei jedem Schüttelversuch das jeweilige Katalysatorpulver in einem separaten Ansatz mit bidestilliertem H<sub>2</sub>O geschüttelt. Als Ausgangsmaterial standen zwei von der Fa. Degussa hergestellte, gemahlene Katalysatormaterialien zur Verfügung, ein Pt/Rh-Katalysator (472 mg/kg Rh, 2360 mg/kg Pt laut Hersteller) und ein Pd/Rh-Katalysator (472 mg/kg Rh, 2360 mg/kg Pd laut Hersteller).

Tab. 3: Ansätze der Versuchsreihe mit gemahlenem Katalysatormaterial

Ansatz	PGE	Dauer	Volumen	fest/flüssig
NOM	50 g Pt/Rh-Katalysator	4 Tage	1000 ml	1:20
NOM	50 g Pd/Rh-Katalysator	4 Tage	1000 ml	1:20
Blindwert NOM	-	4 Tage	50 ml	-
Milli-Q	50 g Pt/Rh-Katalysator	4 Tage	1000 ml	1:20
Milli-Q	50 g Pd/Rh-Katalysator	4 Tage	1000 ml	1:20
Blindwert Milli-Q	-	4 Tage	50 ml	-

Dieser Schüttelversuch basierte auf dem von der DIN 38414 (Teil 4) beschriebenen Verfahren "Bestimmung der Eluierbarkeit mit Wasser" (Tab. 3). Um Material zu sparen, wurden anstatt 100 g Festsubstanz auf 2000 ml nur die Hälfte der vorgeschriebenen Mengen eingesetzt, das Verhältnis von fester zu flüssiger Phase entsprechend DIN 38414 (Teil 4) wurde beibehalten. Die PE-Flaschen wurden vier Tage lang geschüttelt und täglich beprobt. In dieser Versuchsreihe wurden 10 ml zur Bestimmung der Gesamtkonzentrationen entnommen und über einen Celluloseacetatfilter (Porenweite 0,45 µm) filtriert. Die Probe wurde mit 500 µl 65% v/v HNO<sub>3</sub> angesäuert (DIN EN ISO 11885) und bis zur Analyse bei 4°C gelagert. Für die Speziesanalyse wurde 1 ml Probe entnommen, über 0,45 µm filtriert und direkt anschließend mit einer online-Größenausschlusschromatographie/HR-ICP-MS-Kopplung analysiert (MENZEL et al. 2001).

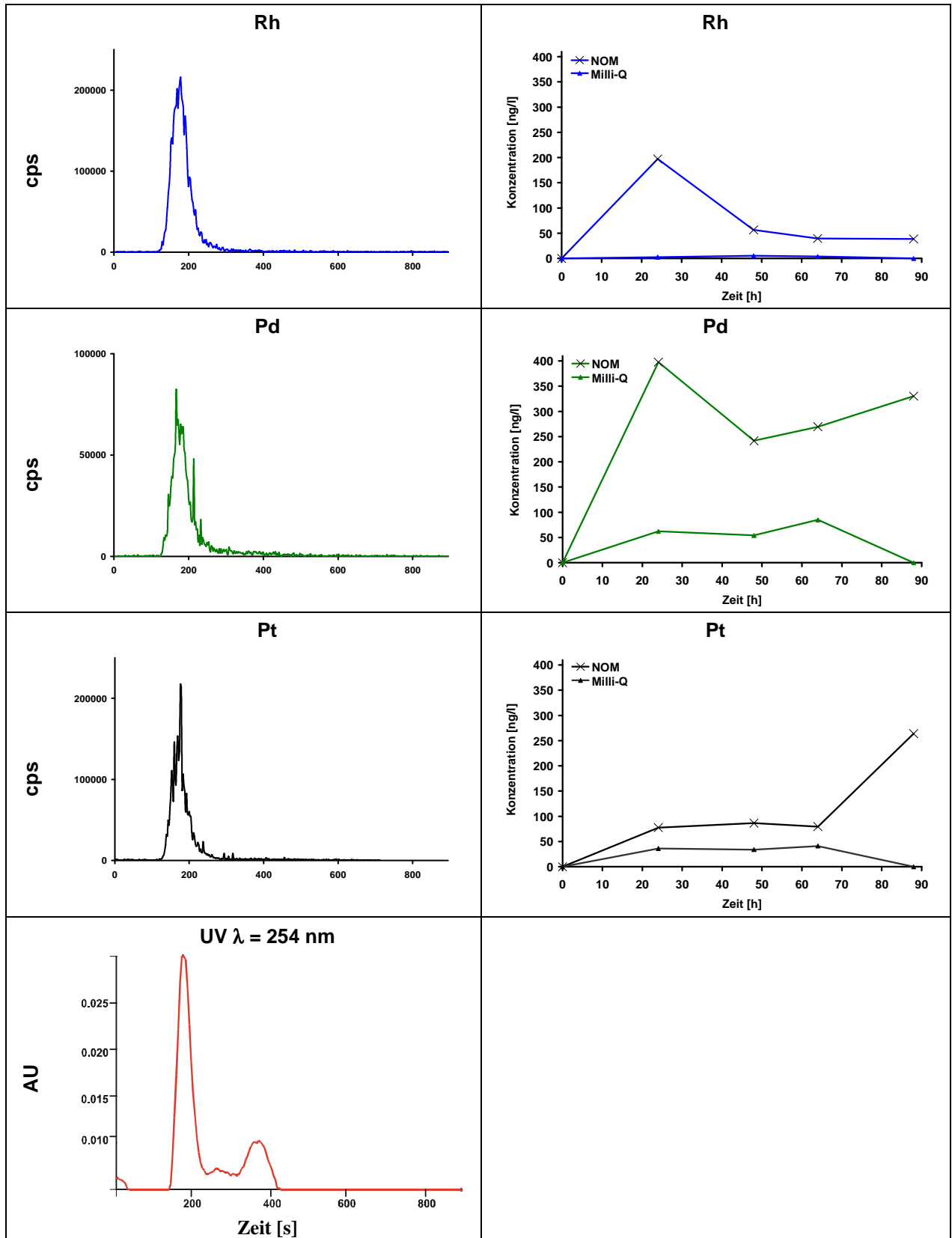


Abb. 15: PGE-Speziation (links) und zeitlicher Verlauf der PGE-Gesamtkonzentrationen (rechts) in der Versuchsreihe mit gemahlenem Katalysatormaterial. cps = counts per second (Signalintensität des HR-ICP-MS), AU = absorption units (Signalintensität des UV-Detektors)



Generell waren die PGE in huminstoffreichem Wasser um eine Größenordnung besser löslich als in den Proben mit bidestilliertem H<sub>2</sub>O. Die Löslichkeit der PGE aus dem Katalysatormaterial lag bei 10<sup>-6</sup>% (huminstoffreiche Proben) bis 10<sup>-7</sup>% (Proben mit bidestilliertem H<sub>2</sub>O). Palladium zeigte in beiden Ansätzen in Anwesenheit der Huminstoffe mit Werten zwischen 300 und 350 ng/l die höchsten Löslichkeiten aller PGE. Im Vergleich dazu lag die Rh-Konzentration am ersten Versuchstag bei 200 ng/l und nahm anschließend kontinuierlich ab. Ein dazu gegenläufiges Verhalten zeigte das Element Pt, das am Ende des Versuches eine Maximalkonzentration in der Lösung von nahezu 300 ng/l erreichte. Im Ansatz mit bidestilliertem H<sub>2</sub>O wurden Pd-Konzentration von maximal 80 ng/l bestimmt. Für Pt lagen die Konzentration um mindestens Faktor 2 niedriger. Rhodium zeigte mit < 5 ng/l die geringste Löslichkeit. Anhand der Speziesanalysen wurde die höhere PGE-Konzentrationen in den huminstoffreichen Wässern auf die Bildung eines besser löslichen PGE-Huminstoff-Komplexes zurückgeführt.

## PGE im Straßenabfluss

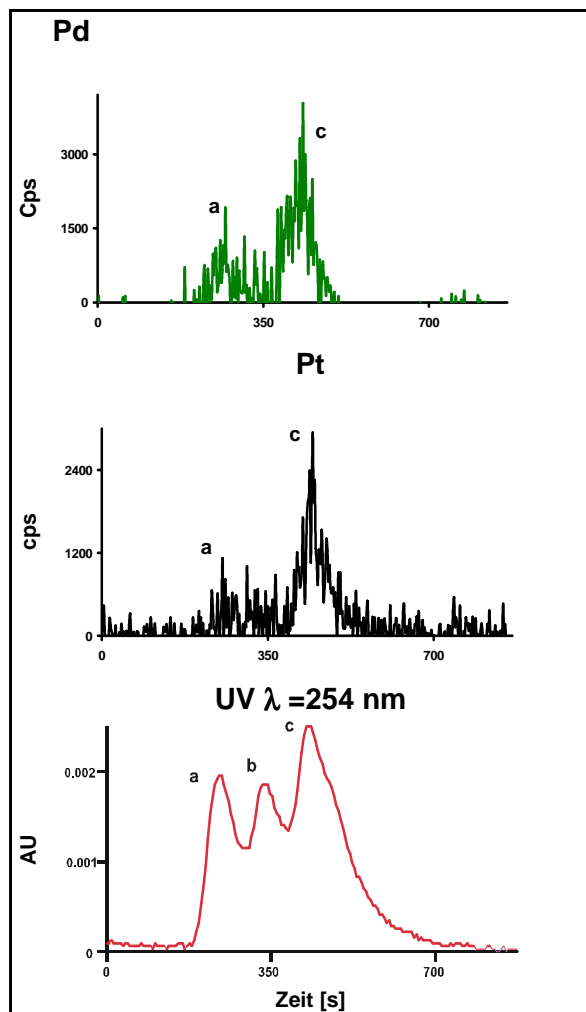


Abb. 16: PGE-Speziesbestimmung der Straßenabflusswässer

Die Speziesanalytik wurde an der Straßenabfluss-Probe mit der höchsten PGE-Konzentration (Pd 640, Pt 26, Rh 90 ng/l) durchgeführt. Die Konzentrationen der PGE zeigten im Vergleich mit den Gehalten im Straßenstaub, dass Pd am besten in Lösung geht. Das SEC-Chromatogramm wies für Pt und Pd zwei verschieden große Moleküle aus (Abb. 16). Hierbei handelte es sich vermutlich um Huminstoffe (a) und eine niedermolekulare Verbindung (c), an die der größere Teil der PGE gebunden war.

## Säulenversuche

Als weitere indirekte Methode, um die in der Umwelt auftretenden PGE-Spezies zu charakterisieren, wurden Säulenversuche durchgeführt, wobei das Bindungsvermögen verschiedener typischer Bodenminerale bezüglich der PGE charakterisiert werden sollte. Die Säulen (Länge  $l=30\text{cm}$ ; Innendurchmesser  $ID=3\text{ cm}$ ) wurden mit dem entsprechenden Material gefüllt und von einer PGE-haltigen Lösung (je  $200\ \mu\text{g/l}$  Pt, Pd, Rh aus Chloriden in  $\text{H}_2\text{O}$ ) von unten nach oben durchströmt, sie simulierten also den gesättigten Zustand. Das Eluat wurde in bestimmten Zeitintervallen gesammelt und mit Hilfe der HR-ICP-MS analysiert. Die Säulendimensionen und die Bedingungen des Experiments entsprachen DIN 19736.



Abb. 17: Säulenversuchsanlage am IMG

Die Säulenexperimente sollten sowohl mit verschiedenen Füllmaterialien (Mangankiese, Quarzsand, Quarzsand mit Tonmineralen, Kalksand, Boden, organikhaltiges Material z.B. Torf) als auch mit verschiedenen Kombinationen an PGE-Kontaminationen als dünne Schicht unten in der Säule eingebracht (partikulärelementar, Straßenstaub, unterschiedliche Salze in verschiedenen Kombinationen) und mit verschiedenen Transportmedien (destilliertes Wasser bei verschiedenen pH-Werten, Regenwasser, huminstoffreiche Lösung) durchgeführt werden. Durch diese verschiedenen Kombinationen, sollten die möglichen Transport- und Festlegungsmechanismen der freigesetzten Kfz-emittierten PGE-Spezies bezüglich der Bodenphasen simuliert werden.

Im Rahmen dieses Projekts konnten Versuchsreihen mit Mangankies, Quarz und Kaolinit durchgeführt werden. Als Transportmedium wurde zuerst destilliertes Wasser gewählt, die PGE-Konzentration in der Lösung wurde auf 200 µg/l eingestellt, was durchschnittlich der gemessenen Konzentration in Böden neben Autobahnen und stark befahrenen Straßen entspricht.

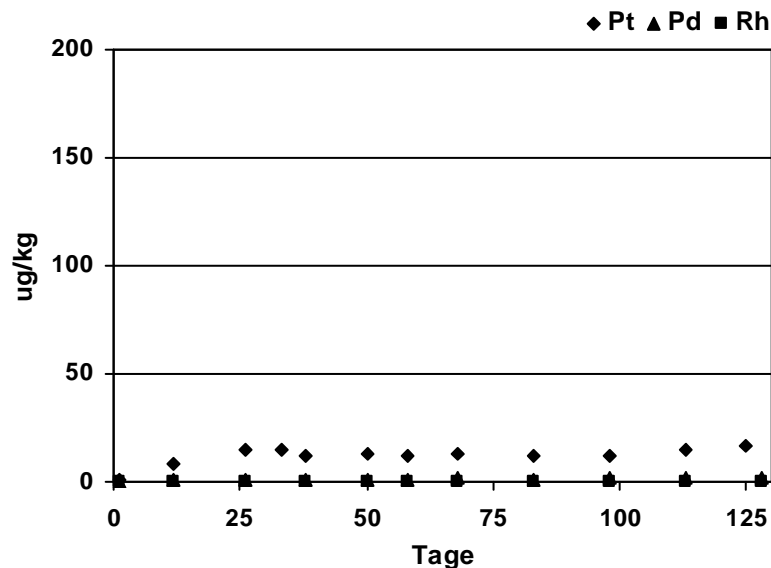


Abb. 18: Durchbruchskurven von Platin, Palladium und Rhodium an Mangankies (Mn/Fe-Hydroxiden)

Bei allen Versuchen wurde zunächst der pH-Wert 4 vorgesehen. Zum Vergleich wurden jeweils 2 Parallelversuche mit Säulen gleichen Füllmaterials durchgeführt.

Versuch I Mangankiese. Mangankiese bestehen im wesentlichen aus Mn/Fe-Hydroxiden. Wegen der großen Oberfläche haben sie eine sehr hohe Adsorptionskapazität, so dass noch nach 125 Tagen Versuchsdauer die Gesamtmenge der PGE aus der Lösung aufgenommen wurde. Abbildung 18 zeigt,

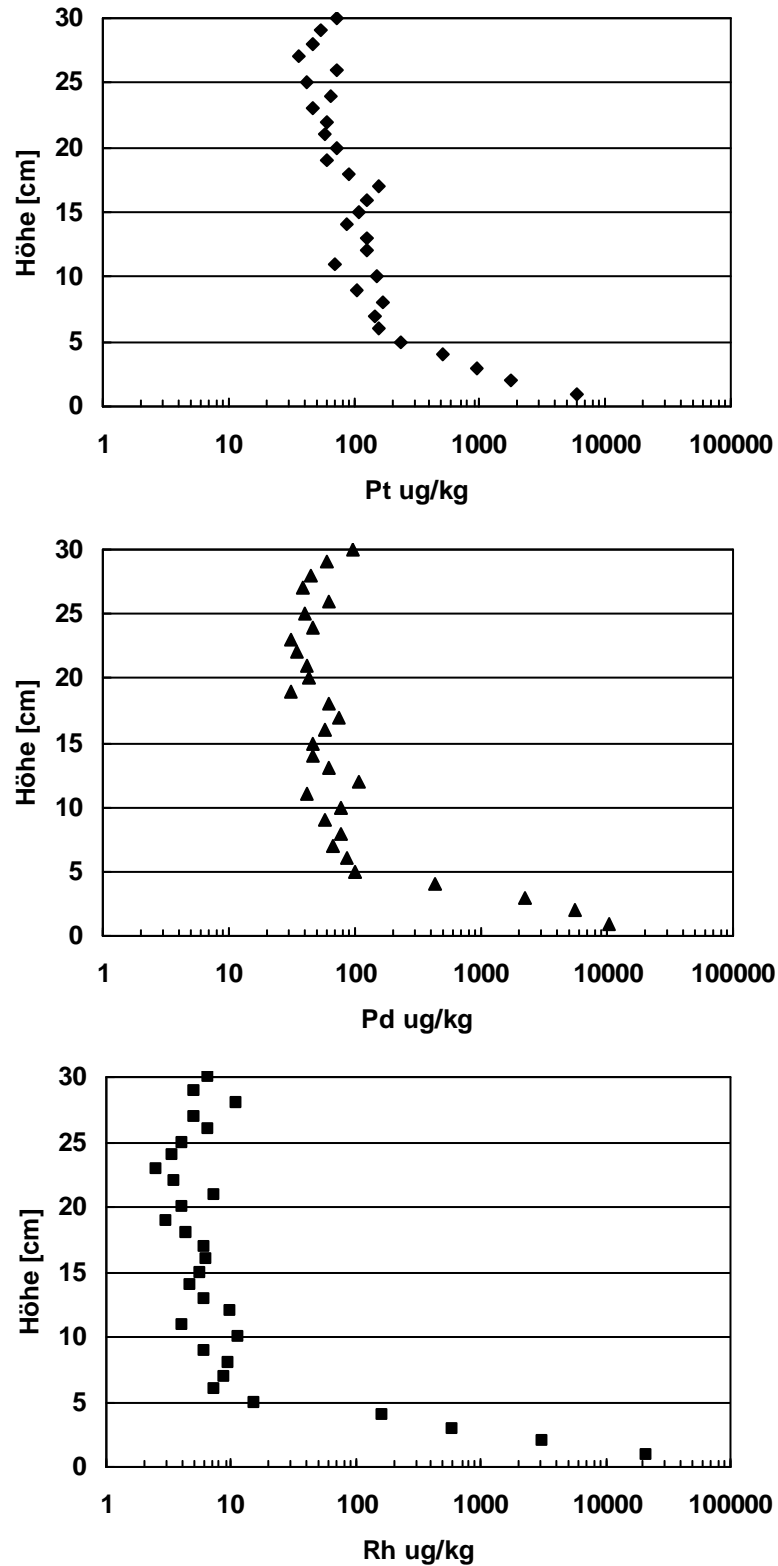


Abb. 19 PGE-Verteilung innerhalb der Säule

dass Platin nur zu einem sehr geringen Anteil ( $\sim 20 \mu\text{g/l}$ ) im Ausfluss der Säule nachzuweisen war. Aufgrund dieser Gegebenheiten war mit einem Durchbruch der PGE erst im Jahreszeitraum zu rechnen, weswegen dieser Säulenversuch beendet und das Säulenmaterial untersucht wurde.

Hierfür wurden die Mangankiese aus den Säulen schichtweise entnommen und die PGE-Konzentrationen der einzelnen Schichten bestimmt, um detaillierte Informationen über die Verteilung der PGE innerhalb der Säulen zu gewinnen. Die PGE-Verteilungen in den Säulen sind in Abbildung 19 dargestellt. Es zeigte sich, dass wie aus den Konzentrationen im Ausfluss abzuleiten war, die Edelmetalle innerhalb der untersten 5 cm akkumulierten. Innerhalb der oberen 25 cm waren die PGE relativ gleichmäßig in wesentlich niedrigeren Konzentrationen vorhanden. Diese Verteilung weist darauf hin, dass in den untersten Schichten des Materials eine Sättigung erreicht wurde, die im Laufe der Versuchsdauer als Front durch die Säule durchwanderte. Oberhalb davon nahm die PGE-Konzentration im Material doppelt exponentiell ab. Als mögliche Fehlerquelle könnte der Absatz feineren Materials beim Einbau in die Säule in Betracht gezogen werden, das aufgrund seiner größeren Oberfläche mehr Metalle gebunden haben könnte.

Versuch II Quarzsand. Im Gegensatz zu den Mangankiesen hat Quarz eine sehr niedrige Adsorptionskapazität. Um natürlichen Bedingungen näher zu kommen, wurde bei diesem Versuch zunächst mit pH 6 statt mit pH 4 gearbeitet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 20 dargestellt. Es zeigte sich, dass die PGE-Konzentrationen im Auslauf deutlich schwankten. Dies war nicht im Adsorptionsverhalten der Säule begründet, sondern leider waren aufgrund des weniger sauren pH-Werts die PGE in der Ausgangslösung teilweise ausgefallen. Dies erwies sich als besonders kritisch für Pd. Deswegen wurde das Experiment mit Quarz abgebrochen und wird mit pH 4 wiederholt.

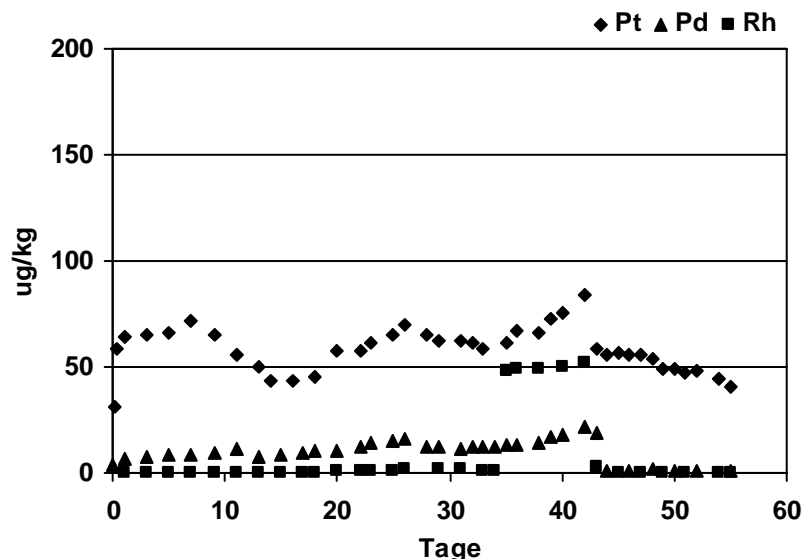


Abb. 20 Durchbruchkurven von Platin, Palladium und Rhodium in der Quarzsäule

Da die Säulenversuche sehr zeitaufwändig waren, wurden parallel Adsorptionsversuche in Standflaschen durchgeführt. Diese Experimente brauchen im

Vergleich zu den Säulenversuchen weniger Material (~ 5-10 g) und weniger Lösung und liefern direkt die Informationen über die Sorptionskapazität der Materialien und über die Veränderung des Sorptionsverhaltens der Elemente bei unterschiedlichen Konzentrationen. Demgegenüber wird aufgrund des großen zeitlichen Aufwandes in den Säulenversuchen mit konstanten Konzentrationen gearbeitet. Die Ergebnisse sind im Einklang mit den Säulenversuchen. Sie zeigen, dass die Mn-Kiese innerhalb weniger Tage die gelösten PGE fast vollständig aus der Lösung adsorbieren. Im Gegensatz dazu blieb die PGE-Konzentration in der Lösung der Quarz-Versuche selbst über einen Zeitraum von 50 Tagen auf dem Niveau der Ausgangskonzentration ( $C/C_0$ = Prozentualer adsorbierter Anteil bezogen auf die Ausgangskonzentration).

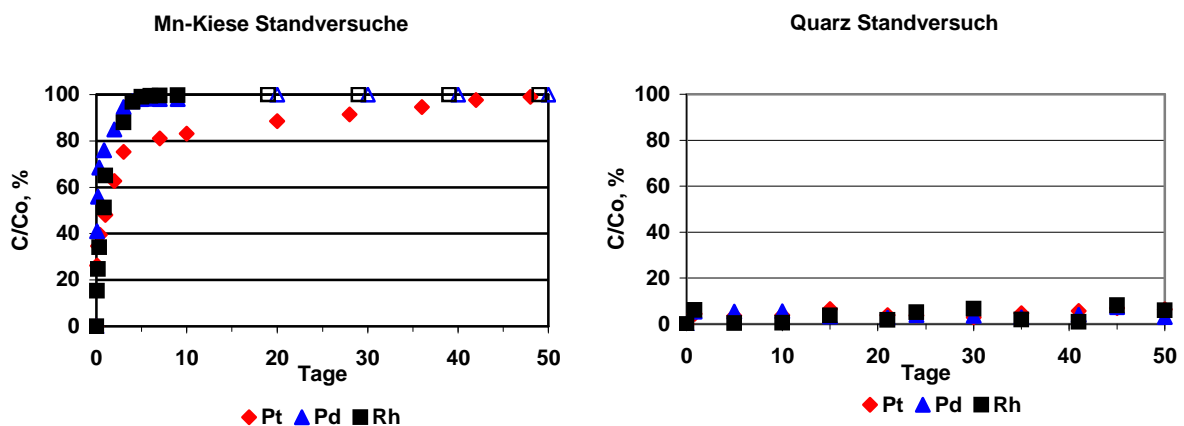


Abb. 21 : Ergebnisse der Adsorptionsversuche in Standflaschen ( $C/C_0$ = Prozentualer adsorbierter Anteil bezogen auf die Ausgangskonzentration)

Weitere Säulenversuche mit Kalksand, Quarz (Wiederholung bei pH 4) und Kaolinit/Quarz-Gemisch wurden im Anschluss an das Projekt durchgeführt.

## Löslichkeits- und Extraktionsversuche

Um Hinweise auf die Mobilität und Spezies von Platingruppenelementen in Umweltproben zu gewinnen, wurden verschiedene Verfahren entwickelt und eingesetzt. Die wesentlichen Ergebnisse dieser im Folgenden vorgestellten Untersuchungen wurden in FLIEGEL ET AL. (2004) veröffentlicht.

Für alle Versuche wurde jeweils die Fraktion <200  $\mu\text{m}$  verwendet. Hierfür wurden die Proben bei 40°C getrocknet und anschließend durch ein Edelstahlsieb der Maschenweite 0,2 mm gesiebt. Die Fraktion <0,2 mm wurde homogenisiert, bei 105°C getrocknet und für die weiteren Untersuchungen benutzt.

Die angewandten Extraktions-Methoden lassen sich in zwei Verfahren einteilen: Extraktionen mit unterschiedlichen Komplexbildnern und Sequenzielle Extraktion.

## EXTRAKTIONEN MIT UNTERSCHIEDLICHEN KOMPLEXBILDNERN

Unter natürlichen Umweltbedingungen sind verschiedene lösliche Pt- und Pd-Komplexe vorstellbar. Insbesondere zeigen beide Elemente in der Oxidationsstufe II eine starke Neigung, mit Liganden wie N (in aliphatischen Aminen oder auch in NO<sub>2</sub>), Halogenen, Cyaniden oder Donoratomen wie P, As, S, Se Komplexe zu bilden. Die beobachteten Komplexe können z.B. die Typen ML<sub>4</sub><sup>2+</sup>, ML<sub>3</sub>X<sup>+</sup>, cis/trans-ML<sub>2</sub>X<sub>2</sub>, etc. mit X einem einfach negativen und L einem neutralen Liganden sein. Sie sind von kinetisch hinreichender Stabilität. Bei Pd ist auch ein aquo-Komplex bekannt (COTTON & WILKINSON 1985). Des Weiteren erhöht sich die Löslichkeit bei der Anwesenheit starker Komplexbildner oder Chelatliganden wie etwa EDTA (LUSTIG ET AL. 1997) oder natürlich auftretenden Komplexbildnern wie Huminstoffen (LUSTIG ET AL. 1996, LUSTIG ET AL. 1998, sowie aktuelle Daten dieses Projekts).

In der Literatur gibt es einige Hinweise auf die Löslichkeit der Platingruppenelemente in natürlichen Systemen, Beispiele hierfür finden sich in JARVIS ET AL. (2001), ECKHARDT ET AL. (2000b), HILL & MEYER (1977), KÖNIG ET AL. (1992) und ALT ET AL. (1993).

Auf diesen Angaben basierend wurden PGE-haltige Staubproben mit verschiedenen Komplexbildnern (Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, EDTA, Zitronensäure, Huminstoffreiches Wasser) unterschiedlicher Konzentration (i.d.R. 0,1 und 0.001 mol/l) extrahiert. Da in der Literatur auch die Änderung von Sorption und Desorption der Metallionen an Sedimentoberflächen bei Änderung des pH-Wertes oder der Salzkonzentration beschrieben wird (FÖRSTNER 1983, BODEK ET AL. 1998, STUMM & MORGAN 1981), wurde zudem die mögliche pH-Abhängigkeit der Löslichkeit bei pH 4 und pH 1 überprüft.

Die Extraktionsversuche wurden mit ansteigenden Extraktionszeiten durchgeführt, um Informationen über lösungskinetische Prozesse gewinnen zu können.

## SEQUENZIELLE EXTRAKTION

Das Prinzip der sequenziellen Extraktion beruht darauf, aus der jeweiligen Matrix die zu untersuchenden Elemente in Abhängigkeit ihrer Bindung in aufeinanderfolgenden Schritten mit verschiedenen Lösungsmitteln zu extrahieren. Die Freisetzung der Metallionen kann dabei entweder durch Verdrängungsreaktionen passieren, d.h. vorhandene Austauschplätze werden durch das Lösungsmittel besetzt und damit werden im Zuge der Ladungsneutralität der Lösung die bisher adsorbierten Ionen frei ( $M^+_{ads} + H^+_{aq} \rightarrow M^+_{aq} + H^+_{ads}$ ), oder die Mineralphasen an denen die Ionen gebunden waren, werden durch das Extraktionsmittel aufgelöst (z. B.:  $CaCO_3 + H_3O^+ \rightarrow CO_2 + Ca^{2+} + H_2O$ ). Wenn man über sequentielle Extraktion auf die Elementspezies schließen möchte, muss man beachten, dass die durch die sequentielle Extraktion definierten Phasen zwar Element-Mobilitäten definieren, jedoch nicht unbedingt mit realen Mineralphasen korrespondieren. Dies liegt daran, dass die Extraktionsmittel während eines Extraktionsschritts mit verschiedenen anwesenden Mineralen reagieren können. Ebenso haben die Schüttelzeit und andere kinetische Faktoren Einfluss auf die Ergebnisse.

In der Bodenchemie gibt es ein anerkanntes Verfahren zur Bestimmung der Schwermetallmobilität, das von ZEIEN & BRÜMMER (1989, 1991) entwickelt wurde. Ein ähnliches Verfahren wurde von WEI & MORRISON (1994) aufgestellt, um die Mobilität von Platin in Straßen- und Gullyproben zu beurteilen; sie konnten zeigen, dass die

PGE aus Partikeln im Organik-reichen Gullysediment schnell in lösliche Formen überführt werden.

Für diese Arbeit wurde basierend auf den obigen Verfahren eine neue Prozedur entwickelt, die eine Kombination der beiden Verfahren darstellt. Aus dem umfangreicheren Verfahren nach ZEIEN & BRÜMMER (1989, 1991) wurden die Extraktionsmittel und die Schüttelzeiten übernommen. Da sich jedoch die Analytik der gewonnenen Extraktionslösungen als problematisch heraus stellte (Matrix-Effekte), wurden in Anlehnung an WEI & MORRISON (1994) die Rückstände statt des Filtrats aus den einzelnen Extraktionsschritten analysiert. Diese Vorgehensweise zeigte eine gute Reproduzierbarkeit.

Tab. 4: Extraktionsbedingungen und –reagenzien des hier benutzten Extraktionsverfahrens (modifiziert nach ZEIEN & BRÜMMER (1991) und WEI & MORRISON (1994))

	Fraktion	Elutionsmittel	Extraktionsdauer
I	“Mobil”	1 mol/l $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , ungepuffert	24 h
II	“leicht nachlieferbar”	1 mol/l $\text{NH}_4\text{Ac}$ , mit Hac auf pH 6 gepuffert	24 h
III	“an Mn-Oxide gebunden“	0.1 mol/l $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ + 1 mol/l $\text{NH}_4\text{Ac}$ , mit HCl auf pH 6.0 gepuffert	30 min.
IV	“organisch gebunden“	0.025 mol/l $\text{NH}_4\text{EDTA}$ , auf pH 4.6 gepuffert	90 min.
V	“an wenig kristalline Fe-Oxide gebunden“	0.2 mol/l $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ , pH 3.25	4 h, in darkness
VI	“an kristalline Fe-Oxide gebunden“	0.1 mol/l Ascorbinsäure + 0.2 mol/l $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ pH 3.25 bei 95°C (Wasserbad)	30 min.
	“Residualfraktion”	Vollaufschluss mit $\text{HNO}_3/\text{HCl}/\text{H}_2\text{O}_2$	

Nach ZEIEN & BRÜMMER (1991) sollten nach jedem Schritt die Extraktionslösungen analysiert werden. Die hohe Matrixbelastung des hier untersuchten Materials führt jedoch zu verschiedenen analytischen Schwierigkeiten, so dass die Pt-Konzentrationen statt dessen nach jedem Extraktionsschritt im Rückstand bestimmt wurden, wie dies von WEI & MORRISON (1994) vorgeschlagen wird. Hierfür wurde der Rückstand getrocknet und nach dem unten beschriebenen Verfahren aufgeschlossen.

Es ist also zu beachten, dass die Pt-Konzentrationen in den Abbildungen 25-27 die Gehalte im Rückstand, nach der Extraktion mit der jeweiligen Lösung, darstellen. Der mobilisierte Anteil wurde durch Subtraktion der Pt-Konzentration im Rückstand von der Ausgangskonzentration in der Probe kalkuliert.

Die Reproduzierbarkeit wurde durch unabhängige, doppelte Extraktion überprüft. Die Ergebnisse werden als Mittelwerte der beiden Durchläufe dargestellt. Die relativ schlechte Reproduzierbarkeit bei der sequentiellen Extraktion ist hauptsächlich auf inhomogene Pt-Verteilung im Staubmaterial zurückzuführen. Zusätzlich kann es auch zu Analytverlusten während der Prozedur kommen. Die Probenhomogenität wäre zwar durch mahlen zu verbessern, dies würde jedoch zur Veränderung des ursprünglichen Charakters der Matrix und der Pt-haltigen Phasen führen. Mahlen würde die Löslichkeit erhöhen und könnte andererseits frische Mineraloberflächen schaffen, die zur Re-Adsorption führen könnten (wie z.B. von AUALIITA & PICKERING 1988 beschrieben). Aus diesen Gründen musste auf die Homogenisierung durch Mahlen verzichtet werden.



## **Durchführung**

Ein Gramm Ausgangsmaterial wurden mit jeweils 25 ml der einzelnen Extraktionslösung behandelt. Die Extraktion wurde in 50 ml Zentrifugenröhrchen (PE) auf einem Schütteltisch durchgeführt. Nach jedem Schritt wurden Aliquote bei 3500 rpm für 10 min. zentrifugiert und anschließend die überstehende Lösung dekantiert. Der Rückstand wurde zweimal mit der 10-fach verdünnten Extraktionslösung gewaschen. Reagenzien und Versuchsbedingungen der einzelnen Schritte sind in Tabelle 4 dargestellt.

## **Aufschluss des Rückstands**

Zur Analytik des Rückstandes mittels HR-ICP-MS wurde ein spezielles Aufschlussverfahren entwickelt. Normalerweise werden geologische Proben mittels NiS-Dokimasie (VOGT 2000, JARVIS ET AL. 1995) oder mittels Hochdruck-Aufschluss (MÜLLER 2001) aufbereitet. Beides ist mit erheblichen Kosten und Arbeitszeiten verbunden. Des weiteren benötigt man zum Teil bis zu 30 g Einwaage, was für diese Proben nicht zur Verfügung stand. Ziel war es daher, ein schnelles, kostengünstiges Aufschlussverfahren mit Mikroeinwaagen und guter Reproduzierbarkeit zu entwickeln. Dies konnte durch Tests verschiedener Mikrowellen-Aufschlussverfahren erreicht werden (Abb. 24).

Ein weiteres großes analytisches Problem bei der Detektion von Pt, Pd, Rh mittels ICP-MS stellen die spektralen Interferenzen dar. Diese verhindern eine reproduzierbare Analytik ohne eine aufwendige Probenpräparation. Ein weiteres Anliegen war es daher, die Probenpräparation zu vereinfachen. Für Pt konnten auch hier vielversprechende Ergebnisse erzielt werden. Das Mikrowellenaufschlussverfahren in Kombination mit einer Standardaddition ermöglichte eine Bestimmung von Pt mit ausreichender Genauigkeit ohne vorhergehende Matrixabtrennung der Probe. Hierbei wird in einem modifizierten HCl/HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Aufschluss 1 Gramm der Probe in Teflondruckbehältern im Mikrowellenofen schrittweise erhitzt und aufgeschlossen. Die fertige Aufschlusslösung liegt in 1-prozentiger HNO<sub>3</sub> zur Messung mittels ICP-MS vor. Alle verwendeten Chemikalien haben „suprapur“-Qualität und für notwendige Verdünnungen wurde doppelt-destilliertes Wasser benutzt.

## **Bestimmung von Pt in den Aufschlusslösungen**

Die Lösungen wurden mittels des doppelt-fokussierenden hochauflösenden ICP-MS (AXIOM, VG Elemental, UK) analysiert. Vor der Analyse wurden die Aufschlusslösungen 1:10 mit 1% HNO<sub>3</sub> verdünnt um den Matrixanteil zu verringern. Die externe Kalibrierung wurde mit Standardlösungen durchgeführt. Die Signalintensitäten wurden auf den Massen <sup>194</sup>Pt und <sup>195</sup>Pt bei einer Massenauflösung von R=1000 bestimmt. Geräte-Drift und Matrix-Effekte wurden durch den Einsatz der internen Standards In und Tm kompensiert. Jeder dargestellte Messwert basiert auf drei separaten Messdurchläufen. Die instrumentelle Präzision ist immer besser als ±1% (1 σ), abgeleitet aus der relativen Standardabweichung der Wiederholungsmessungen.

## **KURZE DARSTELLUNG AUSGEWÄHLTER ERGEBNISSE**

Die im folgenden zusammengefassten Untersuchungen wurden mittlerweile bei "Analytical and Bioanalytical Chemistry" veröffentlicht. Eine Kopie ist diesem Bericht

als Anlage beigefügt, im folgenden werden die wichtigsten Ergebnisse zusammengefasst.

### **Ergebnisse der Extraktion mit verschiedenen Lösungsmitteln**

Selbst nach dreiwöchiger Extraktionsdauer gingen bezogen auf das Ausgangsmaterial nur sehr geringe Anteile des Platins aus dem Katalysatormaterial in Lösung, die Unterschiede zwischen den eingesetzten Lösungsmitteln bewegten sich innerhalb einer Größenordnung. Die eluierten Pt-Konzentrationen lagen zwar oberhalb der Nachweisgrenzen der ICP-MS, im Rahmen der Messgenauigkeit sind aber nur vorsichtige Aussagen möglich. Die relative Pt-Löslichkeit in destilliertem Wasser lag mit 0.3 % deutlich höher als in einer Studie, die bei gleicher Extraktionsdauer Pt-Pulver zu etwa 0.01 % löste (FREIESLEBEN ET AL. 1993). Tendenziell nimmt die Pt-Löslichkeit aus dem Straßenaufschlamm mit fallendem pH-Wert von destilliertem Wasser zu 0.1 mol HCl ab. Die Löslichkeit im Huminstoff-reichen Hohlohseewasser ist geringer als es aus anderen Versuchen (z.B. ZIMMERMANN 2002) bekannt war und die Untersuchungen zur Bindungsform im Straßenabfluss (s.o.) erwarten ließen.

### **Qualität des entwickelten Aufschlussverfahrens:**

Der Vergleich, der mit dieser Methode an WKT I gewonnenen Daten mit dem NiS-Dokimasie Aufschluss und anschließender Te-Mitfällung, zeigt keine signifikanten Unterschiede. Die Richtigkeit der Analysen wurde mit Hilfe des Standards RDCW7 überprüft, der eine Teilprobe des inzwischen zertifizierten Standards BCR-723 darstellt. RDCW7 wurde mittels der oben beschriebenen Aufschlussmethode sowohl mit als auch ohne anschließende Te-Mitfällung analysiert. Die Ergebnisse (Mittelwert 76,8 µg/kg) liegen nahe des Bereichs der an einem Ringversuch beteiligten, ICP-MS nutzenden Labors ( $59,5 \pm 14,4$  µg/kg). Dies und die geringe Abweichung der mit und ohne Te-Mitfällung gewonnenen Werte (75,8 bzw. 76,8 µg/kg) zeigen, dass eine Probenanreicherung oder Matrixabtrennung in diesem Fall nicht notwendig ist.

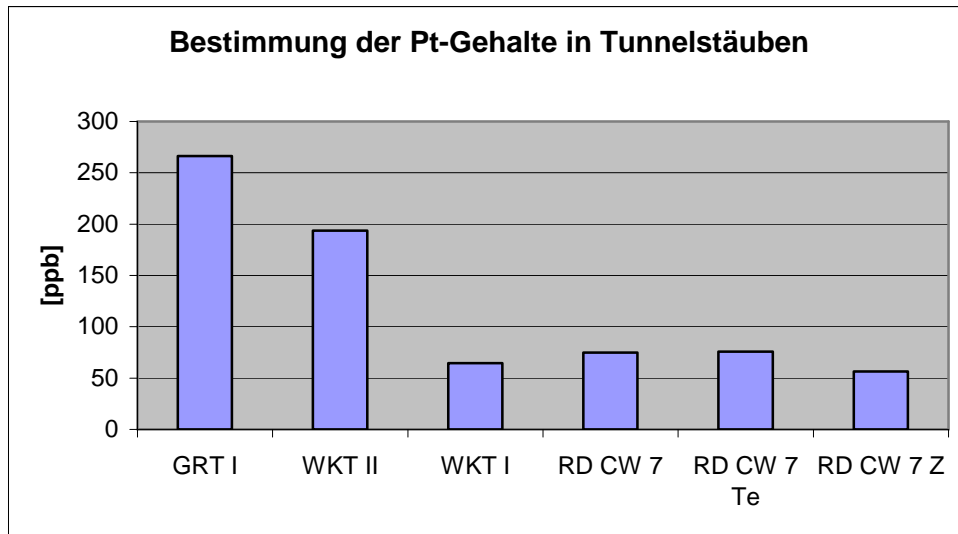


Abb. 24: Pt-Gehalte in Tunnelstäuben. GRT, WKT II, WKT I RD CW 7: ohne Matrixabtrennung; RD CW 7 Te: nach Te-Mitfällung, RD CW 7 Z: Mittelwerte der ICP-MS Daten aus dem Standardisierungsverfahren

## ERGEBNISSE DER EXTRAKTION NACH ZEIEN & BRÜMMER (1991)

### Tunnelproben (WKT I und GRT I)

Die mittleren Pt-Gesamtkonzentrationen sind in Tabelle 5 dargestellt. Die Pt-Konzentration in der Probe GRT I (GRÖTS) waren etwa dreimal höher ist als in der älteren Probe WKT I, was die deutliche Zunahme der Pt-Gehalte an Straßen in den letzten Jahren belegt.

Tab. 5: Mittlere Pt-Konzentrationen der untersuchten Proben

Probe	Pt [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]
WKT I	$98,2 \pm 27,6$
GULLY	$154,9 \pm 9,5$
GRT I	$296,0 \pm 12,5$

WKT I zeigte eine signifikante Abnahme der Pt-Konzentration im Rückstand bei Extraktionsschritt II ( $\text{NH}_4\text{Ac}$ -Lösung). Demnach lagen 30% des Pt-Gesamtgehalts der Probe in leicht löslicher Form vor (Abb. 25). Eine weitere, leichte Abnahme konnte bei Extraktionsschritt III beobachtet werden. Mit Ausnahme von Schwankungen, die auf Inhomogenitäten der Pt-Gehalte zurückgeführt werden mussten, blieben die Pt-Konzentrationen in den restlichen Extraktionsschritten konstant. Demnach war der restliche Pt-Anteil als immobil anzusehen.

GRT I zeigte ein sehr ähnliches Löslichkeitsbild (Abb. 26). Bei dieser Probe lag der leichtlösliche Pt-Anteil (Schritte I und II) sogar bei 42 % des Gesamtgehalts.

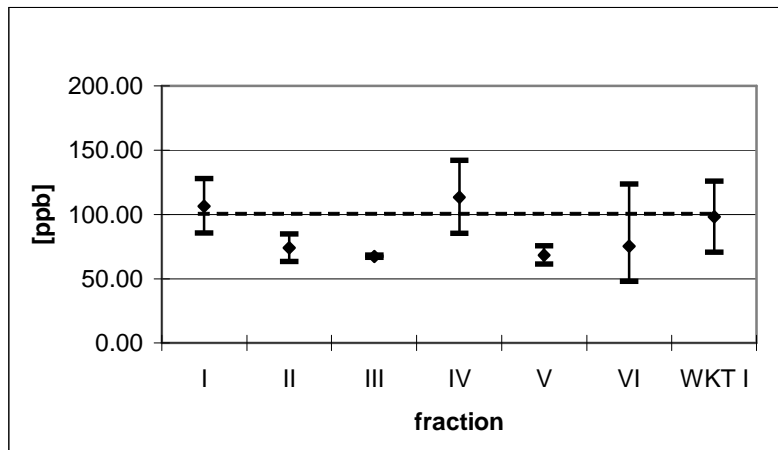


Abb. 25: Pt-Konzentrationen im Straßensediment WKT I, jeweils im Rückstand nach dem einzelnen Extraktionsschritt.

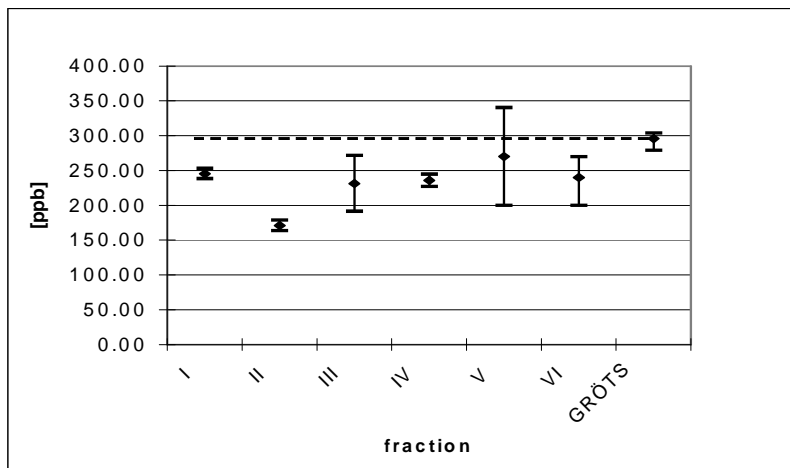


Abb. 26: Pt-Konzentrationen im Straßensediment GRT I, jeweils im Rückstand nach dem einzelnen Extraktionsschritt.

### **Gully-Sediment (GULLY)**

Im Gullysediment waren die Pt-Gehalte nach den einzelnen Extraktionsschritten recht konstant und wichen nur wenig von der Gesamtkonzentration ab (Abb. 27). Es war also kein mobiles Pt in dieser Probe nachzuweisen. Die mittlere Pt-Gesamtkonzentration der Probe GULLY ( $155 \pm 9,5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) entsprach ungefähr der Pt-Restkonzentration in Probe GRT I nach Extraktion der mobilen Pt-Anteile (Pt-Mittelwert der Rückstände IV bis VI =  $171 \pm 7,5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ). Aufgrund dieser Beobachtungen nahmen wir an, dass der chemisch mobile Pt-Anteil bereits vom Straßenabfluss aus dem Gullysediment gelöst wurde. Die leicht höheren Pt-Konzentrationen in GRT I (IV – VI) können auf eine Verdünnung des außerhalb des Tunnels beprobten Gullysediments beispielsweise durch windgetragenes Material zurückgeführt werden, ähnliches berichten WEI & MORRISON (1994).

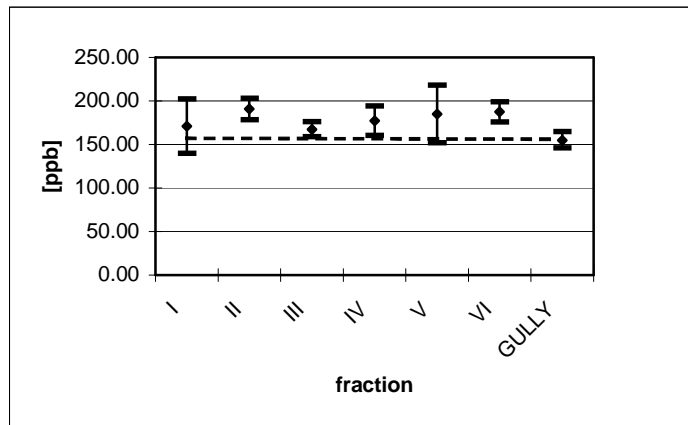


Abb. 27: Pt-Konzentrationen im Gullysediment GULLY, jeweils im Rückstand nach dem einzelnen Extraktionsschritt.

## DISKUSSION

Die im Vergleich mit WKT I deutlich höhere Pt-Konzentration in der Probe GRT I kann durch die Zunahme Katalysator-bestückter Fahrzeuge im Zeitraum zwischen 1995/97 und 2002 und der damit verbundenen Zunahme der Gesamtemission erklärt werden. Trotzdem muss auch ein unterschiedlicher Verkehrsfluss in den beiden Tunneln betrachtet werden. Der Wattkopftunnel (WKT I) liegt an einer großen Bundesstraße, auf der meist fließender Verkehr mit konstanter Geschwindigkeit (max. 70 km/h) herrscht. Im Gegensatz dazu zeigt der Grötzingertunnel (GRT I) eher städtischen Verkehrscharakter mit häufigen Verkehrsstaus. Der damit verbundene „stop-and-go“-Verkehr führt zu einer thermischen und mechanischen Belastung der Katalysatoren. Die Zunahme der PGE-Emission durch solche Faktoren wurde in verschiedenen Studien beleuchtet (KÖNIG et al. 1992, MENZEL 2002, ZEREINI 1996).

Wie bereits erwähnt, fallen zwei Besonderheiten beim Vergleich des Grötzingertunnelsediments (GRT I) mit dem direkt außerhalb davon beprobten Gullysediment (GULLY) auf: GULLY beinhaltet kein mobiles Pt und der Pt-Gesamtgehalt ähnelt dem immobilen Pt-Gehalt von GRT I. Weiterhin zeigen die beiden Tunnelsedimente WKT I und GRT I sehr ähnliches Extraktionsverhalten. Dies zeigt, dass die Mobilität von Pt in diesen Tunnelsedimenten nach der Ablagerung kaum von Alterationsprozessen beeinflusst wird, sondern vielmehr ein Teil des Pt direkt von den Katalysatoren in mobiler Form emittiert wird. Diese Annahme wird auch dadurch unterstützt, dass GRT I kurze Zeit nach einer Tunnelreinigung beprobt wurde. Es handelt sich also um junges Material, das nur wenig Zeit hatte, sich in der trockenen Tunnel-Atmosphäre zu verändern. Die trockenen Bedingungen werden durch die Anwesenheit des sehr leicht löslichen Minerals Thenardit im Tunnelsediment belegt.

Es konnten keine Hinweise auf durch organische Verbindungen gesteuerte Reaktionen oder organisch gebundenes Pt gefunden werden, weder in Zusammenhang mit natürlicher organischer Substanz (NOM) noch mit organischen Liganden anthropogener Herkunft. Es zeigt sich ebenso, dass das emittierte Pt sich anders als „konservative“ Schwermetalle verhält, die typischerweise von Fe- und Mn-

Oxiden gebunden werden oder als Sulfide vorliegen. Trotz der Abwesenheit des Transportmediums Wasser im Tunnel, hätte Pt während der ersten beiden Reaktionsschritte (48 Std. Dauer) von Fe- oder Mn-Oxiden oberflächlich gebunden werden können. Dies war aber nicht zu beobachten und entspricht nicht den Schwermetallen wie Cu, Cd oder Pb. Auch zahlreiche weitere analysierte Schwermetalle waren im Wesentlichen mit Fe- und Mn-Oxiden assoziiert.

Die Probe GULLY enthielt kein chemisch mobiles Pt, obwohl die Emissions-Bedingungen die gleichen wie für die Tunnelprobe GRT I waren. Alle Fahrzeuge, die am Gully am Tunneleingang vorbeikommen, passieren auch die Probennahmestelle von GRT I im Tunnelinneren. Die relativ konstante Pt-Konzentration in GULLY, ähnlich dem immobilen Anteil von GRT I, ist ein deutlicher Hinweis auf die Lösung und den Transport eines Teils des Pt durch den Straßenabfluss. Dies deckt sich mit dem Vorkommen von Pt fern von Straßen, z.B. in Hafensediment oder Kläranlagen. Andererseits konnte keine Reaktion des gelösten Pt mit Mineralen des Gullysediments gezeigt werden, obwohl das gelöste Pt unter den feuchten Bedingungen im Gully eigentlich an Fe-Oxiden adsorbiert werden sollte. Die sequentiellen Extraktionsversuche am Gullysediment zeigten die Assoziation von Fe mit verschiedenen Fraktionen, im Gegensatz zum Verhalten von Pt. Wir konnten auch nicht die Ergebnisse von WEI & MORRISON (1994) bestätigen, die Pt vor allem in den Fraktionen „organisch gebunden“ oder „von Fe-/Mn-Oxiden gebunden“ vorfanden.

Insgesamt zeigen unsere Ergebnisse, dass Pt aus den Automobilkatalysatoren vor allem als unlösliche Partikel (vermutlich elementares Pt), aber zu einem wesentlichen Anteil auch als hoch mobile Form emittiert wird. Diese mobile Pt-Spezies reagiert nicht mit den anwesenden Mineralphasen des Straßensediments, sondern wird unter realen Bedingungen leicht transportiert. Die Ergebnisse des Gullysediments zeigten, dass Regenwasser ein genügend starkes Lösungsmittel ist, um die mobile Pt-Phase quantitativ aus den emittierten Partikeln zu extrahieren und über den Wasserpfad in die verschiedenen Umweltkompartimenten umzuverteilen.

Unsere Untersuchungen haben weiterhin gezeigt, dass die genaue Betrachtung des Probennahme-Umfelds essentiell für die richtige Interpretation analytischer Daten ist. Die Löslichkeit und Mobilität der PGE in der Umwelt schwankt stark in Abhängigkeit von den lokalen Bedingungen. Beprobungsmethoden und -behandlung können ebenso die Ergebnisse beeinflussen und sollten in die Interpretation einbezogen werden. Standardmethoden für Beprobungs- und Aufschlussmethoden für PGE-haltige Proben sollten entwickelt werden.

**LITERATURVERZEICHNIS**

- Alt, F., Bambauer, A., Hoppstock, K., Mergler, B. & Tölg, G. (1993): *Fresenius J Anal Chem* 346:693-696.
- ARTELT S., CREUTZENBERG O., KOCK H., LEVSEN K., NACHTIGALL D., HEINRICH U., RÜHLE T. & SCHLÖGL R. (1999): Bioavailability of fine dispersed platinum as emitted from automotive catalytic converters: a model study. — *The Science of the Total Environment*, **228**: 219-242.
- AUALIITIA T.U. & PICKERING W.F. (1988) *Talanta* 35:559-566
- BERNER, Z., MENZEL, C., ZELLER, A., ECKHARDT, J.-D., STÜBEN, D., HARTWIG, A.: Analytical procedure for the quantification of in vitro induced Pt- and Pd-DNA adducts in human lung cells.- in prep.
- BODEK, I., LYMAN, W.J., REEHL, W.F. & ROSENBLATT, D.H. (1988): *Environmental inorganic chemistry*, New York.
- BÜNGER J., STORK J. & STALDER K. (1996): Cyto- and genotoxic effects of coordination complexes of platinum, palladium, and rhodium in vitro. — *International Archives of Occupational and Environmental Health*, **69**: 33-38.
- COTTON, F.A. & WILKINSON, G. (1985): *Anorganische Chemie*; Weinheim.
- DIN 38414 Teil 4 (1984): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Schlamm und Sedimente (Gruppe S) - Bestimmung der Eluierbarkeit mit Wasser (S4).
- DIN EN ISO 11885 (1998): Bestimmung von 33 Elementen durch induktiv gekoppelte Plasma-Atom-Emissionspektrometrie.
- DIN V 19736: Säulenversuche.
- ECKHARDT, J.-D., SCHÄFER, J. PUCHELT, H. & STÜBEN, D. (2000a) in: Zereini, F. & Alt, F. [eds]: *Anthropogenic Platinum-Group Element Emissions – Their Impact on Man and Environment*; 2.1:47–56, Springer.
- ECKHARDT, J.-D., PHILIPP, H., WEBER, A. & STÜBEN, D. (2000b): Review of the geochemical and mineralogical distribution of Platinum-Group Elements (PGE) in soils above the Main Sulphide Zone (MSZ) of the Great Dyke (Zimbabwe) and other selected PGE-mineralizations.– *Berichte zur Lagerstätten- und Rohstoffforschung*, 40, VI + 36 p.
- FLIEGEL, D., BERNER, Z., ECKHARDT, J.-D., STÜBEN, D. (2004): New data on the mobility of Pt emitted from catalytic car exhausters.- *Anal. Bioanal. Chem.*, 379:131-136.
- FÖRSTNER, U. (1983): *Fresenius Z Anal Chem* 316:604-611.
- FREIESLEBEN, D., WAGNER, B., HARTL, H. & BECK, W. (1993): *Z Naturforsch* 486:847-848.
- GEBEL T., LANTZSCH H. & DUNKELBERG H. (1997): Genotoxicity of platinum and palladium compounds in human and bacterial cells. — 3. Platin-Anwendertreffen 1996, München-Neuherberg.
- GEORGIEVA, M. & PIHLAR, B. (1997): *Fresenius J Anal Chem*, 357:874-880.
- GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit (1997): Abschlussbericht Forschungsverband „Edelmetallemissionen“.- GSF, München.
- HELMERS, E. & MERGEL, N. (1998): *Fresenius J Anal Chem* 362:522-528.
- HILL, R.F.W. & MAYER, W.J. (1977): *JEEE Trans Nucl Sci* 24:2549.
- JARVIS K.E., WILLIAMS J.G., PARRY S.J. & BERTALAN E. (1995): Quantitative determination of the platinum-group elements and gold using NiS fire assay with laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry (LA-ICP-MS). — *Chemical Geology*, **124**: 37-46.
- JARVIS,K.E., PARRY, S.J. & PIPER, J.M. (2001): *Environ Sci Technol* 35:1031-1036.
- JORGE DE A.P., ENZWEILER J., SHIBUYA E.K., SARKIS J.E.S. & FIGUEIREDO A.M.G. (1998): Platinum-group elements and gold determination in NiS fire assay buttons by UV laser ablation ICP-MS.

- Geostandards Newsletter - The Journal of Geostandards and Geoanalysis, **22**(1): 47-55.
- KNOBLOCH, S. (1993): Bestimmung von Platin in katalysiertem Autoabgas mittels ICP-MS.- Dissertation Universität Hannover.
- KÖNIG, H.P., HERTEI, R.F., KOCH, W. & ROSNER, G. (1992): Atmosph Environ 26A:741-745.
- LUSTIG, S., MICHALKE, B. & SCHRAMMEL, P. (1998): Fresenius J Anal Chem 360:18-35.
- LUSTIG, S., ZANG, S., MICHALKE, B. & SCHRAMMEL, P., BECK, W. (1996) : Sci Total Environ 188 :195-204.
- LUSTIG, S., ZANG, S., SCHRAMMEL, P. & BECK, W. (1997) : Environ Sci Pollut Res 4 :141-145.
- MENZEL C. (2002): Bestimmung und Verteilung aquatischer PGE-Spezies in urbanen Systemen.- Dissertation Universität Karlsruhe.
- MENZEL C.M., BERNER Z. & STÜBEN D. (2001): Coupling size-exclusion-chromatography and ICP-MS to investigate the speciation of platinum group elements in environmental samples. — Geostandards Newsletter - The Journal of Geostandards and Geoanalysis, **25**(2-3).
- MÜLLER, M. (2001): Entwicklung eines Verfahrens zur Ultraspurenbestimmung der Platingruppenelemente in Umwelt- und geologischen Proben mit einem ICP-QMS unter Verwendung der Isotopenverdünnungsanalyse sowie geeigneter Separationstechniken.- Dissertation Universität Mainz
- NACHTIGALL D., KOCK H., ARTELT S., LEVSEN K., WÜNSCH G., RÜHLE T. & SCHLÖGL R. (1996): Platinum solubility of a substance designed as a model for emissions of automobile catalytic converters. — Fresenius Journal of Analytical Chemistry, **354**: 742-746.
- ROBERT R.V.D., VAN WYK E. & PALMER R. (1971): Concentration of noble metals by a fire assay technique using nickel sulphide as a collector. — Report; National Institute for Metallurgy (South Africa), **No. 1371**.
- SCHÄFER J., ECKHARDT J.-D., BERNER Z. & STÜBEN D. (1999): Time-dependent increase of traffic-emitted platinum-group elements (PGE) in different environmental compartments. — Environmental Science & Technology, **33**: 3166-3170.
- STUMM W. & MORGAN, J.J. (1981): Aquatic chemistry, New York.
- VOGT, M. (2000): Etablierung der Isotopenverdünnungsanalyse zur Bestimmung von Platingruppenelementen in marinen Basalten mittels ICP-MS.- Diplomarbeit Universität Karlsruhe
- WEI C. & MORRISON G. (1994): Platinum analysis and speciation in urban gullypots. — Analytica Chimica Acta, **248**, 587-592.
- ZEIEN H. & BRÜMMER G.W. (1991): Chemische Extraktion zur Bestimmung der Bindungsformen von Schwermetallen in Böden. — Berichte ökologische Forschung, **6**, 62-91.
- ZEIEN, H. & BRÜMMER, G.W. (1989): Mittlg Dtsch Bodenkundl Gesellsch Sonderh 59/I, Kongreßbd. Münster 505-510.
- ZEREINI F (1996) Frankfurt am Main, Habilitationsschrift.
- ZEREINI F. & ALT F. (1998): Emissionen von Platinmetallen – Analytik, Umwelt- und Gesundheitsrelevanz. — 327 S.; Berlin, Heidelberg (Springer).
- ZEREINI F. & URBAN H. (1999): Anwendung der Nickelsulfid-Dokimasie zur Bestimmung von Platingruppenelementen (PGE) in Umweltmaterialien mittels Graphitrohr-AAS. In: Zereini F. & Alt F. (Hrsg.): Emissionen von Platingruppenelementen - Analytik, Umwelt- und Gesundheitsrelevanz. — 97 -106 S.; Berlin, Heidelberg (Springer).
- ZIMMERMANN, S. (2002): Untersuchungen zur Analytik und biologischen Verfügbarkeit der Platingruppenelemente Platin, Palladium und Rhodium.- Dissertation Universität Karlsruhe.



## **PROJEKTTEIL B:**

## **TOXIKOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN**

## **MATERIAL UND METHODEN DER TOXIKOLOGISCHEN UNTERSUCHUNGEN**

### **Zellkultur**

A549-Zellen (DSM, ATCC 107) und V79-Zellen wurden in DMEM-Medium (10 % FKS, 100 U Penicillin / ml, 100 µg Streptomycin / ml) im Brutschrank bei 37°C, 5 % CO<sub>2</sub> und 100 % Luftfeuchtigkeit als Monolayer kultiviert.

### **Verwendete Partikel**

Im Verlauf des Projekts wurden verschiedene Partikelarten eingesetzt. Die anfänglichen Versuche zur Methodenetablierung wurden mit kommerziell erhältlichen, reinen Metallpartikeln (Platin und Palladium von der Firma Alfa-Aesar, Korngröße 0,2 - 1,6 bzw. 0,25 - 0,55 µm) durchgeführt. In weiteren Versuchen wurden dann die zuvor von ARTELT ET AL. verwendeten und vom Fraunhofer Institut für Toxikologie und experimentelle Medizin in Hannover zur Verfügung gestellten Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Pt-Partikel eingesetzt. Sie wurden als möglichst exaktes Modell der tatsächlich aus Abgaskatalysatoren emittierten Partikel synthetisiert und wurden auch bereits in der Literatur genau charakterisiert. (RÜHLE ET AL., 1997). Das auf diesen Partikeln oberflächlich aufgebrauchte Platin liegt in nanokristalliner Form vor.

### **Partikelcharakterisierung**

#### **Rasterelektronenmikroskopie**

Die verwendeten Partikel wurden zunächst mit einem LEO 1530 Rasterelektronenmikroskop untersucht. Dazu wurden sie auf Aluminiumscheiben aufgebracht und ohne weitere Behandlung mit dem REM abgetastet. Dieses Verfahren dient zur Bestimmung der Korngrößenverteilung.

#### **Löslichkeitsversuche**

Je 10 ml Vollmedium wurden in 10 cm Zellkulturschalen mit 5 µg /cm<sup>2</sup> Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Pt-Partikeln versetzt. Nach 24 h wurde der Schaleninhalt in ein Zentrifugenröhrchen gegeben und der Überstand durch insgesamt vier Zentrifugationsschritte bei 20000 g von allen suspendierten Partikeln abgetrennt. Anschließend wurde das Lösungsmittel am Evaporator abgezogen, der Rückstand mit HNO<sub>3</sub> / H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> verascht und die Menge an gelöstem Platin durch HR-ICP-MS quantifiziert.

### **Vorbereitung der Partikel und Inkubation der Zellen**

Direkt vor Versuchsbeginn wurden die Partikel im Trockenschrank 20 min bei 110°C sterilisiert und eine Stammsuspension (jeweils 2-3 mg Metallpulver / ml in bidestilliertem, autoklaviertem Wasser) 10 min in einem Ultraschallbad behandelt. Anschließend wurden logarithmisch wachsende A549 Zellen inkubiert, viermal mit PBS gewaschen, abtrypsinisiert und die DNA wurde isoliert.

## **Nachweis der Partikelaufnahme in die Zellen**

Die Internalisierung der Partikel durch die Zellen wurde sowohl licht- als auch elektronenmikroskopisch untersucht. Für die elektronenmikroskopische Analyse wurden die Zellen auf Polyestermembranen ausgesät, mit den Partikeln inkubiert und nach 24 h wie in WOTTRICH (2003) beschrieben fixiert, kontrastiert und in Harz eingebettet. Die ausgehärteten Harzpräparate wurden in ca. 100 nm dicke Scheiben geschnitten und unter dem Transmissionselektronenmikroskop Zeiss EM109T betrachtet.

## **Intrazelluläre Proteinbindung nach Platin-Inkubation**

Die Metallgehalte verschiedener zellulärer Proteinfractionen wurden mittels Graphitrohr-AAS bestimmt. Dazu wurden A549-Zellen mit gelöstem  $\text{PtCl}_4$  beziehungsweise  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Pt-Partikeln inkubiert, anschließend abtrypsiniert und gewaschen. Nach der Bestimmung der Zellzahl mit einem automatischen Zellzählgerät wurde die Zellsuspension zur Bestimmung von Platin in Cytoplasma und Zellkernextrakt aliquotiert. Nach der anschließenden Proteinisolierung aus den Zellfraktionen wurde zunächst jeweils der Proteingehalt mit der Bradford-Methode (bezogen auf Rinderserumalbumin) bestimmt und anschließend der Platingehalt mittels Graphitrohr-AAS (Atomabsorptionsspektroskopie) gemessen. Daraus wurde der Metallgehalt bezogen auf die Proteinmenge berechnet.

Die Fraktionierung der Zellen basiert auf einer Methode zur Präparation von Zellkernextrakten (HARTMANN & HARTWIG, 1998). Hierzu wurden  $1 - 2 \times 10^6$  Zellen in  $500 \mu\text{l}/10^6$  Zellen eiskaltem Zellysepuffer (10 mM HEPES pH 7,9, 10 mM KCl, 1,5 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0,3 M Saccharose, 0,5 mM DTT, 0,6 mM PMSF, 4,7 mM Leupeptin) resuspendiert und 15 min auf Eis gestellt. Nach der Zugabe von eiskaltem 10 %igem NP-40 ( $25 \mu\text{l}/10^6$  Zellen) wurde 10 s mittels Vortex gut durchmischt und bei 1500 g und  $4^\circ\text{C}$  15 min zentrifugiert. Der Überstand, welcher die Cytoplasmaproteine enthält, wurde vorsichtig abgenommen und ein Aliquot zur Proteinbestimmung (Bradford) eingesetzt. Der Rest wurde bis zur AAS-Analyse bei  $-80^\circ\text{C}$  gelagert. Das Pellet mit den Zellkernen wurde mindestens zweimal mit dem Zellysepuffer gewaschen und 30 min unter Schütteln auf Eis mit  $100 \mu\text{l}/10^6$  Zellen Kernlysepuffer (10 mM HEPES pH 7,9, 400 mM KCl, 1,5 mM  $\text{MgCl}_2$ , 25 % Glycerin, 0,5 mM DTT, 0,6 mM PMSF, 4,7 mM Leupeptin) inkubiert. Nach erneutem Abzentrifugieren (15 min bei 10000g und  $4^\circ\text{C}$ ) wurde der Überstand, welcher die Zellkernproteine enthielt, vorsichtig abgenommen und ein Aliquot zur Proteinbestimmung nach Bradford eingesetzt. Der Rest wurde bis zur AAS-Analyse bei  $-80^\circ\text{C}$  gelagert. Cytoplasma- und Zellkernproteinlösung wurden zur AAS-Analyse nach Bedarf verdünnt und in  $\text{HNO}_3$  suprapur (Endkonzentration 1 %) gelöst. Vor jeder AAS-Analyse wurde eine Kalibriergerade mit käuflicher Pt-Standardlösung (Alfa-Aesar) aufgenommen. Die AAS-Messungen wurden an einem Perkin-Elmer 4110 ZL mithilfe der Software AAWinLabAnalyst durchgeführt. Die Pt-Hohlkathodenlampe (265 nm) wurde bei 30 mA betrieben.

## **DNA-Isolierung**

Die Isolierung der DNA basiert auf einer modifizierten Methode nach Sambrook et al. (1998). Die abtrypsinierten Zellen ( $3 - 6 \times 10^6$ ) wurden in eiskalter TBS-Lösung

(0,0027 M KCl, 0,137 M NaCl, 0,025 M Tris-Base, pH 7,4) aufgenommen und 4 min bei 300 g (4°C) zentrifugiert. Nach einem erneuten Wasch- und Zentrifugationsschritt wurde das Zellpellet vorsichtig in 100 µl TE-Puffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8) aufgenommen und die Zellsuspension nach Zugabe von 900 µl Extraktionspuffer (10 mM Tris-HCl, pH 8, 0,1 M EDTA, 20 µg/ml RNase (DNase-frei), 0,5 % SDS) 1 h bei 37°C inkubiert. Nach Zugabe von Proteinase K (Endkonzentration 100 µg/ml) und 3 h Verdau im Schüttelinkubator bei 50°C wurde die Lösung zunächst auf Raumtemperatur abgekühlt. Zur Abtrennung der DNA von den Proteinen wurde die Lösung mit dem gleichen Volumen einer Mischung aus Tris-gepuffertem Phenol, Chloroform und Isoamylalkohol (25:24:1) versetzt, geschüttelt und danach zur Phasentrennung mit 10000 g bei Raumtemperatur 1 min zentrifugiert. Mit der oberen wässrigen Phase wurde die Phenol-Chloroform-Isoamylalkohol-Extraktion ein- bis zweimal wiederholt, bis keine Interphase mehr sichtbar war. Zur vollständigen Entfernung des Phenols aus der wässrigen Phase schloss sich eine Extraktion mit Chloroform-Isoamylalkohol (24:1) analog der Phenol-Chloroform-Isoamylalkohol-Extraktion an. Nachfolgend wurde die DNA durch Zugabe von 0,2 Vol 10 M Ammoniumacetatlösung zur wässrigen DNA-Lösung und 2 Vol Ethanol (absolut) ausgefällt und 12 h bei -18°C aufbewahrt. Nach 10 min Zentrifugation bei 6000 g (4°C) wurde das DNA-Pellet vorsichtig in 70%igem Ethanol aufgenommen und anschließend erneut bei 6000 g (4°C) 10 min zentrifugiert; dieser Waschschritt wurde viermal wiederholt. Zuletzt wurde das gereinigte DNA-Pellet in einem definierten Volumen bidest. Wasser aufgenommen und die Konzentration photometrisch anhand der Absorption bei 260 nm bestimmt. Die Quotienten  $A_{260}/A_{280}$  sowie  $A_{260}/A_{230}$  gaben Aufschluß über die Reinheit der DNA.

### **Quantifizierung der PGE-DNA-Addukte mittels HR-ICP-MS**

Die Quantifizierung der PGE-DNA-Addukte ist oben detailliert beschrieben.

Zur Vorbereitung der Analyse wurde die DNA erneut in Ethanol ausgefällt und insgesamt viermal gewaschen. Anschließend wurde das DNA-Pellet bei Raumtemperatur 4 h getrocknet, mit 200 µl frisch angesetzter Aufschlusslösung (1 Teil HNO<sub>3</sub> 65 % v/v suprapur + 1 Teil H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 % v/v p.a.) versetzt, vorsichtig gemischt, 1 h bei RT stengelassen und dann über Nacht bei 85 °C bei geöffnetem Reaktionsgefäß verascht. Unmittelbar vor der HR-ICP-MS-Messung wurde die veraschte Probe in 2 ml 1 % v/v HNO<sub>3</sub> (subboiled) aufgenommen und gemessen. Sämtliche Gefäße, die mit der später eingesetzten Aufschlusslösung in Kontakt kommen, wurden zur Vermeidung von Kontaminationen mit 0,2 %iger HNO<sub>3</sub> gespült. Die Details der Kalibrierung und der weiteren Messprozedur sind oben erläutert.

### **Messung der Reversibilität der Metall-DNA-Bindung**

Art und Festigkeit der Bindung des Metalls an die DNA wurden durch Ablösungsversuche mit Zyanid als nukleophilem und komplexbildendem Agens bestimmt. Dazu wurde die nach Inkubation der Zellen mit den Partikeln adduktivierte DNA wie unter Punkt 2.3 beschrieben isoliert und eine konstante Menge an DNA mit verschiedenen Mengen Zyanid behandelt. Anschließend wurde die DNA erneut ausgefällt und überschüssiges Zyanid sowie abgelöstes Platin abgewaschen. Nach Wiederauflösen und erneuter photometrischer Konzentrationsbestimmung der

DNA-Lösung wurde wieder ausgefällt, wie unter Punkt 2.3 beschrieben verascht und der Rest-Metallgehalt an der DNA über HR-ICP-MS quantifiziert (FICHTINGER-SCHEPMAN ET AL. 1995, OLINSKI ET AL., 1992).

### **Untersuchungen zum Bindungsort der Addukte an der DNA mit präparativer HPLC**

Um die Bindungsstellen des Platins an der DNA näher zu bestimmen, wurde die nach Inkubation der Zellen mit Platin adduktivierte DNA wie unter 2.3 beschrieben isoliert, dann jedoch in 20 mM Natriumacetat-Puffer (pH 5,0) gelöst. Die DNA wurde anschließend mit Nuclease P1 versetzt und nach einem Alkalisierungsschritt (1 M Tris-HCl pH 8,5) mit alkalischer Phosphatase zu den Nucleosiden verdaut. Nach dem Rücksäuern mit 3 M Ammoniumacetat (pH 5,0) wurden diese an einer RP-18 Säule (Europher-100 mit 5 µm Packung, 4,6 x 250 mm) isokratisch mit einer Mischung aus 75 % 50 mM Ammoniumacetat / 10 mM NaN<sub>3</sub> pH 5,0 und 25 % Methanol bei 1 ml/min mit einem Gynkotek-HPLC-System getrennt. Detektiert wurde mit einem UV-Detektor bei 254 und 280 nm und die Peaks wurden über Vergleichssubstanzen identifiziert. Zur Bestimmung des Pt-Gehalts der einzelnen Nucleoside wurden im Abstand von 30 bzw. 60 Sekunden Fraktionen entnommen, das Fließmittel wurde abgedampft und der Rückstand mit HNO<sub>3</sub> / H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> verascht. Anschließend wurde der Pt-Gehalt mit HR-ICP-MS gemessen.

### **Bestimmung der Cytotoxizität der Partikel anhand der Koloniebildungsfähigkeit**

Jeweils eine Million Zellen pro Ansatz wurden in eine Kulturschale ausgesät und für einen Tag anwachsen gelassen. Dann wurde 24 h mit den Partikeln inkubiert; nach dem Abwaschen der Partikel wurden die Zellen abgelöst, gezählt und jeweils genau 300 Zellen wurden erneut ausgesät. Nach 7 Tagen im Brutschrank wurden die entstandenen Kolonien mit PBS gewaschen, mit Ethanol fixiert, mit Giemsa-Mischung gefärbt, erneut mit Wasser gewaschen und nach dem Trocknen ausgezählt. Die Ergebnisse werden bezogen auf die Kontrolle angegeben.

### **HPRT-Test in V79-Zellen**

Der Test auf Mutationen im Hypoxanthin-Phosphoribosyl-Transferase-Gen (hprt) basiert auf der Toxizität von 6-Thioguanin, welches durch das HPRT-Enzym in den Nucleotid-Pool eingebracht wird und nach Einbau in die DNA zum Zelltod führt. Tragen die Zellen jedoch eine Mutation im hprt-Gen, können sie im Selektivmedium überleben und Kolonien bilden. Der HPRT-Test wurde mit V79-Lungenzellen des Chinesischen Hamsters durchgeführt, da A549-Zellen aufgrund eines doppelt vorliegenden X-Chromosoms für diesen Test nicht geeignet sind (PARK ET AL., 2001). Zu Versuchsbeginn wurden jeweils 500000 V79-Zellen ausgesät und nach 24 h mit der Testsubstanz inkubiert bzw. mit UVC-Licht als Positivkontrolle bestrahlt. Nach 24 h wurden die Zellen gewaschen und zur Expression für die Dauer von 6 Tagen zweimal passagiert (1. und 2. Subkultur). Anschließend wurden 5 x 200.000 Zellen in ein Selektivmedium (DMEM mit 10 mg/l 6-Thioguanin) gegeben; die resultierenden Mutanten-Kolonien wurden nach einigen Tagen gewaschen, mit Ethanol fixiert, mit GIEMSA-Lösung gefärbt und ausgezählt. Jeweils zum Zeitpunkt der ersten Subkultur

und der Selektion wurden darüber hinaus drei Aliquote von je 300 Zellen in DMEM-Medium zur Bestimmung der Koloniebildungsfähigkeit bzw. der Lebensfähigkeit zum Zeitpunkt der Mutationsbestimmung inkubiert. Die Berechnung der Mutationsfrequenz erfolgte bezogen auf die Zahl lebensfähiger Zellen (GLATT, 1993).

### **Mikrokerntest in A549-Zellen**

Der Mikrokerntest (MK) beruht auf der quantitativen Erfassung der Zahl der bei der Mitose auftretenden Mikrokerne. Er kann im Gegensatz zum HPRT-Test auch mit A549-Zellen durchgeführt werden. Zur Analyse wurden je 50000 Zellen in „QuadriPERM“-Schalen auf Objektträgern ausgesät und nach 24 h mit den Testsubstanzen inkubiert. Nach 24 h wurden die Testsubstanzen abgewaschen. Nach weiteren 48 h wurden die Zellen mit Formaldehydlösung fixiert, die Kerne mit DAPI angefärbt und nach standardisierten Kriterien unter dem Mikroskop ausgezählt (KIRSCH-VOLDERS ET AL., 2003).

## Ergebnisse und Diskussion

### Charakterisierung der verwendeten Partikel

Die Größenverteilung der untersuchten Partikel entsprach in allen Fällen den Angaben der jeweiligen Lieferanten/Hersteller. Die reinen Metallpartikel hatten jeweils einen Durchmesser von ca. 1,5  $\mu\text{m}$ . Jedoch trat bei ihnen häufig eine starke Agglomeration der Partikel auf, und es bildeten sich große Aggregate (siehe Abbildung 28). Die  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Pt-Modellpartikel zeigten kein solches Verhalten, aber hier waren vereinzelte Partikel sehr viel größer als der mittlere Durchmesser von ca. 1  $\mu\text{m}$ .

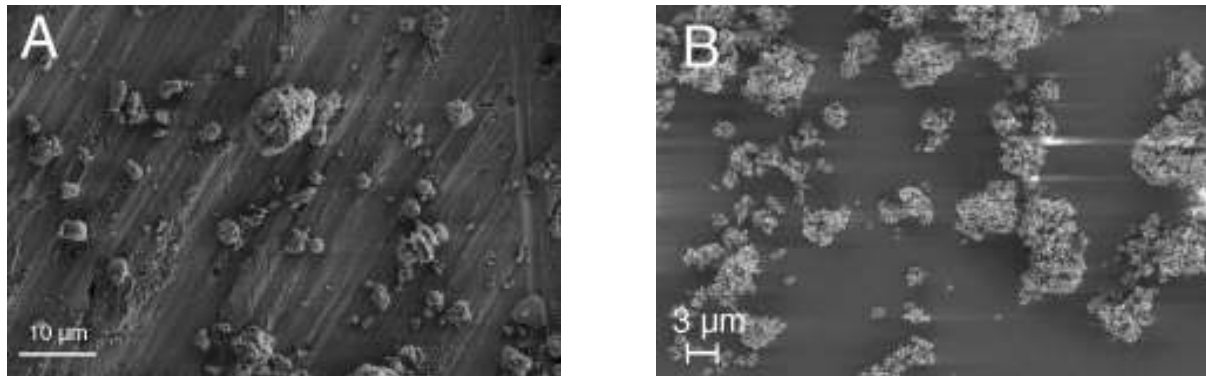


Abb. 28: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Pt-Partikel (A) sowie der Palladiumpartikel (B).

### Löslichkeitsversuche

Um eine Abschätzung zum Verhältnis partikulär / gelöst in die Zelle aufgenommener PGE-Spezies treffen zu können, wurden Versuche zur Löslichkeit der Partikel durchgeführt. Die Experimente wurden dabei analog einer Zellinkubation durchgeführt, am Ende wurde die PGE-Konzentration im Zentrifugationsüberstand des Kulturmediums gemessen. Dabei ergab sich nach 24 h Inkubation für die reinen Pd-Partikel eine Löslichkeit von  $0,09 \pm 0,009 \%$ , für reine Pt-Partikel  $0,04 \pm 0,005 \%$  und für die  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Pt-Partikel  $1,5 \pm 0,05 \%$ .

Das erheblich feiner verteilte Pt auf den  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Pt-Partikeln ist also, vermutlich wegen seiner größeren Oberfläche, erheblich besser löslich und damit vermutlich auch besser bioverfügbar.

## Partikelaufnahme ins Zellinnere

Eine quantitative Untersuchung der Partikelinternalisierung konnte mit den zur Verfügung stehenden Methoden nicht durchgeführt werden. Allerdings gelang der qualitative Nachweis einer Partikelaufnahme für alle verwendeten Partikelarten. Die reinen Metallpartikel konnten lichtmikroskopisch im Zellinneren detektiert werden, während die  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Pt-Partikel außerdem mittels Transmissionselektronenmikroskopie von fixierten Zellschnitten untersucht und dabei intrazellulär nachgewiesen wurden (Abb. 29).

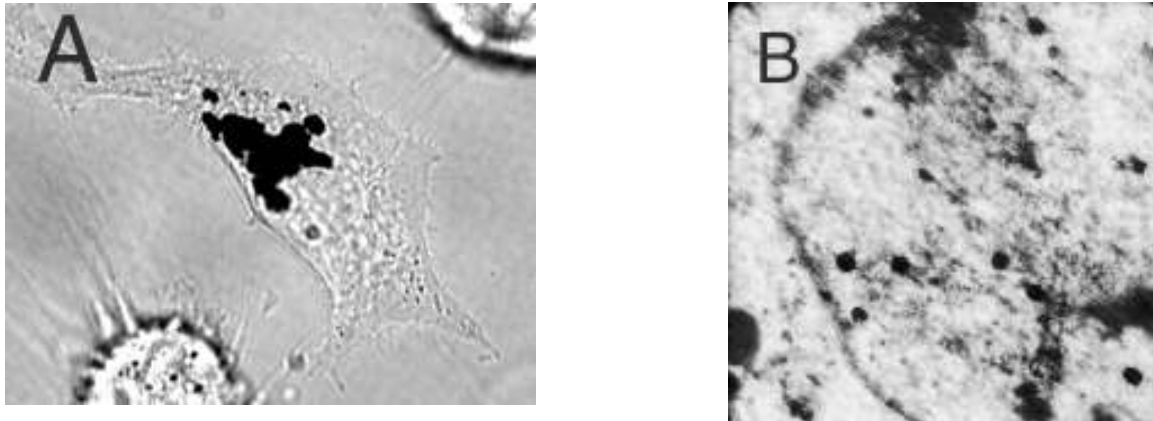


Abb. 29: Nachweis der Partikelinternalisierung. A = Lichtmikroskopische Aufnahme von Pd-Partikeln, B = Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme von  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Pt-Partikeln.

## Anreicherung in Kernnähe

Durch Abwandlung eines erprobten Verfahrens zur Isolierung von zellulären Proteinfractionen konnte der Platingehalt in verschiedenen Zellkompartimenten bestimmt werden.

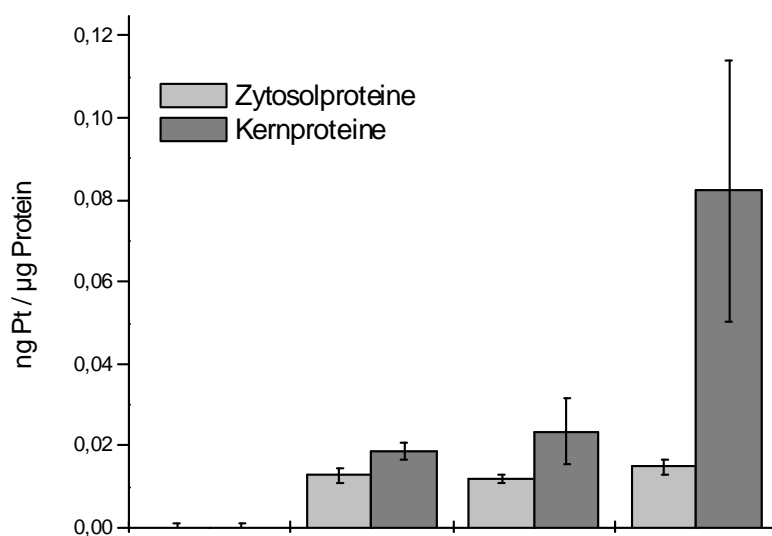


Abb. 30: Pt-Gehalt von zellulären Proteinfractionen nach Inkubation mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Pt-Partikeln



Dabei zeigte sich, wie aus Abb. 30 ersichtlich, nach Inkubation der Zellen mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Pt-Partikeln eine Anreicherung des Platins in der Zellkernfraktion.

## PGE-DNA-Adduktbildung

Sowohl mit den reinen Metallpartikeln als auch mit den  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Pt-Partikeln konnte nach Inkubation der Zellen eine konzentrationsabhängige Zunahme der Zahl gebildeter DNA-Addukte nachgewiesen werden (Abb. 31). Dieser Sachverhalt ist für sich genommen jedoch noch kein Beweis für eine tatsächliche Adduktbildung infolge der Partikel: es könnte auch ein Artefakt, zum Beispiel durch Verschleppung der Partikel durch Waschschrte hindurch, vorliegen. Deshalb wurden zusätzlich Versuche zur Zeitabhängigkeit der Adduktbildung durchgeführt. Wenn tatsächlich ein Artefakt vorliegen würde, müsste daraus eine zeitlich konstante Adduktzahl resultieren. Wie aus Abb. 32 ersichtlich, kommt es jedoch zu einer mit der Inkubationsdauer zunehmenden Adduktzahl. Die Bildung von PGE-DNA-Addukten ist also kein experimenteller Artefakt.

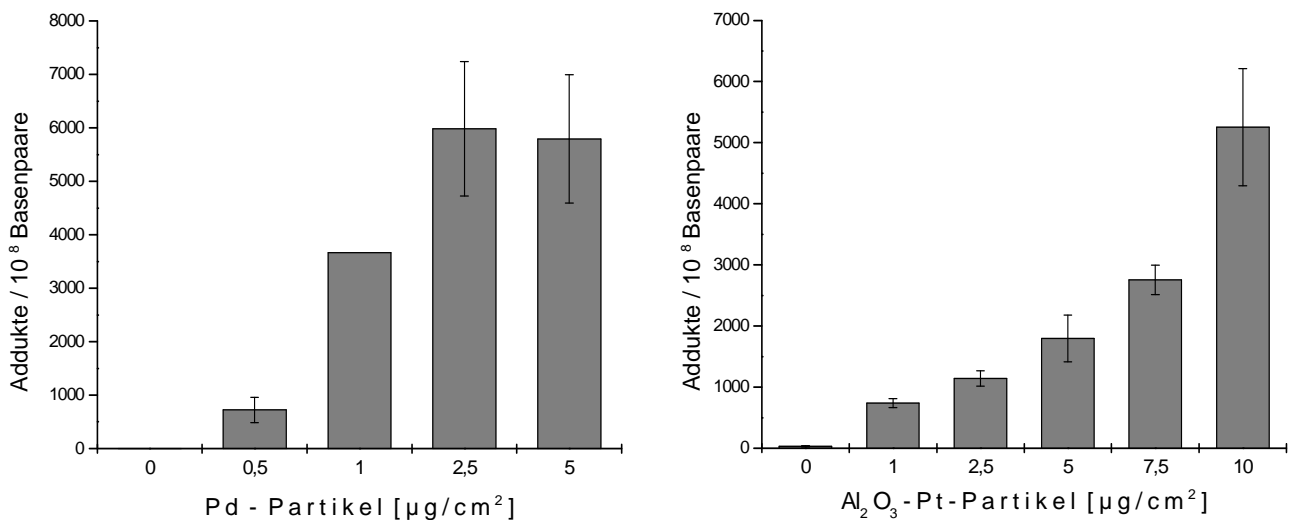


Abb. 31: Konzentrationsabhängige Bildung von DNA-Addukten nach Inkubation von A549-Zellen mit PGE-Partikeln. Angegeben sind jeweils Mittelwerte aus Dreifachbestimmungen  $\pm$  Standardabweichung.

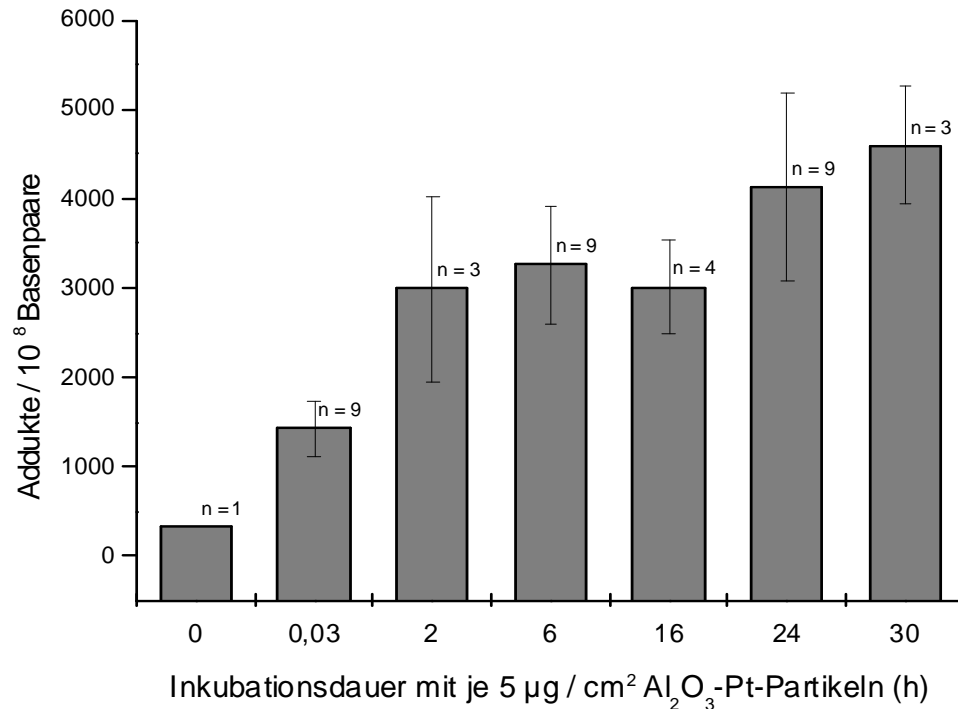


Abb. 32: Zeitabhängigkeit der DNA-Adduktbildung nach Inkubation von A549-Zellen mit je  $5 \mu\text{g Al}_2\text{O}_3\text{-Pt-Partikeln / cm}^2$  Wachstumsfläche. Dargestellt sind Mittelwerte aus  $n$  Bestimmungen  $\pm$  Standardabweichung.

Vergleiche zwischen reinen Pt-Partikeln und  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-Pt-Partikeln}$  ergaben darüber hinaus ähnlich hohe DNA-Adduktzahlen für gleiche Partikelmengen. Da die  $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-Pt-Partikel}$  jedoch nur zu 3 % (w/w) aus Pt bestehen, ergibt sich für das feiner verteilte Platin der Katalysator-Modellpartikel eine rund 30-fach höhere Bioverfügbarkeit.

### Gelöste versus partikuläre PGE-Spezies als Quelle für die Platin-DNA-Addukte

Die gebildeten DNA-Addukte können durch unterschiedliche Prozesse hervorgerufen werden. Zum einen können PGE-Spezies außerhalb der Zelle in Lösung gehen und anschließend aktiv oder passiv ins Zellinnere gelangen. Zum anderen können die partikulären PGE-Spezies internalisiert werden und innerhalb der Zelle in Lösung gehen. Um die relative Bedeutung beider Prozesse für die DNA-Adduktbildung abzuschätzen, wurden vergleichende Untersuchungen mit gelöstem  $\text{PtCl}_4$  durchgeführt. Eine 1 mM Lösung erzielt in etwa so viele DNA-Addukte wie  $10 \mu\text{g Al}_2\text{O}_3\text{-Pt-Partikel / cm}^2$ . Im Fall der Partikel enthält das Medium dann aber nur 136 nmol Pt/l, also rund 7400 Mal weniger. Die überwiegende Zahl der DNA-Addukte kann also auf die intrazelluläre Auflösung von aufgenommenen Partikeln zurückgeführt werden.

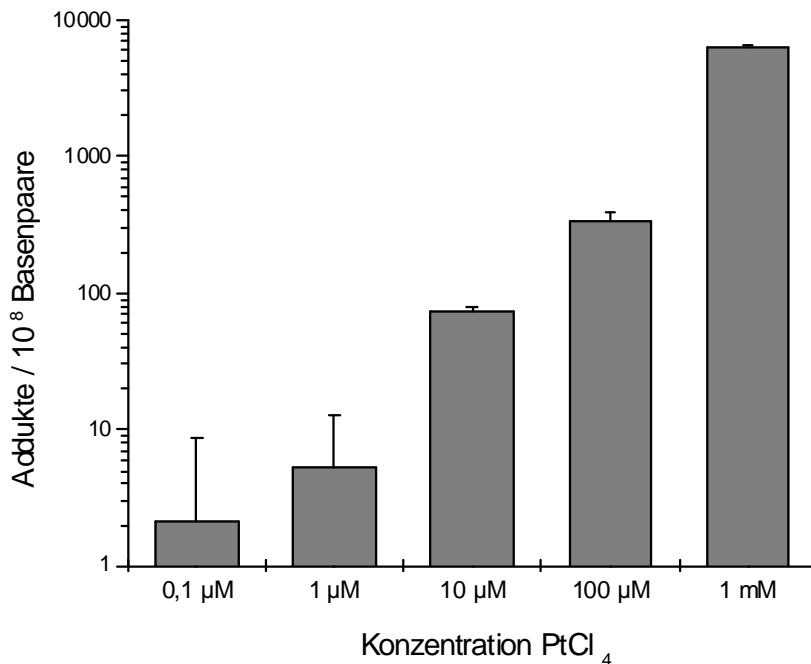


Abb. 33: Konzentrationsabhängigkeit der DNA-Adduktbildung nach Inkubation von A549-Zellen mit gelöstem PtCl<sub>4</sub>. Dargestellt sind Mittelwerte aus Dreifachbestimmungen ± Standardabweichung.

### Chemische Stabilität der DNA-Addukte

Die Art und Weise, in der die Addukte an die DNA gebunden sind, ist von entscheidender Bedeutung für ihre mögliche toxische Wirkung. Die durch das zytostatische Medikament Cisplatin hervorgerufenen Addukte sind beispielsweise extrem persistent, worauf auch die cytostatische Wirkung beruht. Eine mögliche Analogie bei durch Pt-Partikelexposition bedingten Addukten wurde durch Umsetzung der adduktierten DNA mit Zyanid untersucht. Dabei greifen die CN<sup>-</sup>-Ionen die Pt-Addukte nukleophil an und bilden anschließend extrem stabile lösliche Komplexe. Das abgelöste Pt und überschüssiges Zyanid wurden abgewaschen und zurückgebliebenes Platin wie in Material und Methoden beschrieben quantifiziert.

Die auf diese Weise erhaltenen Ergebnisse sind in Abb. 34 dargestellt und machen deutlich, dass zwischen den Cisplatin-induzierten Addukten und den Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Pt-Partikel-induzierten Addukten ein Stabilitätsunterschied besteht. So zeigen die beiden Kurven unterschiedliche Verläufe. Allerdings gibt es in beiden Fällen eine Fraktion von resistenten Addukten, die sich auch mit der höchsten eingesetzten Zyanidkonzentration (166 mM) nicht von der DNA ablösen ließen. Beim Cisplatin wird dieses Verhalten in der Literatur durch eine sterische Hinderung erklärt (FROMMER & LIPPERT, 1990) Möglicherweise kommt es bei einem Teil der Pt-Partikel-Addukte ebenfalls zu einer solchen sterischen Hemmung, was die Resistenz gegenüber einem großen Zyanidüberschuss erklären könnte.

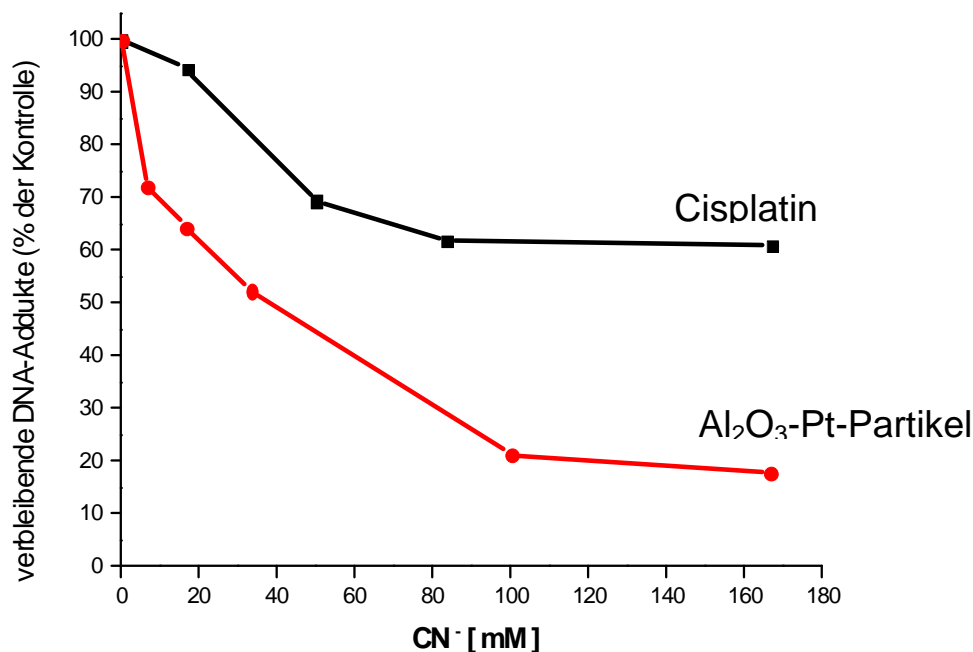


Abb. 34: Resistenz der Addukte aus Cisplatin- und Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Pt-Partikel-Exposition der Zellen gegenüber CN<sup>-</sup>. Adduktivierte DNA wurde aus Zellen isoliert, mit CN<sup>-</sup> behandelt und nach dem Abwaschen der Zyanid-Pt-Komplexe das verbleibende Pt mit ICP-MS bestimmt. Dargestellt sind die Ergebnisse je eines Versuchs; vergleichbare Effekte wurden in Wiederholungsversuchen beobachtet.

### Bindungsort der Addukte an der DNA

Aus den Forschungen zum Medikament Cisplatin ist bekannt, dass es insbesondere Addukte an den Basen Guanin und Adenin erzeugt. Eine entsprechende Spezifität der Partikel-induzierten Addukte für bestimmte Basen wurde mit Hilfe der präparativen HPLC untersucht. Leider erwies sich die Methode als nicht empfindlich genug um eine Spezifität für einzelne Basen nachzuweisen. (Daten nicht gezeigt).

### **Biologische Effekte der Partikelexposition auf die Zellen**

Im Rahmen des Projekts wurden Untersuchungen zur Zytotoxizität, Mutagenität und zur Mikrokerninduktion durchgeführt. Mit den Positivkontrollen 4-Nitrochinolin-N-oxid (NQO) und Cisplatin zeigte der Mikrokern-Test genotoxische Wirkungen; UVC-Strahlung diente im HPRT-Test als Positivkontrolle. Im Fall von Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Pt-Partikeln zeigten demgegenüber Inkubationen mit 10 bis 30 µg/cm<sup>2</sup> keine signifikanten Effekte in den durchgeführten Testsystemen. Hierbei ist jedoch nicht auszuschließen, dass das Fehlen von nachweisbaren Effekten der Partikel auf Limitierungen der Testsysteme gegenüber partikulären Verbindungen zurückzuführen ist. Während bei löslichen Verbindungen das Schadensprofil über die Zellpopulation normalverteilt ist, kommt es im Fall der Partikel zu einer sehr ungleich verteilten Aufnahme ins Zellinnere: einige Zellen nehmen Partikel auf, die meisten wiederum nicht. Dies lässt

auf eine ebenso ungleiche Verteilung von Schäden schließen, die mit den verwendeten Testsystemen nur sehr schlecht erfassbar sind.

### **Schlussfolgerungen und Ausblick**

Mit den im Rahmen des Projekts durchgeführten Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass PGE-haltige Partikel von kultivierten menschlichen Zellen aufgenommen werden und dass daraufhin eine intrazelluläre Mobilisierung der Metalle aus diesen Partikeln erfolgt. Dies führt zu einer Anreicherung von PGE in der Zellkernproteinfraktion. In der Folge kommt es zu einer konzentrations- und zeitabhängigen Bildung von PGE-DNA-Addukten, die teilweise sehr fest kovalent gebunden sind. Dabei zeigte ein Teil der gebildeten DNA-Addukte eine ähnliche chemische Stabilität wie die durch das Cytostatikum Cisplatin induzierten DNA-Addukte. Im Gegensatz zu Cisplatin konnten jedoch mit den verwendeten Testverfahren keine zytotoxischen, mutagenen oder Mikrokern-induzierenden Effekte der PGE-Partikel nachgewiesen werden. Hierbei kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass die fehlenden Effekte darauf zurückzuführen sind, dass nur wenige Zellen Partikel aufnehmen und somit von einer sehr heterogenen Schadensverteilung innerhalb der Zellpopulation auszugehen ist, die mit den eingesetzten Genotoxizitätstests nicht empfindlich genug nachgewiesen werden können. Zur näheren Charakterisierung der DNA-Addukte und deren Reparatur sind weitere Experimente notwendig. In Anbetracht der grundsätzlich höheren Bioverfügbarkeit von Palladium sowie seiner zunehmenden Verwendung bei der Katalysatorfertigung besteht darüber hinaus Handlungsbedarf bei dessen toxikologischer Bewertung; hier wäre insbesondere die Herstellung von geeigneten Modellsubstanzen analog den  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Pt-Partikeln sehr wünschenswert, um entsprechende Untersuchungen durchzuführen.

**LITERATUR**

- ARTELT, S., CREUTZENBERG, O., KOCK, H., LEVSEN, K., NACHTIGALL, D., HEINRICH, U., RÜHLE, T. AND SCHLEGEL, R. (1999) Bioavailability of fine dispersed platinum as emitted from automotive catalytic converters: a model study. *Sci. Total Environ.*, 228, 219 – 242.
- CUBELIC, M., PECCORONI, R., SCHÄFER, J., ECKHARDT, J.-D., BERNER, Z. AND STÜBEN, D. (1997) Verteilung verkehrsbedingter Edelmetallimmissionen im Straßenrandbereich. *Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung* 9 (5), 249 – 258.
- FICHTINGER-SCHEPMAN, A. M., H. C. VAN DIJK-KNIJNENBURG, ET AL. (1995). Effects of thiourea and ammonium bicarbonate on the formation and stability of bifunctional cisplatin-DNA adducts: consequences for the accurate quantification of adducts in (cellular) DNA. *J Inorg Biochem* 58(3): 177-91
- FROMMER, G. UND LIPPERT, B. (1990) Head-tail oriented nucleobases (B = guanine, cytosine) in platinum complexes cis-A<sub>2</sub>PtB<sub>2</sub> resisting cyanide substitution. Implications for the nature of strongly DNA-bound cisplatin, *Inorganic Chemistry*, 29 (17) 3259–60.
- GLATT, H. (1993) HPRT-Genmutationstest in V79-Zellen des chinesischen Hamsters. *Mutationsforschung und genetische Toxikologie*. R. Fahrig (Hrsg.) Wiss. Buchges., Darmstadt
- HARTMANN, M. AND A. HARTWIG (1998) Disturbance of DNA damage recognition after UV-irradiation by nickel(II) and cadmium(II) in mammalian cells. *Carcinogenesis* 19 (4), 617-621
- KIRSCH-VOLDERS, M., T. SOFUNI, ET AL. (2003) Report from the in vitro micronucleus assay working group. *Mutation Research* 540 (2), 153-163
- OLINSKI, R., BRIGGS R.C., ET AL. (1992) Effectiveness of chemical agents in removing platinum from DNA isolated from cisplatin-treated HL-60 cells. *Acta Biochimica Polonica* 39(4) 327-34.
- PARK, S. Y., H. C. CHOI, ET AL. (2001) Characterization of chromosomal aberrations in lung cancer cell lines by cross-species color banding. *Cancer Genet Cytogenet* 124(1) 62-70.
- RÜHLE, T., SCHNEIDER, H. ET AL. (1997) Preparation and characterisation of Pt/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> aerosol precursors as model Pt-emissions from catalytic converters, *Applied Catalysis B*, 14 69–84.
- SAMBROOK, FRITSCH, MANIATIS (1989) *Molecular cloning*, 2<sup>nd</sup> Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- WEI, C. AND MORRISON, G.M. (1994) Platinum analysis and speciation in urban gullypots. *Analytica Chimica Acta*, 284, 587 – 592.
- WOTTRICH, R. (2003) Zur toxikologischen Untersuchung ultrafeiner Partikel: Entwicklung und Einsatz eines realitätsnahen *in vitro* Lungenmodells, Dissertation, Forschungszentrum Karlsruhe.

## **DANKSAGUNG**

Für das Bereitstellen und die Durchführung der ESEM-Messungen wird dem Institut für Technische Chemie des Forschungszentrum Karlsruhes und dem Diplom-Mineralogen Matthias Schwotzer Dank ausgesprochen. Weiterhin gedankt sei den Mitarbeitern des Institutes für Kolbenmaschinen der Universität Karlsruhe für ihre Kooperation beim Auf- und Umbau des Motorversuchsstandes.

Weiterhin ist Dr. Melcher und Kollegen von der Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe in Hannover für die Durchführung der Messserien an der Mikrosonde zu danken.

Vielen Dank dem Fraunhofer Institut für Toxikologie und Experimentelle Medizin in Hannover für die freundlichen Überlassung der synthetischen  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Pt-Partikel, die in den toxikologischen Versuchen zum Einsatz kamen.

## **VERÖFFENTLICHUNGEN AUS DEM PROJEKT**

### **Zwischenberichte**

Stüben D., Eckhardt J.-D., Berner, Z., Dikikh, J., Fliegel, D., Zeller A. & Hartwig A. (2004): Spezies der Kfz-emittierten Platingruppenelemente (PGE) und ihre toxische Wirkung (Teil A).- Zwischenbericht anlässlich des Statusseminars des BWPLUS am 02.03. und 03.03.2004 im Forschungszentrum Karlsruhe.

<http://bwplus.fzk.de/berichte/ZBer/2004/ZBerbwb20011.pdf>

Hartwig A., Zeller A., Grasnack D., Eckhardt J.-D., Berner Z., & Stüben D. (2004): Spezies der Kfz-emittierten Platingruppenelemente (PGE) und ihre toxische Wirkung (Teil B).- Zwischenbericht anlässlich des Statusseminars des BWPLUS am 02.03. und 03.03.2004 im Forschungszentrum Karlsruhe.

<http://bwplus.fzk.de/berichte/ZBer/2004/ZBerbwb20012.pdf>

Stüben D., Eckhardt J.-D., Berner, Z., Dikikh, J., Fliegel, D., Menzel C.M, Zeller A. & Hartwig A. (2003): Spezies der Kfz-emittierten Platingruppenelemente (PGE) und ihre toxische Wirkung (Teil A).- Zwischenbericht anlässlich des Statusseminars des BWPLUS am 11.03. und 12.03.2003 im Forschungszentrum Karlsruhe.

<http://bwplus.fzk.de/berichte/ZBer/2003/ZBerbwb20011.pdf>

Hartwig A., Zeller A., Grasnack D., Eckhardt J.-D., Berner Z. & Stüben D. (2003): Spezies der Kfz-emittierten Platingruppenelemente (PGE) und ihre toxische Wirkung (Teil B).- Zwischenbericht anlässlich des Statusseminars des BWPLUS am 11.03. und 12.03.2003 im Forschungszentrum Karlsruhe

<http://www.bwplus.fzk.de/berichte/ZBer/2003/ZBerbwb20012.pdf>

Stüben D., Menzel C.M., Eckhardt J.-D., Zeller A., Hartwig A. (2002): Spezies der Kfz-emittierten Platingruppenelemente (PGE) und ihre toxische Wirkung (Teil A).- Zwischenbericht anlässlich des Statusseminars des BWPLUS am 26.2. und 27.2.2002 im Forschungszentrum Karlsruhe.

<http://bwplus.fzk.de/berichte/ZBer/2002/ZBerbwb20011.pdf>

A. Hartwig, A. Zeller, T. Schwerdtle, C. Menzel, D. Stüben (2002) Spezies der KFZ-emittierten Platingruppenelemente (PGE) und ihre toxische Wirkung (Teil B). Zwischenbericht anlässlich des Statusseminars des BWPLUS am 26.2. und 27.2.2002 im Forschungszentrum Karlsruhe.

<http://www.bwplus.fzk.de/berichte/ZBer/2002/ZBerbwb20012.pdf>

A. Hartwig, A. Zeller, T. Schwerdtle, C. Menzel, D. Stüben (2001) Spezies der KFZ-emittierten Platingruppenelemente (PGE) und ihre toxische Wirkung. Zwischenbericht anlässlich des Statusseminars des BWPLUS am 28.2. und 1.3.2001 im Forschungszentrum Karlsruhe.

<http://hikwww10.fzk.de/berichte/ZBer/2001/ZBerbwb20011.pdf>

### **Publikationen in internationalen Fachzeitschriften:**

FLIEGEL, D., BERNER, Z., ECKHARDT, J.-D., STÜBEN, D. (2004): New data on the mobility of Pt emitted from catalytic car exhausters.- Anal. Bioanal. Chem., 379:131-136.



BERNER, Z., MENZEL, C., ZELLER, A., ECKHARDT, J.-D., STÜBEN, D., HARTWIG, A.: Analytical procedure for the quantification of in vitro induced Pt- and Pd-DNA adducts in human lung cells.- in prep.

Neben diesen anliegenden bereits veröffentlichten bzw. eingereichten Artikeln sind weitere Publikation aus der Gruppe von Frau Prof. Hartwig in Vorbereitung.

### **Ergebnisse dieses Projekts sind zudem in folgende Publikationen in internationalen Fachzeitschriften eingeflossen:**

MENZEL C.M., BERNER Z. & STÜBEN D. (2001): Coupling Size-Exclusion Chromatography and ICP-MS to Investigate the Speciation of Platinum-Group Elements in Environmental Samples. Geostandards Newsletter, 25(2-3): 239-251.

MENZEL, C.M. BERNER Z. & STÜBEN D. (2001): Untersuchungen zu Löslichkeit und Speziation von Kfz-emittierten Platingruppenelementen. Terra Nostra 5: 43-45.

ZIMMERMANN, S., MENZEL, C.M., BERNER, Z., ECKHARDT, J.-D., STÜBEN, D., ALT, F., MESSERSCHMIDT, J., TARASCHEWSKI, H. & SURES, B. (2001): Trace analysis of platinum in biological samples: a comparison between high resolution ICP-MS and adsorptiv cathodic stripping voltammetry following different digestion procedures. - Anal. Chim. Acta, 439:203-209.

### **Vorträge auf nationalen und internationalen Fachtagungen:**

ECKHARDT J.-D. ET AL. (2002): Katalysator-emittierte PGE in der Umwelt – ein Status quo nach 10 Jahren Forschung in Karlsruhe.- 8. Edelmetallforum 7. - 8. Oktober 2002, Karlsruhe.

MENZEL, C.M., BERNER, Z. & STÜBEN, D. (2000): Developing a method for the determination of PGE-species in environmental samples.- Geoanalysis 2000, 30.08.- 01.09.2000, Lorraine (Frankreich).

ZELLER, A., BERNER, Z., STÜBEN, D. & HARTWIG, A. (2004): Genotoxic effects of particulate platinum-group elements (PGE) modeling emissions from automobile catalysts.- 2. Treffen des wissenschaftlichen Nachwuchses der Studiengruppe „Biochemische Pharmakologie und Toxikologie“ der GBM, 16. - 17. Juli 2004, Ulm.

ZELLER, A., GRASNICK, D., BERNER, Z., STÜBEN, D. & HARTWIG, A. (2003): DNA adducts after exposure of human lung cells to particulate platinum-group elements modelling emissions from automobile catalysts.- 9<sup>th</sup> International Inhalation Symposium (ITEM / U.S. EPA), 11. - 14. Juni 2003, Hannover.

ZELLER, A., MENZEL, C., BERNER, Z., STÜBEN, D. & HARTWIG, A. (2002): Untersuchungen zum gentoxischen Potential von inhalierbaren Platin- und Palladiumpartikeln in menschlichen Lungenzellen.- Edelmetall-Anwendertreffen, 7. - 8. Oktober 2002, Karlsruhe.

### **Posterbeiträge auf nationalen und internationalen Fachtagungen**

ZELLER, A., MENZEL, C., STÜBEN, D. & HARTWIG, A. (2001): DNA adducts induced by vehicle-emitted Platinum Group Elements (PGE).- Third International Meeting on molecular mechanisms of metal toxicity and carcinogenicity, 2. - 5. September 2001, Sardegna, Italy

ZELLER, A., MENZEL, C., STÜBEN, D. & HARTWIG, A. (2002): DNA adducts induced by vehicle-emitted inhalable particles containing Platinum Group Elements (PGE).- 32<sup>nd</sup> Annual Meeting of the EEMS, 3. - 7.9.2002, Warsaw, Poland

ZELLER, A., MENZEL, C., STÜBEN, D. & HARTWIG, A. (2002): DNA-Addukte durch Platingruppenelemente (PGE) aus Kraftfahrzeugkatalysatoren.- Deutscher Lebensmittelchemikertag 2002, 9. - 11.9.2002, Frankfurt.

ZELLER, A., MENZEL, C., WOTTRICH, R., STÜBEN, D. & HARTWIG, A. (2002): Platinum Group Elements (PGE) DNA-adducts induced by motorvehicle emitted inhalable particles.- 7. Tagung des DNA-Reparaturnetzwerks 2002, 17. - 20.9.2002, Karlsruhe

ZELLER, A., BERNER, Z., STÜBEN, D. & HARTWIG, A. (2004): Intracellular bioavailability of platinum group elements (PGE) from automobile catalyst model particles.- Gemeinsame Jahrestagung der Deutschen Mineralogischen Gesellschaft und der Deutschen Ton- und Tonmineralgruppe e.V. 2004, 19. - 22. 9. 2004, Karlsruhe.

### **Diplomarbeit und Dissertation**

FLIEGEL, DANIEL (2003): Gehalte, Mobilität und Bindungsform von Kfz-emittiertem Platin in Straßensedimenten mittels sequentieller Extraktion, ICP-MS und oberflächensensitiver Analytik im Vergleich zu typischen urbanen Schwermetallen.- Diplomarbeit.

ZELLER, ANDREAS (2004): Untersuchungen zum genotoxischen Potenzial von partikulären Platingruppen-elementen in kultivierten Lungenzellen . Karlsruhe, Univ., Fak. für Chemie und Biowissenschaften, Diss., 2004.

<http://www.ubka.uni-karlsruhe.de/cgi-bin/psview?document=2004/chem-bio/9>