



**BERGISCHE
UNIVERSITÄT
WUPPERTAL**

***Entwicklung und Validierung einer Methode zur Bestimmung von
höhermolekularen polyzyklischen aromatischen
Kohlenwasserstoffen (PAK) in der Luft am Arbeitsplatz***

Dissertation

Zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Naturwissenschaften

(doctor rerum naturalium, Dr. rer. nat.)

eingereicht in der Fakultät für Mathematik und Naturwissenschaften der
Bergischen Universität Wuppertal

von

Julia Linke

geboren am 07. November 1995 in Duisburg

Gutachter:

1. Prof. Dr. Hans-Willi Kling
2. Prof. Dr. Dietmar Breuer

Danksagung

Zunächst möchte ich mich herzlich bei Prof. Dr. Hans-Willi Kling von der Universität Wuppertal für die Unterstützung und Betreuung meines Promotionsvorhabens bedanken. Ihre Denkanstöße und Ideen waren stets hilfreich und ich empfand den netten, regelmäßigen Austausch als sehr wertvoll.

Großer Dank gebührt zudem Prof. Dr. Dietmar Breuer: dafür, dass er mir die Durchführung dieser Arbeit am Institut für Arbeitsschutz ermöglicht hat, vor allem aber auch für die Unterstützung in den letzten Jahren. Dank deines Engagements und Zuspruchs hat mich auch der eine oder andere Rückschlag nicht aufgeben lassen und dein Einsatz hat maßgeblich zum Erfolg dieses Projekts beigetragen. Außerdem bedanke ich mich für die Korrektur dieser Dissertation.

Zudem danke ich Prof. Dr. Peter Wiesen und Prof. Dr. Thorsten Benter für ihre Bereitschaft, die Position der Prüfer zu übernehmen.

Des Weiteren danke ich Prof. Dr. Dietmar Reinert, Katrin Pitzke sowie der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung e.V. dafür, dass mir die Möglichkeit gegeben wurde, mein Promotionsvorhaben am Institut für Arbeitsschutz umzusetzen.

Ebenfalls bedanke ich mich bei allen Kolleginnen und Kollegen der Abteilung 2 des Instituts für Arbeitsschutz, vor allem bei Franziska Nürnberger, Brigitte Maybaum, Krista Gusbeth und Ronja Schneck für die Unterstützung bei der Durchführung des Ringversuchs. Außerdem danke ich Dr. Daniel Köster für die unzähligen fachlichen Hilfestellungen und das „Co-Parenting“ der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Masterarbeit. Auch meinem „Ex-Kollegen“ Dr. Benedikt Thomas möchte ich an dieser Stelle dafür danken, dass wir den Großteil unserer Promotionszeit zusammen durchgestanden und einander dabei mit Zuspruch, Kritik und viel Humor unterstützt haben.

Ein großer Dank gebührt meiner Familie und meinen Freunden, die mich nicht nur stets ermutigt, sondern auch daran erinnern haben, was für eine große Leistung eine Promotion ist. Insbesondere meinem Partner, Thomas Wübben, möchte ich danken: für alles, vor allem aber für deinen Glauben an mich und dafür, dass du mein größter Fan bist.

Danke!

Zusammenfassung

Im Umwelt- und Arbeitsschutz ist die Analytik von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) aufgrund ihrer kanzerogenen und mutagenen Eigenschaften bereits seit Jahrzehnten etabliert. Dabei wird vorwiegend eine Auswahl von 16 Verbindungen untersucht, welche in den 1970er Jahren von der US-amerikanischen *Environmental Protection Agency* priorisiert wurden. Bei dieser Auswahl handelt es sich hauptsächlich um leicht- bis mittelflüchtige PAK, wohingegen von schwerflüchtigen PAK im Allgemeinen ein höheres kanzerogenes Potenzial ausgeht. Aus diesem Grund werden in der Routine- und Auftragsanalytik immer häufiger auch Verbindungen mit ≥ 6 Benzolringen berücksichtigt. Um eine valide quantitative Analytik solcher Substanzen umsetzen zu können, ist die Durchführung von Qualitätssicherungsmaßnahmen notwendig. Dazu zählt beispielsweise der Abgleich der Messergebnisse mit einem Referenzmaterial oder die Teilnahme an einem Ringversuch. Aktuell gibt es jedoch noch keine Referenzmaterialien für höhermolekulare PAK an Arbeitsplätzen.

In dieser Arbeit soll zunächst untersucht werden, welches der gängigen Analytensysteme für die Messung höhermolekularer PAK in Luftproben am besten geeignet ist. Dazu werden eine gas- und eine flüssigchromatographische Methode entwickelt. Beide Methoden werden validiert, um Parameter wie die Sensitivität vergleichen zu können. Dabei wird differenziert, ob die Leistung des jeweiligen Analytensystems bei leicht- und mittelflüchtigen PAK besser ist oder bei höhermolekularen Verbindungen. Insgesamt werden 35 Analyten betrachtet, deren Molekülmassen eine Bandbreite von 128 bis 302 g/mol abdecken.

Im zweiten Teil der Arbeit soll ein Referenzmaterial für eine Auswahl von höhermolekularen PAK zur Nutzung im Ringversuch entwickelt werden. Dazu muss ein Herstellungsprozess etabliert werden, der eine ausreichende Gleichmäßigkeit und Reproduzierbarkeit des Referenzmaterials gewährleistet. Die Überprüfung des Referenzmaterials erfolgt sowohl durch interne Messungen als auch durch die Kooperation mit externen Laboratorien. Im Rahmen der Etablierung des Herstellungsprozesses werden zudem Untersuchungen zur Maximierung der Wiederfindungsraten der PAK durchgeführt. Mit der final etablierten Herstellungsmethode kann eine Streuung des Referenzmaterials von $< 2\%$ mit Wiederfindungsraten nahe 100 % erreicht werden. Dies wird in einem ersten Ringversuch mit insgesamt 14 Teilnehmenden bestätigt. Die dabei ermittelten Varianzen sind vergleichbar zu anderen, bereits etablierten Ringversuchen und bestätigen somit die Eignung des Referenzmaterials zur Verwendung im Ringversuch.

Abstract

The analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) has been established in environmental monitoring and occupational safety for decades due to their carcinogenic and mutagenic properties. A selection of 16 compounds, prioritised by the US Environmental Protection Agency in the 1970s, is mainly examined. This selection comprises mainly volatile and semi-volatile PAHs, whereas non-volatile PAHs generally exhibit a higher carcinogenic potential. For this reason, compounds with ≥ 6 benzene rings are increasingly considered in routine analysis. In order to carry out a valid quantitative analysis of such compounds, the implementation of quality assurance measures is necessary, for example the comparison of measurement results with a reference material or the participation in a proficiency testing scheme. However, there are currently no reference materials for high-molecular weight PAHs in workplaces available.

The first aim of this work is to investigate, which of the most commonly used analytical systems is better suited for the measurement of high-molecular weight PAHs in air samples. For this purpose, a gas and a liquid chromatographic method are developed. Both methods are validated in order to compare parameters like the sensitivity. It is differentiated, whether the performance of each analytical system is better for (semi-)volatile PAHs or for non-volatile compounds. In total, 35 analytes are examined, whose molecular masses cover a range between 128 and 302 g/mol.

In the second part of this work, a reference material for a selection of high-molecular weight PAHs should be developed for use in a proficiency testing scheme. This requires the establishment of a production process that ensures a sufficient uniformity and reproducibility of the reference material. The examination of the reference material is performed via internal measurements as well as through cooperation with external laboratories. As part of the establishment of the production process, experiments are performed to maximise the recovery rates of the PAHs. With the final production process, a variance of the reference material below 2 % with recovery rates close to 100 % can be achieved. This is confirmed in a first proficiency testing scheme with 14 participants. The determined variances are comparable to other, already established proficiency testing schemes and thus confirm the suitability of the reference material for usage in a proficiency testing scheme.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	I
Zusammenfassung	II
Abstract	III
Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	VIII
Abkürzungsverzeichnis	X
1 Einleitung	1
1.1 Zielsetzung.....	3
2 Theoretischer Hintergrund	5
2.1 <i>Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe</i>	5
2.1.1 Grundlagen.....	5
2.1.2 Reaktionen in der Atmosphäre	6
2.1.3 Biochemische Metabolisierungsprozesse	8
2.1.4 Regularien und Grenzwerte	10
2.2 <i>Probenahme und -aufarbeitung</i>	13
2.2.1 Luftprobenahme von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen.....	13
2.2.2 Extraktion und Probenaufbereitung	16
2.3 <i>Analytik</i>	18
2.3.1 Hochleistungsflüssigchromatographie	18
2.3.2 Gaschromatographie.....	19
2.3.3 Massenspektrometrie	20
2.4 <i>Stand der Technik</i>	21
2.4.1 Stand der Chromatographie.....	21
2.4.2 Aktuelle Methode im MGU	23
2.4.3 Problematiken bei der Analytik.....	24
2.5 <i>Referenzmaterialien und Ringversuche</i>	25
2.5.1 Allgemeines zu Referenzmaterialien.....	25
2.5.2 Ringversuche am Institut für Arbeitsschutz	26
2.5.3 Konzeptionierung eines neuen Ringversuchs	27
2.5.4 Erfahrungen aus früheren Ringversuchen.....	29
2.5.5 Vorgehen beim neuen Ringversuch	30
2.5.5.1 Auswahl der Analyten.....	30
2.5.5.2 Etablierung und Qualitätssicherung des Herstellungsprozesses	32
3 Material und Methoden	33
3.1 <i>Chemikalien und Materialien</i>	33
3.2 <i>Analysegeräte</i>	33
3.3 <i>Methoden</i>	34
3.3.1 Analysemethoden	34
3.3.2 Kalibration und Validierung.....	39
3.3.3 Belegung der Filter	39

3.3.4	Probenaufarbeitung	41
4	Ergebnisse & Diskussion	43
4.1	<i>Teil 1: Methodenvergleich</i>	43
4.1.1	Methodenentwicklung – HPLC	43
4.1.2	Methodenvalidierung – HPLC.....	47
4.1.3	Methodenentwicklung – GC-MS	48
4.1.4	Methodenvalidierung – GC-MS.....	51
4.1.5	Vergleich der beiden Methoden	52
4.2	<i>Teil 2: Entwicklung des Ringversuchs.....</i>	58
4.2.1	Anpassung der analytischen Methoden.....	58
4.2.2	Optimierung des Belegungsprozesses.....	59
4.2.2.1	Piezoelektrischer Mikrodosierer	59
4.2.2.2	Nanoliter-Dispenser	62
4.2.2.3	Vorversuche mit dem elektronischen Mehrfachdispenser	64
4.2.3	Auswahl des Filtermaterials	65
4.2.4	Untersuchung der Anlagerungseffekte	69
4.2.5	Versuche zur Maximierung der Wiederfindungsrate.....	70
4.2.5.1	Einfluss der Belegungsbedingungen und des Trocknungsprozesses.....	71
4.2.5.2	Einfluss der Extraktionslösung.....	74
4.2.5.3	Einfluss der Extraktionsbedingungen	76
4.2.5.4	Einfluss des Spritzenvorsatzfilters	76
4.2.5.5	Ableitung der optimierten Methode.....	77
4.2.6	Testserien und Auswertung	78
4.2.6.1	Testserie 1	79
4.2.6.2	Testserie 2	81
4.2.6.3	Testserie 3	85
4.2.6.4	Zusammenfassung der Testserien.....	90
4.2.7	Ringversuch.....	91
4.2.7.1	Qualitätskontrolle der Filter	91
4.2.7.2	Stabilität der Filter.....	95
4.2.7.3	Ergebnisse der Teilnehmenden	97
4.2.7.4	Detaillierte Betrachtung der Labore.....	101
5	Zusammenfassung	105
6	Ausblick	109
7	Literatur.....	111
8	Anhang	119
	<i>Anhang 1: Übersicht über die verwendeten Chemikalien und Verbrauchsmaterial</i>	119
	<i>Anhang 2: Rohdaten der Validierung.....</i>	124
	<i>Anhang 3: Stabilitätsstudien der Filter</i>	128
	<i>Anhang 4: Ergebnisse der externen Labore in den Testserien</i>	133

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturformeln von Naphthalin, BaP und Benzocoronen als Beispiele für niedermolekulare bzw. höhermolekulare PAK mit Angabe des Dampfdrucks. ^[15]	5
Abbildung 2: Schematische Darstellung der möglichen Reaktionswege von PAK in der Gasphase und von partikelgebundenen PAK.	7
Abbildung 3: Schematische Darstellung der unterschiedlichen Metabolisierungswege von PAK.	8
Abbildung 4: Metabolisierung von BaP zum finalen Metaboliten BaP-7,8-diol-9,10-epoxid (BPDE) und das daraus resultierende DNA-Addukt.	9
Abbildung 5: Beispielhafte PAK-Probenahme mit SG-10-Pumpen und GSP10-Probenahmeköpfen. © Daniel Köster (IFA) und GSA Messgerätebau GmbH.	14
Abbildung 6: Sammelmedien für die Probenahme von PAK: ein XAD-2-Röhrchen für leichtflüchtige PAK (A) und ein PTFE-Filter für schwerflüchtige PAK (B). © Kristina Witzler (IFA)	15
Abbildung 7: Üblicher Aufbau einer HPLC-Anlage.	18
Abbildung 8: Aufbau eines GC-Systems.	19
Abbildung 9: Unterschied zwischen Core-Shell-Säulen (oben) und konventionellen Kieselgelsäulen (unten); adaptiert aus ^[106]	22
Abbildung 10: Die Prüfgasstrecke am IFA. ^[121]	27
Abbildung 11: Schematischer Ablauf zur Entwicklung eines neuen Ringversuchs.	28
Abbildung 12: Strukturformeln der für das Referenzmaterial ausgewählten PAK (RM-PAK).	31
Abbildung 13: Filterhalterungen für den Nanoliter-Dispenser (oben, gefrästes Aluminium) und für den Mikrodosierer (unten, beschichteter Edelstahl).	40
Abbildung 14: Belegung mittels Mehrfachdispenser-Pipette und Nahaufnahme der belegten Filter.	41
Abbildung 15: Beispielchromatogramm einer HPLC-Messung mit dem Gesamtchromatogramm (oben) und den wichtigsten FLD-Signalen (320, 405 und 430 nm) mit einigen markierten PAK.	45
Abbildung 16: Vergleich der Injektion von 5-Methylchrysen im pulsed splitless-Modus (türkis) bzw. im solvent vent-Modus (lila).	50
Abbildung 17: Beispielchromatogramm einer GC-MS-Messung aller ausgewählten PAK bei einer Konzentration von 360 ng/mL; die Skalierung zwischen den beiden Ausschnitten ist an den jeweils höchsten Peak angepasst.	51
Abbildung 18: Vergleich der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für die HPLC- und die GC-MS-Methode, zusammengefasst als Mittelwert über alle Analyten jeweils mit der gleichen Anzahl an Benzolringen.	53
Abbildung 19: Vergleich der Linearität der beiden Methoden für die Messbereiche 1-10 ng/mL und 10-100 ng/mL.	54
Abbildung 20: Chromatogramm einer Messung der RM-PAK mittels HPLC.	58
Abbildung 21: Chromatogramm einer GC-MS-Messung der RM-PAK mit 100 ng/mL.	59
Abbildung 22: Mikrodosierer in einer Einhausung; 1: Filterhalterung mit zwei Motoren für die Steuerung; 2: Dosierkopf, verbunden mit einem Vorratsgefäß; 3: Stroboskopdiode und Kamera. Bild aus ^[146]	60
Abbildung 23: Dosierung bei Zugabe von ca. 0,5 % (w/w) PEG zur Dosierlösung, Tropfenvolumen von 128 pL durch die Dosiersoftware ermittelt.	61
Abbildung 24: Semi-automatisiertes Dosiersystem der Fa. BioFluidix; Bild aus ^[151]	62
Abbildung 25: Belegung von 12 Filtern mit 100 ng pro PAK pro Filter (Sollwert) mittels Mehrfachdispenser-Pipette.	64
Abbildung 26: Belegung von 96 Filtern mittels Mehrfachdispenser-Pipette auf Quarzfaserfiltern.	65
Abbildung 27: Vergleich der Wiederfindungsraten der Quarzfaserfilter und zwei verschiedener PTFE-Filter.	67

Abbildung 28: Vergleich der Wiederfindungsraten bei Zugabe der Filter zu einer PAK-Lösung ohne Belegung.....	68
Abbildung 29: Vergleich der Wiederfindungsraten bei Dosierung auf einen PTFE-Filter, in ein Glasvial und in ein Plastikvial.....	69
Abbildung 30: Vergleich der Wiederfindungsrate beim Durchziehen von Luft durch den Filter für 40, 60 und 120 min im Vergleich zur Belegung mit statischer Lufttrocknung.	72
Abbildung 31: Vergleich der Wiederfindungen bei der Belegung mit dem Mischstandard und dem Einzelstandard von Dibenzo[a,l]pyren separat.	73
Abbildung 32: Struktur des Dibenzo[a,l]pyren-Moleküls; oben: Strukturformel mit Hervorhebung der Fjord- und Bay-Regionen und der Distanz zwischen den äußersten H-Atomen in nm; unten: seitliche Ansicht, Winkel zwischen dem A-Ring (ausgefüllte Linien) und dem F-Ring. Bilder modifiziert aus ^[157]	74
Abbildung 33: Wiederfindungsraten (WFR) der RM-PAK bei Nutzung unterschiedlicher Extraktionsmittel; Routinemethode entspricht der Extraktion mit Acetonitril/Methanol im Verhältnis 60/40 (v/v).....	75
Abbildung 34: Vergleich der Wiederfindungsraten der Ausgangsmethode und der optimierten Methode.....	78
Abbildung 35: Darstellung der Messergebnisse der externen Labore für Serie 1 und des Soll-Werts von 70 bzw. 20 ng; die schwarzen Punkte stellen die Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle dar.	81
Abbildung 36: Interne Qualitätskontrolle von Level 1 der zweiten Testserie.	82
Abbildung 37: Interne Qualitätskontrolle von Level 2 der zweiten Testserie.	82
Abbildung 38: Darstellung der Ergebnisse der externen Labore für Testserie 2 für Level 1 (oben) und Level 2 (unten); die schwarzen Linien stellen den Sollwert dar, die schwarzen Punkte die Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle.	84
Abbildung 39: Interne Qualitätskontrolle der Filter mit PE-Stützschiicht der dritten Testserie.	86
Abbildung 40: Interne Qualitätskontrolle der unlaminierten Filter der dritten Testserie.	86
Abbildung 41: Darstellung der Ergebnisse der Teilnehmer der dritten Testserie für die Filter mit Stützschiicht; schwarze Linie beim Soll-Wert von 50 ng, schwarze Punkte bei der internen Qualitätskontrolle.....	88
Abbildung 42: Darstellung der Ergebnisse der Teilnehmer der dritten Testserie für die unlaminierten Filter; schwarze Linie beim Soll-Wert von 50 ng, schwarze Punkte bei der internen Qualitätskontrolle.	88
Abbildung 43: Interne Qualitätskontrolle der Filter des Teststringversuchs mittels HPLC, Level 1 (unten) und Level 2 (oben).....	93
Abbildung 44: Interne Qualitätskontrolle der Filter des Teststringversuchs mittels GC-MS, Level 1 (unten) und Level 2 (oben).....	94
Abbildung 45: Vergleich des Konzentrationsverlaufs während der Stabilitätsstudie für 5-Methylchrysen und Coronen, jeweils bei unterschiedlichen Lagerbedingungen.	97
Abbildung 46: Darstellung der Ergebnisse der Teilnehmenden des ersten Ringversuchs für Level 1 (oben) und Level 2 (unten).....	99
Abbildung 47: Grafische Darstellung der Z-Scores der Teilnehmenden des Ringversuchs für Level 1 (oben) und Level 2 (unten); Z-Scores ≤ 3 sind gelb dargestellt, >3 rot.	101
Abbildung 48: Einzeldarstellung der Ergebnisse des Ringversuchs für BaP auf Level 1.	102
Abbildung 49: Einzeldarstellung der Ergebnisse des Ringversuchs für Indeno[1,2,3-cd]pyren auf Level 2.....	103

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht über die PAK der EPA- und EU-Listen und die Kategorisierungen nach GHS und IARC; die hervorgehobenen PAK werden in der REACH-Verordnung reglementiert.....	12
Tabelle 2: Parameter der HPLC-Methode, die im MGU für die Analyse der 16 EPA-PAK plus Benzo[e]pyren genutzt wird.....	24
Tabelle 3: Liste der für den Methodenvergleich ausgewählten PAK; fett markierte Substanzen sind in der EPA-Liste enthalten, unterstrichene in der EU-Liste.....	30
Tabelle 4: Übersicht über die an den Testreihen teilnehmenden Labore.....	32
Tabelle 5: Spezifikationen des HPLC-Geräts.....	33
Tabelle 6: Spezifikationen des GC-MS-Geräts.....	34
Tabelle 7: Parameter der HPLC-Methode zur Analyse aller ausgewählten PAK.....	35
Tabelle 8: Parameter der HPLC-Methode zur Analyse der PAK für das Referenzmaterial.....	36
Tabelle 9: Parameter der GC-MS-Methode zur Analyse aller PAK.....	36
Tabelle 10: Parameter der GC-MS-Methode zur Analyse der PAK für das Referenzmaterial.....	37
Tabelle 11: Übersicht über die verwendeten Quantifier- und Qualifier-Ionen sowie die internen Standards.....	38
Tabelle 12: Parameter der Ausgangsmethode für die GC-MS-Methodenentwicklung, übernommen von der Fa. Agilent.....	48
Tabelle 13: Übersicht über die am besten passende Regression und das entsprechende Bestimmtheitsmaß, jeweils für GC-MS und HPLC.....	56
Tabelle 14: Ergebnisse der Stabilitätsstudie und Wiederfindungsraten der PTFE-Filter.....	66
Tabelle 15: Übersicht über die unterschiedlichen PTFE-Filter, die auf ihre Eignung als Basis für das Referenzmaterial untersucht wurden.....	68
Tabelle 16: Vergleich der Wiederfindungsraten bei der Belegung mit Dibenzo[a,l]pyren als Einzelstandard in verschiedenen Lösemitteln mit Angabe der RSD.....	72
Tabelle 17: Übersicht über die untersuchten Spritzenvorsatzfilter und ihre Merkmale.....	77
Tabelle 18: Vergleich der Parameter der Ausgangsmethode mit denen der optimierten Methode... ..	78
Tabelle 19: Übersicht über die Teilnehmer der Testserien und ihre verwendeten Extraktions- und Analysenmethoden.....	79
Tabelle 20: Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle der in Testserie 1 hergestellten Filter.....	80
Tabelle 21: Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle der Filter für Serie 2.....	83
Tabelle 22: Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle der dritten Testserie.....	87
Tabelle 23: Zusammenfassung der Ergebnisse der externen Labore für Serie 3; bereinigte RSD bezieht sich auf Ausreißer.....	89
Tabelle 24: Entwicklung des Produktionsprozesses über die drei Testserien anhand der Streuung und den Wiederfindungsraten, die bei der internen Qualitätskontrolle ermittelt wurden.....	91
Tabelle 25: Konzentration der für den Ringversuch hergestellten Dosierlösung und den daraus resultierenden Sollwerten für die Filter der Levels 1 und 2.....	92
Tabelle 26: Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle der Filter des Testringversuchs mittels HPLC.....	93
Tabelle 27: Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle der Filter des Testringversuchs mittels GC-MS ca. vier Wochen nach der Belegung.....	95
Tabelle 28: Ausgewählte Messzeitpunkte der Stabilitätsstudie der unlaminierten Filter, Verluste in Relation zur Konzentration der Extraktionslösung am Tag der Belegung (Tag 0).....	96
Tabelle 29: Übersicht über die von den Teilnehmenden des Ringversuchs verwendeten Aufarbeitungs- und Analysenmethoden.....	98

Tabelle 30: Statistische Auswertung der ausreißerbereinigten Ergebnisse des ersten Ringversuchs.	100
Tabelle 31: Hersteller, Konzentration und Reinheit der GC-MS-Standards.	119
Tabelle 32: Hersteller, Konzentration und Reinheit der HPLC-Standards. Alle Standards liegen in Acetonitril vor.	120
Tabelle 33: Hersteller und Reinheit der verwendeten Lösungsmittel.	121
Tabelle 34: Übersicht über das verwendete Laborverbrauchsmaterial.	121
Tabelle 35: Siedepunkte der PAK, die im Ringversuch verwendet werden. ^[15]	123
Tabelle 36: Übersicht über die für die Analyse verwendeten Wellenlängen der einzelnen PAK und ihre Retentionszeiten.	124
Tabelle 37: Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (NWG und BG) der GC-MS- und HPLC-Methoden in ng/mL.	125
Tabelle 38: Linearität der GC-MS-Methode für die einzelnen untersuchten Messbereiche anhand des Bestimmtheitsmaßes R^2 .	126
Tabelle 39: Linearität der HPLC-Methode für die einzelnen untersuchten Messbereiche.	127
Tabelle 40: Ergebnisse der Stabilitätsstudie der Quarzfaserfilter mittels Pipette über vier Monate, gekühlte Lagerung in Lösung, Angabe der Verluste relativ zum Tag der Belegung (Tag 0); Angabe für Tag 0 als Konzentration der Extraktionslösung.	128
Tabelle 41: Ergebnisse der Stabilitätsstudie der Quarzfaserfilter mittels Pipette über vier Monate, gekühlte Lagerung der reinen Filter, Angabe der Verluste relativ zum Tag der Belegung (Tag 0); Angabe für Tag 0 als Konzentration der Extraktionslösung.	129
Tabelle 42: Ergebnisse der Stabilitätsstudie der PTFE-Filter mit Stützschiicht mittels Pipette über vier Monate, gekühlte Lagerung, Angabe der Verluste relativ zum Tag der Belegung (Tag 0); Angabe für Tag 0 als Konzentration der Extraktionslösung.	130
Tabelle 43: Ergebnisse der Stabilitätsstudie der unlaminierten PTFE-Filter mittels Pipette über drei Monate, ungekühlte Lagerung, Angabe der Verluste relativ zum Tag der Belegung (Tag 0); Angabe für Tag 0 als Konzentration der Extraktionslösung.	131
Tabelle 44: Ergebnisse der Stabilitätsstudie der unlaminierten PTFE-Filter mittels Pipette über drei Monate, gekühlte Lagerung, Angabe der Verluste relativ zum Tag der Belegung (Tag 0); Angabe für Tag 0 als Konzentration der Extraktionslösung.	132
Tabelle 45: Ergebnisse der ersten Testserie in μg pro Filter, Mittelwert aus der Doppelbestimmung der drei Filter pro Labor; CcdP: Cyclopenta[c,d]pyren.	133
Tabelle 46: Ergebnisse für Level 1 der zweiten Testserie in μg pro Filter, Mittelwert aus der Doppelbestimmung der drei Filter pro Labor.	134
Tabelle 47: Ergebnisse für Level 2 der zweiten Testserie in μg pro Filter, Mittelwert aus der Doppelbestimmung der drei Filter pro Labor.	135
Tabelle 48: Ergebnisse für den Filter mit Stützschiicht der dritten Testserie in μg pro Filter, Mittelwert aus der Doppelbestimmung der drei Filter pro Labor.	136
Tabelle 49: Ergebnisse für den unlaminierten Filter der dritten Testserie in μg pro Filter, Mittelwert aus der Doppelbestimmung der drei Filter pro Labor.	137
Tabelle 50: Ergebnisse der Teilnehmenden des Ringversuchs für Level 1 in μg pro Filter, Mittelwert über alle drei Filter, Ausreißer sind farblich hervorgehoben.	138
Tabelle 51: Ergebnisse der Teilnehmenden des Ringversuchs für Level 2 in μg pro Filter, Mittelwert über alle drei Filter, Ausreißer sind farblich hervorgehoben.	138

Abkürzungsverzeichnis

APCI	Chemische Ionisation bei Atmosphärendruck (<i>atmospheric pressure chemical ionisation</i>)
APLI	Atmosphärendruck-Laserionisation
APPI	Atmosphärendruck-Photoionisation
BaP	Benzo[a]pyren
BPDE	Benzo[a]pyren-7,8-diol-9,10-epoxid
CI	Chemische Ionisation
CRM	Zertifiziertes Referenzmaterial (<i>certified reference material</i>)
CYP	Cytochrom P450
DAD	Diodenarray-Detektor
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
DGUV	Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung e.V.
EI	Elektronenstoßionisation
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>
ESI	Elektrosprayionisation
FID	Flammenionisationsdetektor
FLD	Fluoreszenzdetektor
GC	Gaschromatographie
GHS	Global Harmonisiertes System
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie (<i>high performance liquid chromatography</i>)
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
IFA	Institut für Arbeitsschutz
LLE	Flüssig-flüssig-Extraktion (<i>liquid-liquid extraction</i>)
MGU	Messsystem Gefährdungsermittlung der Unfallversicherungsträger
MS	Massenspektrometer
PAK	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoff
PEG	Polyethylenglycol
PM	Partikuläre Masse
PTFE	Polytetrafluorethylen
PTV	Temperierter Einspritzblock (<i>programmable temperature vaporizer</i>)
PUF	Polyurethan-Schaum (<i>polyurethane foam</i>)
QQQ	Triple-Quadrupol
QuEChERS	<i>Quick, easy, cheap, effective, rugged, safe</i>

RSD	Relative Standardabweichung
SCF	Wissenschaftlicher Lebensmittelausschuss (<i>Scientific Committee on Food</i>)
SIM	<i>Selected ion monitoring</i>
TEF	<i>Toxic equivalency factor</i>
TRGS	Technische Regel für Gefahrstoffe
VOC	Leichtflüchtige organische Substanzen (<i>volatile organic compounds</i>)

1 Einleitung

Die Stoffgruppe der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAK) ist wegen ihrer kanzerogenen und mutagenen Eigenschaften bekannt und deshalb seit Jahrzehnten im Kontext des Umwelt- und Arbeitsschutzes relevant.^[1] PAK werden bei unvollständigen Verbrennungsprozessen gebildet und entstehen ubiquitär aus natürlichen Quellen wie beispielsweise Waldbränden. In der Umwelt sind vor allem anthropogene Quellen wie Autoabgase oder Emissionen von Kohleheizungen maßgeblich. Im direkten Wohnumfeld bilden Tabakrauch, Abbrand von Kerzen oder auch gegrillte oder geräucherte Lebensmittel mögliche Expositionsquellen.^[2-3]

Auch einige Arbeitsplätze sind bei der Frage nach der PAK-Exposition der Mitarbeitenden relevant. Die Berufsgenossenschaften der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung e.V. (DGUV) stellen regelmäßig einen Report über Arbeitsplätze mit PAK-Belastung und das Auftreten von Berufskrankheiten an ebendiesen zusammen.^[4] Dabei wird Benzo[a]pyren (BaP) als Leitsubstanz für die Stoffgruppe der PAK verwendet. Zu den betroffenen Arbeitsplätzen zählen beispielsweise Kokereien, Steinkohleteer verarbeitende Betriebe oder Feuerwehrleute bei Einsätzen.^[5] So wurden im Zeitraum von 2017 bis 2021 insgesamt 191 Fälle von Harnblasen-, Lungen- oder Kehlkopfkrebs durch berufliche PAK-Exposition anerkannt.^[4] Im gleichen Zeitraum wurden insgesamt 65 Todesfälle infolge einer PAK-bedingten Berufskrankheit ermittelt.^[6]

In den 1970er Jahren wurden von der US-amerikanischen *Environmental Protection Agency* (EPA) 16 zu priorisierende PAK ausgewählt (die „EPA-PAK“), die bis heute sowohl im Arbeitsschutz als auch im Umweltmonitoring als Grundlage für die Beurteilung der PAK-Exposition herangezogen werden. Die Auswahl der Verbindungen erfolgte basierend auf der Häufigkeit ihres Auftretens und ihrer Kanzerogenität, aber war durch die Verfügbarkeit von Standards eingeschränkt.^[7] Die EPA-Liste soll die Vielzahl an möglichen Verbindungen aus der Gruppe der polyzyklischen aromatischen Verbindungen repräsentieren und besteht aus PAK mit zwei bis fünf Ringen; Verbindungen mit mehr Ringen, alkylierte PAK und Heterozyklen finden jedoch keine Berücksichtigung. Insbesondere seit der Veröffentlichung der Sonderausgabe des *Polycyclic Aromatic Compounds*-Journals^[8] zu der Frage, ob die Liste der EPA-PAK veraltet sei, steht eine Erweiterung der Liste zu priorisierender PAK im Raum. Andersson und Achten haben in ihrem Appell zur Erweiterung des PAK-Portfolios in Umweltanalysen eine Liste mit 40 möglichen PAK zusammengestellt, mit deutlich stärkerem Fokus auf höhermolekulare PAK mit sechs und sieben Ringen sowie alkylierte Verbindungen.^[9] Sowohl höhermolekulare als auch alkylierte PAK weisen im Allgemeinen ein höheres kanzerogenes Potenzial auf als die nieder- bis mittelmolekularen Ausgangsverbindungen und sind bei der toxikologischen Beurteilung von beispielsweise Luftproben an Arbeitsplätzen relevant.^[10] In der Literatur vertreten daher viele

Forschende die These, dass eine Erweiterung der EPA-Liste erforderlich sei.^[11-15] Die Vielzahl an möglichen Verbindungen erschwert jedoch einen Konsens darüber, welche PAK künftig standardmäßig untersucht werden sollen.

Sollte sich eine Erweiterung der EPA-PAK durchsetzen, ist eine entsprechende Anpassung bestehender analytischer Methoden notwendig. Vor allem flüssigchromatographische (*high performance liquid chromatography*, HPLC) Methoden mit Fluoreszenzdetektion (FLD) und Methoden mittels Gaschromatographie (GC) in Kopplung mit Massenspektrometrie (MS) finden bisher Anwendung, wobei Letztere aufgrund der meist besseren Sensitivität bevorzugt werden. Jedoch stellt sich die Frage, ob GC-MS-Methoden auch bei anderen PAK als den EPA-PAK eine bessere Leistung zeigen. Insbesondere schwerflüchtige PAK mit mindestens sechs Benzolringen, die aufgrund ihres hohen kanzerogenen Potenzials berücksichtigt werden sollten, können wegen ihres hohen Siedepunkts nur schwer im GC verdampft werden. Die Frage, welches analytische System bei einer Erweiterung der priorisierten PAK bevorzugt verwendet werden sollte, soll in dieser Arbeit beantwortet werden. Dazu werden entsprechende analytische Methoden entwickelt und für eine erweiterte Palette an PAK validiert, um sie anschließend miteinander zu vergleichen. Dabei werden auch leichtflüchtige Analyten wie einfach und mehrfach alkylierte Verbindungen untersucht. Der Fokus dieser Arbeit liegt aufgrund des kanzerogenen Potenzials aber auf den schwerflüchtigen PAK.

Um auch anderen Laboren die qualitätsgesicherte Analyse schwerflüchtiger krebserzeugender PAK zu ermöglichen, wird im zweiten Teil dieses Projekts ein Referenzmaterial zur Nutzung für Ringversuche hergestellt. Die Auswahl der Analyten fokussiert sich neben BaP als Leitsubstanz und zwei weiteren höhermolekularen EPA-PAK auf Verbindungen, die bisher nicht Teil der EPA-PAK sind. Dadurch wird eine vollumfänglichere Beurteilung des kanzerogenen Potenzials durch die PAK-Belastung in der Luft ermöglicht, beispielsweise bei der Messung von Gefahrstoffen an Arbeitsplätzen. Die Qualitätssicherung der PAK-Analytik mithilfe eines solchen Referenzmaterials ist aus Sicht des Arbeitsschutzes von besonderer Wichtigkeit, da auf Basis von Gefahrstoffmessungen über die Anerkennung von Berufskrankheiten entschieden wird.

Für PAK mit sehr niedrigen Dampfdrücken (z. B. $3,37 \times 10^{-5}$ Pa für 5-Methylchrysen)^[16] kann ein Herstellungsprozess für ein Referenzmaterial mit Filterbelegung erarbeitet werden. Bei niedermolekularen PAK wie beispielsweise Acenaphthylen oder Acenaphthen (Dampfdrücke von 0,890 bzw. 0,287 Pa)^[16] wären Verluste durch Verdampfung vom Filter nicht auszuschließen. Durch verschiedene Anpassungsschritte wird der Herstellungsprozess für das Referenzmaterial etabliert und inkrementell verbessert. Die Reproduzierbarkeit und die Richtigkeit des PAK-Gehalts werden sowohl durch interne als auch externe Untersuchungen in verschiedenen Testserien ermittelt. Den Abschluss bildet ein erster Ringversuch, der analog zu den am Institut für Arbeitsschutz (IFA) etablierten Ringversuchen ohne eigene Probenahme durchgeführt wird.

1.1 Zielsetzung

Diese Arbeit hat zwei übergeordnete Ziele:

Zunächst sollen eine gaschromatographische sowie eine flüssigchromatographische Methode basierend auf bereits etablierten Methoden entwickelt und validiert werden. Die beiden neuen Methoden sollen in Bezug auf die Analyse der EPA-PAK und der erweiterten Auswahl an PAK miteinander verglichen werden. Im Zuge dessen soll überprüft werden, welche der beiden Techniken bevorzugt anzuwenden ist, insbesondere im Hinblick auf die Inklusion der zusätzlichen alkylierten und schwerflüchtigen PAK.

Hinsichtlich der eingesetzten Analysenmethoden kommt der Aufarbeitung von Filterproben eine besondere Bedeutung zu. In dieser Arbeit soll evaluiert werden, welche Schritte der Probenaufarbeitung einen Einfluss auf die Extraktionseffizienz haben und ob die Wiederfindungsraten durch die Variation des Extraktionsmittels erhöht werden können. Damit können unterschiedliche Ergebnisse zwischen Messungen mittels GC bzw. HPLC erklärt und eine bessere Vergleichbarkeit zwischen den Analysensystemen erreicht werden.

Im zweiten Teil dieser Arbeit sollen Proben hergestellt und validiert werden, die insbesondere bei Vergleichsuntersuchungen wie Ringversuchen bzw. als Referenzmaterial für arbeitsplatztypische Proben eingesetzt werden können. Als Bezugsgröße dient dabei die Akzeptanzkonzentration der Leitkomponente BaP (vgl. Kapitel 2.1.4). Dazu wird das Basismaterial in Form von Filtern so reproduzierbar wie möglich mit einer Dosierlösung belegt. Nach umfangreichen internen Untersuchungen zur Qualitätssicherung erfolgt die weitere Validierung der belegten Filter durch eine Kooperation mit unabhängigen internationalen und nationalen Laboratorien. Abschließend sollen mit der entwickelten, validierten Vorgehensweise Ringversuchsproben hergestellt und in das reguläre Ringversuchsprogramm des IFA aufgenommen werden.

2 Theoretischer Hintergrund

2.1 Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe

2.1.1 Grundlagen

Zur Stoffklasse der PAK zählen alle Moleküle, die aus mindestens zwei kondensierten aromatischen Ringen bestehen. Es sind mehrere Hundert PAK bekannt, da durch Substituierung und unterschiedliche Orientierung der Ringe viele verschiedene Verbindungen möglich sind.^[17] PAK sind in der Regel stabil und reaktionsträge. Im Allgemeinen gelten PAK als neutral und unpolar; die Löslichkeit in Wasser und organischen Lösemitteln nimmt mit zunehmender Anzahl an Ringen ab. Man differenziert zwischen niedermolekularen (zwei bis vier Ringe) und höhermolekularen (ab fünf Ringen) PAK. Als Beispiele für die beiden Arten von PAK sind in **Abbildung 1** Naphthalin und Benzocoronon sowie BaP als Leitsubstanz gezeigt. Aufgrund des höheren Dampfdrucks (vgl. Kapitel 1) treten niedermolekulare PAK bei Raumtemperatur als Gemisch aus Dampf und Partikel auf, während höhermolekulare PAK partikulär vorkommen.^[18] Sie binden beispielsweise an Staub- oder Rußpartikel und können so, aufgrund ihrer hohen Stabilität, über weite Strecken transportiert werden.^[2] Viele PAK fluoreszieren bei entsprechender Lichteinstrahlung und lassen sich so nachweisen.

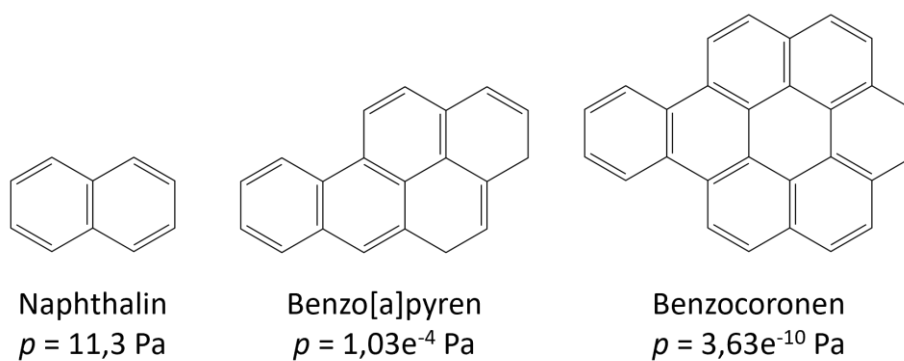


Abbildung 1: Strukturformeln von Naphthalin, BaP und Benzocoronon als Beispiele für niedermolekulare bzw. höhermolekulare PAK mit Angabe des Dampfdrucks.^[16]

PAK bilden sich bei unvollständigen Verbrennungsprozessen von organischem Material.^[19] Dabei wird zwischen natürlichem und anthropogenem Ursprung unterschieden. Zu den natürlichen Quellen zählen beispielsweise Waldbrände oder Vulkane. Der Großteil der PAK entsteht jedoch durch anthropogene Prozesse. So sind Emissionen aus Verbrennungsmotoren im Straßen- und Schiffsverkehr die größte Quelle für PAK in städtischen Regionen.^[20] Zu weiteren Emissionsquellen für PAK in Außenluft zählen Industrieanlagen, Kraftwerke und Müllverbrennungsanlagen.^[21] Insbesondere in Entwicklungsländern und im osteuropäischen Raum sind auch Emissionen durch Holz- und Kerosinöfen zum Kochen und Heizen relevant.^[22] In Innenräumen wird vor allem die Konzentration von PAK mit

mindestens vier Ringen maßgeblich von der PAK-Konzentration in der Außenluft beeinflusst.^[23] In Raucherhaushalten hingegen bildet Zigarettenrauch die größte PAK-Quelle.^[24] Zu Arbeitsplätzen mit PAK-Exposition zählen vor allem Kokereien, Steinkohleleer und Kreosot (Teeröl) verarbeitende Betriebe und die Metallurgie.^[5] Als Beispiel für Arbeitsplätze mit Sekundärexposition sind Sanierungsarbeiten von Bahnschienen unter Hitze zu nennen, da PAK-haltiger Teer und Kreosot zur Imprägnierung von Eisenbahnschienen und Strommasten genutzt wurden (und teilweise noch immer genutzt wird^[25]). Als nicht-industrieller Arbeitsplatz mit möglicher PAK-Exposition ist vor allem die Feuerwehr zu nennen. In diversen Studien wurde sowohl die inhalative als auch die dermale Exposition von Feuerwehrleuten bei Löscheinsätzen untersucht.^[26-29]

Einer der wichtigsten Expositionswege für die allgemeine Bevölkerung ist die Aufnahme von kontaminierten Lebensmitteln wie geräucherten oder gegrillten Speisen, Fisch und Meeresfrüchten sowie Kakao und Schokolade.^[30] Zu möglicherweise kontaminierten Lebensmitteln zählen auch Getreide, Obst und Gemüse, da diese durch Ablagerungen in der Erde und im Grundwasser in Kontakt mit PAK treten können.^[31] Die orale Aufnahme über Lebensmittel macht im Allgemeinen einen höheren Anteil an der PAK-Exposition aus als die Inhalation.^[21] Zu den untergeordneten PAK-Quellen zählen Gummiprodukte wie Badesandalen oder Werkzeuggriffen durch dermale Exposition.^[32]

Da PAK immer als Mischung auftreten, lässt sich teilweise anhand der Konzentrationsverhältnisse einzelner Substanzen (zum Beispiel das Verhältnis zwischen den Konzentrationen von BaP und BaP+Chrysen) der Ursprung der Kontamination bestimmen. Vor allem Differenzierungen zwischen pyrogenen und petrogenen Quellen oder zwischen Abgasen eines Benzin- und eines Dieselfahrzeugs sind so möglich.^[33] Anhand des Grades der Alkylierung kann zudem auf die Temperatur geschlossen werden, bei der PAK entstanden sind (je höher die Temperatur, desto weniger alkylierte PAK treten auf).^[2]

Die höhermolekularen PAK weisen im Vergleich zu den niedermolekularen PAK ein höheres kanzerogenes Potenzial auf, welches häufig in Relation zur Karzinogenität von BaP als Leitsubstanz angegeben wird (*toxic equivalency factor*, TEF). Der TEF von BaP beträgt immer 1, ein TEF von 10 würde also beispielsweise einen PAK mit der zehnfachen Karzinogenität von BaP bedeuten.^[34] Die metabolischen Prozesse, auf die die kanzerogene Wirkung von PAK zurückzuführen ist, sind in Kapitel 2.1.3 genauer beschrieben.

2.1.2 Reaktionen in der Atmosphäre

PAK reagieren in der Atmosphäre hauptsächlich mit OH- und NO₃-Radikalen. Dies betrifft vor allem die eher leichtflüchtigen PAK, die hauptsächlich in der Gasphase vorliegen.^[35] Bei der Reaktion mit OH-

oder NO_3 -Radikalen bildet sich bei Gasphasenreaktionen zunächst ein Addukt aus dem PAK und dem Radikal. OH-Radikale sind dabei vor allem tagsüber relevant, da sie unter anderem durch die Photolyse von Ozon entstehen.^[36] Genau gegenteilig steigt die Konzentration von NO_3 -Radikalen in der Nacht, da diese Radikale anfällig für Photolyse sind.^[37] Das PAK-Radikal-Addukt kann entweder mit NO_2 zu einer Nitro-PAK-Verbindung reagieren oder mit O_2 zu einem Peroxy-Radikal. Dieses Zwischenprodukt kann dann unter Beibehalt der Ringstruktur zu Produkten wie Epoxiden oder Chinonen reagieren oder zu einer Vielzahl an Produkten mit geöffneter Ringstruktur. Die Bildung von PAK-OH-Addukten erfolgt deutlich schneller, aber PAK- NO_3 -Addukte sind relevanter für die Bildung von Nitro-PAK in der Atmosphäre.^[35] Auch Reaktionen zwischen PAK und Ozon sind möglich, in der Praxis sind die Geschwindigkeitskonstanten dieser Reaktionen jedoch so gering, dass sie keine Relevanz für den Abbau von PAK haben.^[38] Ozon ist dennoch wichtig für die Bildung der reaktiven OH- und NO_3 -Radikale. Die möglichen Reaktionen von PAK in der Gasphase sind zusammen mit den Reaktionswegen für partikelgebundene PAK schematisch in **Abbildung 2** dargestellt.

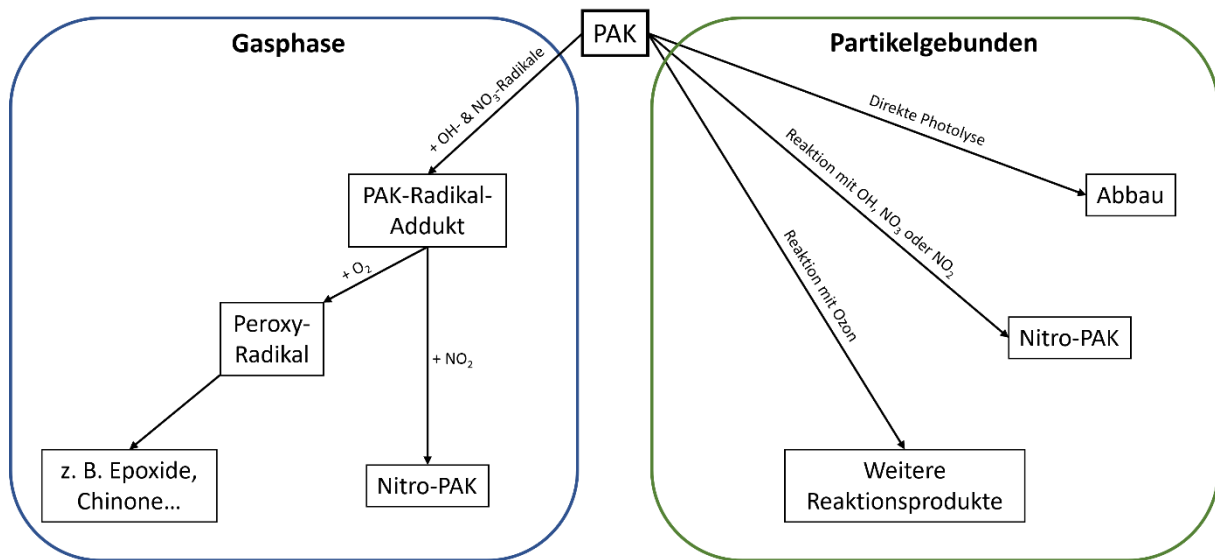


Abbildung 2: Schematische Darstellung der möglichen Reaktionswege von PAK in der Gasphase und von partikelgebundenen PAK.

Für den Abbau partikelgebundener PAK ist vor allem direkte Photolyse von Bedeutung. Die Abbaurate hängt dabei von diversen Faktoren wie der Lichtintensität, der Temperatur und der Art der Partikeloberfläche ab.^[39] Auch partikelgebundene PAK reagieren mit OH- und NO_3 -Radikalen, die Reaktionsmechanismen sind jedoch deutlich weniger erforscht. Zu den Reaktionsprodukten zählen ebenfalls Nitro-PAK; dazu sind auch Reaktionen mit NO_2 möglich. Die Produkte können sich jedoch in der Position der Nitro-Gruppe unterscheiden, je nach dem, ob die Reaktion in der Gasphase stattfindet oder an der Partikeloberfläche.^[40] Reaktionen mit Ozon laufen an der Partikeloberfläche deutlich schneller ab als in der Gasphase, wobei eine Vielzahl an Produkten entstehen kann.^[41]

Beim Vergleich der Reaktionen von gasförmigen und partikelgebundenen PAK wird deutlich, dass die partikuläre Masse einen hemmenden Effekt auf die Reaktivität der PAK zu haben scheint. Reaktionen laufen dadurch langsamer und zu einem geringeren Maß ab.^[42] Dies liegt wahrscheinlich an einer niedrigen Diffusionsrate der Reaktanden aus der Atmosphäre in die partikuläre Masse. Außerdem sind PAK im Inneren der Partikel nicht für Reaktionen verfügbar.^[43] Daher sind partikelgebundene PAK besonders persistent in der Umwelt und können über große Strecken transportiert werden.^[35]

2.1.3 Biochemische Metabolisierungsprozesse

Die Aufnahme von PAK in den menschlichen Körper erfolgt hauptsächlich über die Nahrungsaufnahme sowie über Inhalation; auch dermale Exposition ist insbesondere an Arbeitsplätzen relevant.^[44] Über die Blutbahnen und die Lymphe werden die PAK im ganzen Körper verteilt, wo sie sich aufgrund ihrer lipophilen Eigenschaften in Fettgewebe anreichern können.^[5] Die Metabolisierung erfolgt in der Leber und der Niere über verschiedene enzymatische Prozesse und ist in **Abbildung 3** schematisch dargestellt.

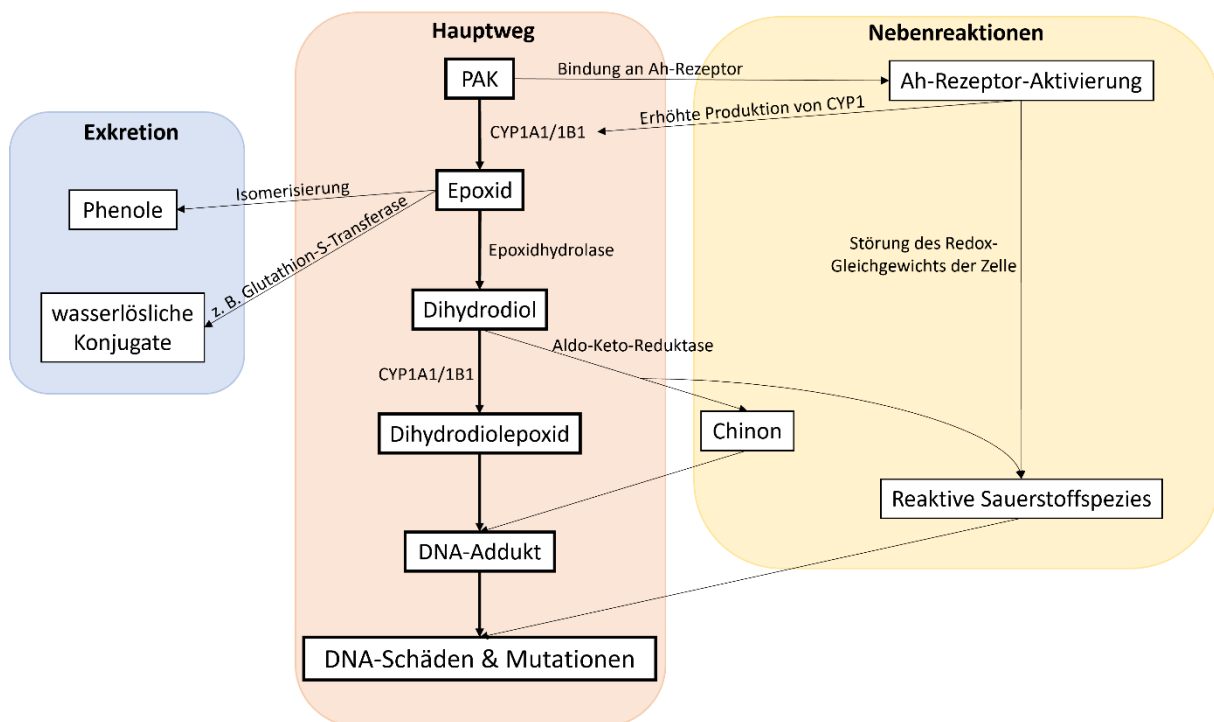


Abbildung 3: Schematische Darstellung der unterschiedlichen Metabolisierungswege von PAK.

Im ersten Schritt werden die PAK durch Cytochrom P450 (CYP) aktiviert. Hauptsächlich Enzyme der Familie CYP1A1 und CYP1B1 spielen hier eine Rolle. Durch die Aktivierung werden die PAK zu Epoxiden umgewandelt.^[45] An dieser Stelle teilt sich der Metabolisierungsweg der PAK und führt zu zwei Arten

von Metaboliten: ungiftige Produkte, die über den Urin ausgeschieden werden können, und genotoxische Metaboliten, die für die kanzerogene Wirkung von PAK verantwortlich sind.

Die Entgiftung des Körpers nach PAK-Exposition erfolgt durch die Isomerisierung der Epoxide, wodurch wasserlösliche Phenole entstehen, oder durch die Bildung eines Konjugats mit Glutathion mittels Glutathion-S-Transferase. In beiden Fällen erfolgt anschließend die Exkretion über den Urin.^[46]

Beim anderen Metabolisierungsweg werden aus den Epoxiden mithilfe des Enzyms Epoxidhydrolase Dihydrodiole gebildet. Diese können wiederum mittels CYP1A1/CYP1B1 zu Dihydrodioleoxiden oxidiert werden.^[47] Diese hochreaktiven Metaboliten können DNA-Addukte bilden, welche zu Mutationen während der DNA-Replikation und somit zu Tumoren führen können. Insbesondere Mutationen des Tumorsuppressor-Gens *p53* wurden festgestellt, was ebenfalls zur Karzinogenese beiträgt. Auch die Bildung von Protein-Addukten ist möglich, was mit der Funktion bzw. Aktivität der Proteine interferieren kann.^[48] Damit DNA- oder Protein-Addukte gebildet werden können, muss ein PAK bzw. sein Metabolit eine Bay- oder Fjord-Region aufweisen. Diese sterisch gehinderten Bereiche sind Elektrophile, die die Bindung an nukleophile Stellen der DNA ermöglichen.^[49] Das benzyliche Kohlenstoffatom des Epoxid-Dreirings bindet dabei an die exozyklische Aminogruppe von Desoxyguanosin- oder Desoxyadenosin-Resten in der DNA. Ein Beispiel für die Bildung des finalen Metaboliten in Form des Dihydrodioleoxids sowie ein beispielhaftes DNA-Addukt ist in **Abbildung 4** dargestellt. PAK mit Fjord-Regionen weisen das höchste kanzerogene Potenzial auf, danach kommen PAK mit sterisch gehinderten Bay-Regionen (z. B. durch Methylgruppen) und abschließend PAK mit ungehinderten Bay-Regionen.^[50]

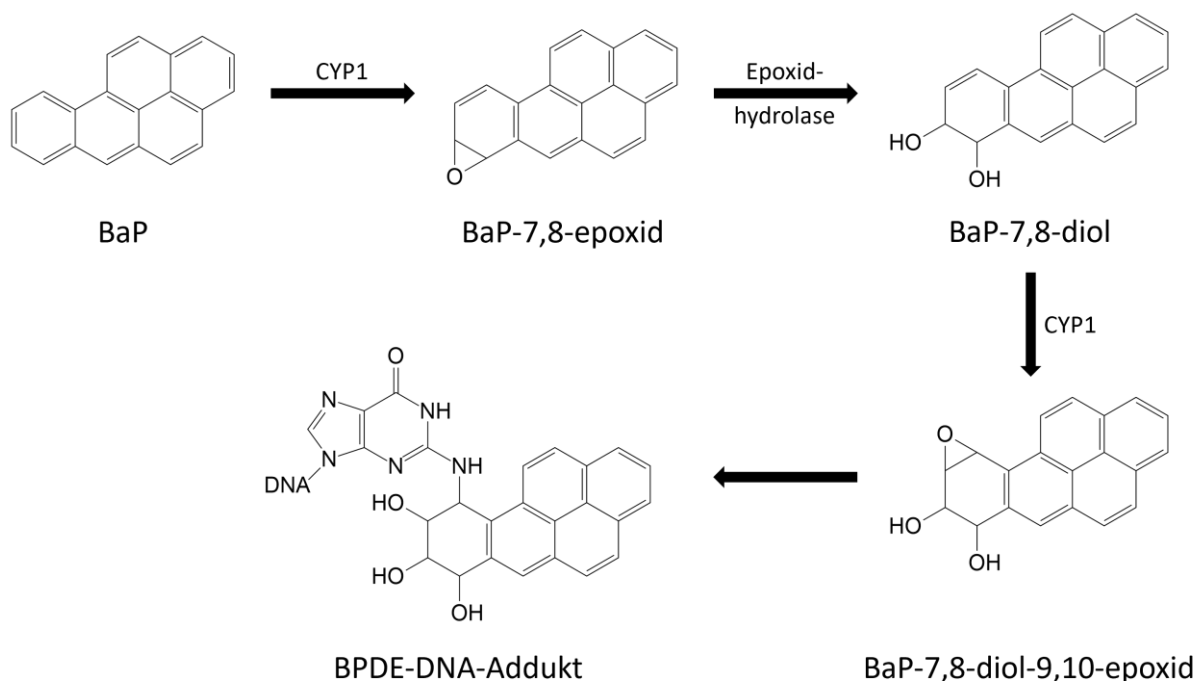


Abbildung 4: Metabolisierung von BaP zum finalen Metaboliten BaP-7,8-diol-9,10-epoxid (BPDE) und das daraus resultierende DNA-Addukt.

Die kanzerogene Wirkung von PAK entsteht jedoch nicht nur durch die Bildung von DNA- und Protein-Addukten, sondern auch durch die Bindung und subsequente Aktivierung des Aryl-Hydrocarbon-Rezeptors (AhR). Der Ah-Rezeptor ist an dem Oxidation-Reduktion-Gleichgewicht in Zellen beteiligt, sodass durch die Bindung des Rezeptors das Gleichgewicht gestört wird. Dies fördert die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies' (Sauerstoffradikale), welche direkte Schäden an der DNA verursachen können.^[51] Durch die Rezeptor-Bindung wird zudem die Produktion von Enzymen wie CYP1 gefördert, was wiederum die Bildung genotoxischer PAK-Metaboliten unterstützt.^[52] So konnte festgestellt werden, dass die Bindungsaffinitäten von PAK an den Ah-Rezeptor direkt mit ihren tumorfördernden Eigenschaften korrelieren.^[17] Beim Vergleich von gesundheitsschädlichen Wirkungen von PAK sollte daher nicht nur der TEF berücksichtigt werden, sondern auch andere kanzerogene Effekte wie die Ah-Rezeptor-Bindungsaffinitäten.

Sauerstoffradikale entstehen auch als Nebenprodukt bei der Metabolisierung von PAK-Dihydrodiolen mittels Aldo-Keto-Reduktase. Dieses Enzym katalysiert die Bildung von PAK-Chinonen (mit einer PAK-Brenzcatechin-Verbindung als Zwischenprodukt).^[53] Die daraus gebildeten Hydrochinone werden als wasserlöslicher Metabolit über den Urin ausgeschieden, während die PAK-Chinone ähnlich zu den Dihydrodiolepiden an die DNA binden und so zu Mutationen führen können.

Von den bereits genannten über den Urin ausgeschiedenen Metaboliten eignen sich vor allem die phenolischen Produkte als Biomarker zur Nutzung im Biomonitoring. Seit mehr als 30 Jahren ist jedoch vor allem 1-Hydroxypyren als Hauptmetabolit von Pyren für diesen Zweck etabliert.^[54] Da Pyren häufig in PAK-Mischungen enthalten ist, kann sein Metabolit sehr gut zur Korrelation mit der Exposition herangezogen werden. Entsprechende Guidelines bestehen vor allem für die Erfassung der Exposition an Arbeitsplätzen.^[55] Auch Metaboliten anderer PAK können fürs Biomonitoring genutzt werden. So wurden beispielsweise die Metaboliten von Naphthalin auf ihre Eignung untersucht.^[56] Im Hinblick auf die Korrelation mit der PAK-Exposition ist jedoch immer zu betrachten, ob der untersuchte Biomarker die PAK-Mischung in der Luft angemessen repräsentiert. Insbesondere an Arbeitsplätzen, an denen viele schwerflüchtige PAK vorkommen, ist Naphthalin als kleinster PAK eher schlecht als Biomarker geeignet. Hinsichtlich des Biomonitorings von schwerflüchtigen PAK ist zudem zu beachten, dass deren Metaboliten eher über den Stuhl ausgeschieden werden, was die Umsetzbarkeit eines Biomonitorings deutlich erschwert.^[47]

2.1.4 Regularien und Grenzwerte

Aufgrund der Vielzahl an unterschiedlichen Verbindungen, die den PAK zugeordnet werden können, hat sich bereits in den 1930er bzw. 1940er Jahren die Verwendung von BaP als Leitsubstanz

etabliert.^[57] Zur weiteren Vereinheitlichung der PAK-Analytik veröffentlichte die EPA im Jahr 1976 eine Liste mit 16 priorisierten PAK („EPA-PAK“), die – zum Großteil aufgrund ihrer karzinogenen Eigenschaften – in Umweltproben analysiert und reguliert werden sollten.^[7] Im Jahr 2006 folgte dann in Form der Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 eine EU-weite Regelung für PAK in Lebensmitteln, in der Grenzwerte für BaP festgelegt wurden.^[58] Bereits 2002 veröffentlichte der europäische Wissenschaftliche Lebensmittelausschuss (*Scientific Committee on Food, SCF*) eine Liste von 15 PAK (später wurde noch Benzo[c]fluoren hinzugefügt), die für die Risikoabschätzung von Langzeiteffekten durch PAK in Lebensmitteln von besonders hoher Relevanz sind.^[59] Die Liste wurde auf Basis der Kanzerogenität und Mutagenität der PAK erstellt. Dabei wurde BaP besonders hervorgehoben und als geeigneter Marker für die PAK-Kontamination von Lebensmitteln identifiziert, wobei der SCF dennoch betont, dass nach Möglichkeit das gesamte PAK-Profil erfasst werden sollte.^[60] Obwohl einige Überschneidungen zwischen den Listen der EPA und der EU bestehen, liegt der Fokus bei den 15+1 EU-PAK eher auf höhermolekularen PAK, während in den EPA-PAK mehrere 2- und 3-Ring-Systeme enthalten sind. Eine Übersicht über die beiden PAK-Listen sowie die Einstufung der einzelnen Substanzen gemäß der *International Agency for Research on Cancer* (IARC) und gemäß dem Global Harmonisierten System (GHS) sind in **Tabelle 1** zusammengefasst.

Tabelle 1: Übersicht über die PAK der EPA- und EU-Listen und die Kategorisierungen nach GHS und IARC; die hervorgehobenen PAK werden in der REACH-Verordnung reglementiert.

	Substanz	Molare Masse [g/mol]	Einstufung nach GHS ^[61]	Einstufung nach IARC ^[62]
nur Teil der EPA-Liste	Naphthalin	128	2	3
	Acenaphthylen	152	-	3
	Acenaphthen	154	-	-
	Fluoren	166	-	3
	Phenanthren	178	-	3
	Anthracen	178	-	3
	Fluoranthren	202	-	3
	Pyren	202	-	3
EPA- und EU-Liste	Benzo[a]anthracen	228	1B	2B
	Chrysen	228	1B	2B
	Benzo[b]fluoranthren	252	1B	2B
	Benzo[k]fluoranthren	252	1B	2B
	Benzo[a]pyren	252	1B	1
	Indeno[1,2,3-c,d]pyren	276	2	2B
	Dibenz[a,h]anthracen	278	1B	2A
	Benzo[g,h,i]perylen	276	-	3
nur Teil der EU-Liste	Benzo[c]fluoren	216	2	3
	Cyclopenta[c,d]pyren	226	-	3
	5-Methylchrysen	242	2	2B
	Benzo[j]fluoranthren	252	1B	2B
	Dibenzo[a,e]pyren	302	1B	2B
	Dibenzo[a,h]pyren	302	1B	2B
	Dibenzo[a,i]pyren	302	1B	2B
	Dibenzo[a,l]pyren	302	1B	2A

GHS-Kategorie 1B: wahrscheinlich krebserzeugend, Kategorie 2: kann vermutlich Krebs erzeugen; IARC-Kategorie 1: sicher krebserzeugend, Kategorie 2A: wahrscheinlich krebserzeugend, Kategorie 2B: möglicherweise krebserzeugend, Kategorie 3: nicht klassifizierbar; -: keine Angabe zur Karzinogenität

Die oben genannte Verordnung wurde zuletzt im April 2023 überarbeitet und aktualisiert (Verordnung (EU) 2023/915).^[63] Sie legt nicht nur Grenzwerte für bestimmte Lebensmittelgruppen für BaP fest, sondern auch für eine Gruppe aus vier PAK von besonders hoher Relevanz: BaP, Benzo(a)anthracen, Benzo(b)fluoranthren und Chrysen. Diese vier PAK treten besonders häufig in Lebensmitteln auf und sind, wie **Tabelle 1** zu entnehmen, alle als Karzinogene der Kategorie 1B eingestuft. Die Grenzwerte

liegen in einem Bereich zwischen 1 µg/kg und 10 µg/kg für BaP und zwischen 1 µg/kg und 50 µg/kg für die Summe der vier genannten PAK. Weitere EU-weite Grenzwerte sind beispielsweise in der Verordnung (EU) 2020/2184 für Wasser^[64] und in der Verordnung (EG) Nr. 1223/2009^[65] für Kosmetikprodukte festgelegt.

In der REACH-Verordnung (Verordnung (EG) Nr. 1907/2006)^[66] sind diverse Grenzwerte und Verbote für PAK bzw. PAK-haltige Produkte festgelegt. Diese beziehen sich jedoch nur auf eine Auswahl an PAK. Die ausgewählten Substanzen sind in **Tabelle 1** entsprechend markiert, außerdem ist Benzo[e]pyren inkludiert. Die letzte Aktualisierung der REACH-Verordnung in Bezug auf PAK erfolgte im Jahr 2021 und ergänzte Richtlinien zur Nutzung von PAK-haltigen Granulaten und Mulchen auf Kunstrasen- und Spielplätzen.^[67]

Im Jahr 2004 wurde in der Richtlinie 2004/107/EG ein Jahresrichtwert von 1 ng BaP/m³ in Feinstaub mit einem aerodynamischen Partikeldurchmesser ≤ 10 µm (PM₁₀) festgelegt.^[68] Flächendeckend aufgestellte Messstationen ermöglichen eine Kontrolle dieses Zielwerts; Überschreitungen werden der europäischen Kommission gemeldet. Zusätzlich erscheint jährlich der Report „Air quality in Europe“ der Europäischen Umweltagentur, welcher unter anderem die durchschnittlich an den EU-weit aufgestellten Messstationen gemessenen Jahreswerte für BaP zusammenfasst.^[69]

Im Kontext des Arbeitsschutzes gibt es nur für zwei Einzelsubstanzen konkrete Regelungen. Dies ist zum einen Naphthalin, welches nach der Technischen Regel für Gefahrstoffe (TRGS) 900 einen Arbeitsplatzgrenzwert von 2 mg/m³ hat.^[70] Zum anderen wurden für BaP als krebserregende Substanz gemäß der TRGS 910 eine Akzeptanz- und Toleranzkonzentration von 70 ng/m³ bzw. 700 ng/m³ ermittelt.^[71]

Für Innenraumlufte hat der Ausschuss für Innenraumrichtwerte des Umweltbundesamtes einen vorläufigen Leitwert für BaP von 0,8 ng/m³ festgelegt. Der Ausschuss basiert diesen Wert auf Ergebnissen der Deutschen Umweltstudie zur Gesundheit, die im Zeitraum von 2014 bis 2017 durchgeführt wurde. In der Studie wurde für das 95. Perzentil der BaP-Belastung in Wohninnenräumen eine Konzentration von 0,79 ng/m³ bestimmt.^[72]

2.2 Probenahme und -aufarbeitung

2.2.1 Luftprobenahme von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen

Bei einer quantitativen Erfassung von PAK in Luftproben ist zu beachten, dass vor allem 2- bis 4-Ring-PAK sowohl partikulär als auch gasförmig vorliegen können, während PAK mit mehr als fünf Benzolringen schwerflüchtig sind und fast ausschließlich partikulär vorkommen. PAK treten bei

Verbrennungsprozessen in Rauchen auf, bei denen es sich überwiegend um feinste Partikel handelt. Sie lagern sich aber auch leicht an Partikel der einatembaren Fraktion an.^[73] Soll das gesamte PAK-Profil einer Probe erstellt werden, müssen also Probenahmetechniken für gasförmige und für partikelgebundene PAK kombiniert werden.

Am einfachsten ist dies in Form eines aktiven Luftsammlers mit integriertem Sorbens für gasförmige PAK und einem Sammelmedium für partikelgebundene PAK realisierbar.

Bei aktiven Luftsammlern unterscheidet man hinsichtlich des Volumenstroms, der mit dem Gerät möglich ist, zwischen Sammlern für niedrige, mittlere oder hohe Volumina (*low/medium/high volume sampler*). Der mögliche Volumenstrom liegt dabei zwischen 0,0008 m³/min und 1,2 m³/min.^[74] *Low volume sampler* ermöglichen durch den niedrigen Volumenstrom eine Messung über einen langen Zeitraum, z. B. über mehrere Tage bis hin zu zwei Wochen wie beispielsweise bei Probenahmen für Innenluftmessungen.^[75-76] Auf der anderen Seite sind *high volume sampler* sehr gut geeignet, um auch bei kurzen Probenahmedauern, z. B. für Arbeitsplatzmessungen, eine ausreichend hohe Menge der Analyten in der Probe zu erreichen. *High volume sampler* können nach entsprechender Modifikation auch für Langzeitmessungen im Umweltmonitoring genutzt werden.^[73] Die PAK-Probenahme in Innenräumen sowie in Außenbereichen ist in **Abbildung 5** beispielhaft gezeigt.



Abbildung 5: Beispielhafte PAK-Probenahme mit SG-10-Pumpen und GSP10-Probenahmeköpfen. © Daniel Köster (IFA) und GSA Messgerätebau GmbH

Jede Pumpe ist mit einem Probenahmekopf ausgestattet, welche entweder die Größe der gesammelten Partikel limitiert (z. B. auf PM₁₀) oder die Partikel der Größe nach fraktioniert. Diese Fraktionierung erfolgt beispielsweise mithilfe eines Kaskadenimpaktors, welcher die unterschiedlichen Trägheiten der Partikel nutzt, um sie kaskadenartig der Größe nach zu trennen.^[77] Für die meisten Anwendungen ist jedoch ein Partikelsammler mit einem limitierenden Probenahmekopf ausreichend.

Für die eigentliche Probenahme sind in den Probenahmekopf eingesetzte Sammelmedien notwendig. Für gasförmige PAK werden Adsorptionsröhrchen mit Sorbentien wie Polyurethan-Schaum (*polyurethane foam*, PUF) und/oder XAD verwendet.^[11] Für die Sammlung der partikulären Masse, an die PAK binden, werden Filter aus Glas- oder Quarzfaser oder aus organischen Materialien wie Polytetrafluorethylen (PTFE) genutzt. Quarzfaserfilter bieten den Vorteil, dass sie eine hohe Reinheit mit geringen Hintergrundkonzentrationen und eine sehr hohe thermische Stabilität aufweisen. Sie sind jedoch fragiler als PTFE-Filter, da sich bei zu hoher mechanischer Beanspruchung feine Quarzfasern vom Filter lösen können.^[74] PTFE-Filter können mit organischen Substanzen kontaminiert sein, zeigen jedoch für die PAK-Analytik geringe Hintergrundkonzentrationen.^[73] **Abbildung 6** zeigt ein XAD-2-Röhrchen mit vorgeschaltetem PTFE-Filter zur Probenahme leichtflüchtiger PAK (A) sowie einen PTFE-Filter für partikelgebundene PAK (B).

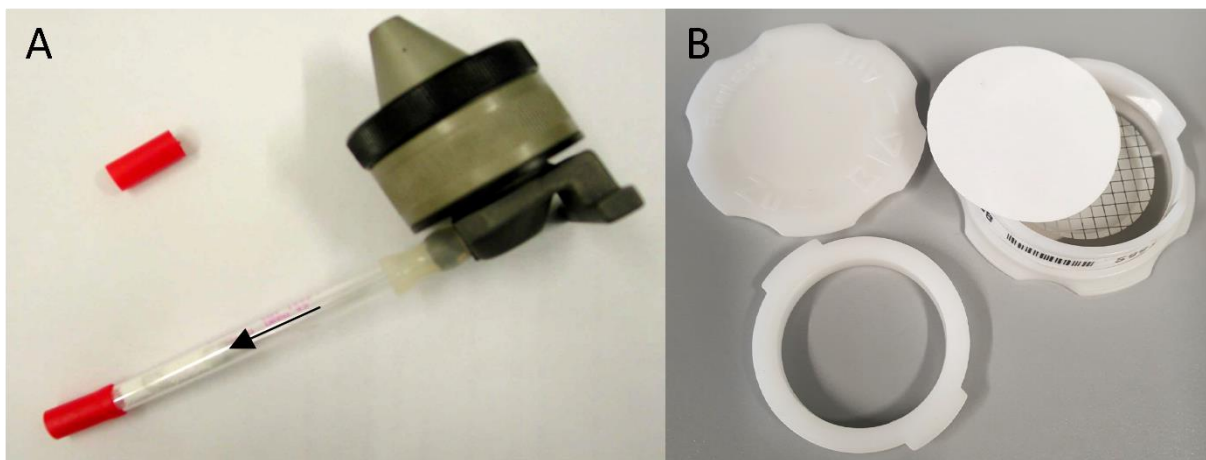


Abbildung 6: Sammelmedien für die Probenahme von PAK: ein XAD-2-Röhrchen für leichtflüchtige PAK (A) und ein PTFE-Filter für schwerflüchtige PAK (B). © Kristina Witzler (IFA)

Bei der Probenahme von PAK ist zu beachten, dass diese stark von Umgebungsbedingungen während des Samplings beeinflusst werden kann. Die Temperatur beeinflusst sowohl die Verteilung der PAK zwischen der Gasphase und Partikeln als auch die Größe von Partikeln.^[78-79] So muss berücksichtigt werden, dass durch Temperaturschwankungen während der Probenahme Artefakte wie Filter-Blow-off oder -Blow-on auftreten können. Diese Artefakte entstehen dadurch, dass semi-volatile PAK auf bereits gesammelten Partikeln durch steigende Temperaturen (außerhalb oder auch innerhalb der Pumpe) in die Gasphase übergehen und dann statt auf dem Filter auf dem Sorbens gemessen werden.^[80] Wenn kein Sorbens nachgeschaltet ist, sondern nur die partikelgebundenen PAK analysiert

werden, kommt es dadurch zu Minderbefunden. Dies betrifft sowohl Umweltmessungen als auch Messungen an Arbeitsplätzen, an denen außergewöhnlich hohe (oder niedrige) Temperaturen herrschen, beispielsweise in Kokereien. Bei Außenluftmessungen muss im Sommer beachtet werden, dass photochemische Degradation durch Reaktionen mit Ozon, Stickoxiden und Sauerstoffradikalen ebenfalls zu Verlusten auf dem Sammelmedium führen kann.^[33, 81-82]

An Arbeitsplätzen finden für die Bewertung der Gefahrstoffexposition häufig personengetragene Probenahmesysteme Anwendung. Diese haben den Vorteil, dass eine individuelle Betrachtung einzelner Arbeitsplätze und Tätigkeitsprofile möglich ist. Die Kombination von personengetragenen Probenahmesystemen mit Methoden zum Biomonitoring haben gezeigt, dass eine sehr gute Korrelation zwischen der Luftkonzentration von PAK und der Konzentration über den Urin ausgeschiedener Metaboliten besteht.^[83-84] Eine weitere Möglichkeit zur Beurteilung der Exposition ist die Nutzung von Wischproben von der Haut der Arbeitenden, von Arbeitsequipment wie persönlicher Schutzausrüstung oder von Arbeitsflächen. Diese Probenahmetechnik ist vor allem für partikuläre Gefahrstoffe anwendbar, worunter auch die meisten höhermolekularen PAK fallen. Auch Materialproben aus der Arbeitskleidung können auf Gefahrstoffe untersucht werden. Dies wurde beispielsweise genutzt, um die Exposition von Feuerwehrleuten zu untersuchen und die Reinigungseffizienz der Arbeitskleidung zu beurteilen.^[27, 85]

2.2.2 Extraktion und Probenaufbereitung

Insbesondere bei der Analytik von Realproben mit vielen Matrixbestandteilen ist die Probenaufarbeitung ein essenzieller Methodenschritt. Durch die Aufreinigung der Probe wird das Signal/Rausch-Verhältnis verbessert und das Auftreten von zusätzlichen Peaks bei der anschließenden chromatographischen Analyse wird vermieden. Für die Probenvorbereitung von PAK auf Filtern, in Lebensmitteln oder in Materialproben bieten sich verschiedene Methoden an.

Eine dieser Methoden stellt die Ultraschallextraktion dar. Die Ultraschallwellen beschleunigen den Übergang der Analyten von der Matrix in die Extraktionslösung. Diese sollte eine ähnliche Polarität wie die Analyten haben, um die Wiederfindungsrate zu steigern und Rückstände in der Probe zu minimieren. Die Aufarbeitung mittels Ultraschall ist die bevorzugte Methode zur Extraktion von Probenahmefiltern und -röhrchen.^[86]

Bei sehr „dreckigen“ Proben ist die Ultraschallextraktion allein nicht ausreichend, da störende Matrixbestandteile ebenso extrahiert werden wie die Analyten und keine Abtrennung von der Matrix erfolgt. Zur weiteren Aufreinigung solcher Proben empfiehlt sich die Festphasenextraktion (*solid phase extraction*, SPE), da hierbei die Analyten von der Matrix gelöst werden. Verwendet wird ein Sorbens,

an dem der im Lösemittel gelöste Analyt angereichert wird, während das Lösemittel das Sorbens ohne Wechselwirkungen passiert. Durch die anschließende Elution mit einer geringen Menge Lösemittel erfolgt die Konzentration der ursprünglichen Probe. Sowohl die Wahl des Sorbens als auch des Elutionsmittels sind entscheidend für den Erfolg der Methode und sind an den Analyten bzw. die Fragestellung anzupassen.^[87]

Eine relativ neue Methode zur Probenaufarbeitung ist die QuEChERS-Methode (*quick, easy, cheap, effective, rugged, safe*). Die Aufreinigung basiert dabei auf Aussalzen polarer Komponenten und (dispersiver) SPE zur Abtrennung weiterer störender Matrixbestandteile. Die Methode ist vor allem in der Rückstandsanalytik von Lebensmitteln und in der Pestizidanalytik etabliert.^[88-89]

Zur Anreicherung oder zum Clean-up kann auch die Methode der Flüssig-Flüssig-Extraktion (*liquid-liquid extraction*, LLE) verwendet werden. Bei dieser Art der Probenvorbereitung soll der Analyt – möglichst ohne etwaige Matrixkomponenten – von einem Lösemittel in ein anderes übertragen werden. Dies geschieht durch Vermischen der Analytlösung mit dem neuen Lösemittel und intensives Schütteln. Lässt man das Gemisch eine Zeit lang ruhen, bilden sich aufgrund der unterschiedlichen Dichten zwei Phasen aus, sodass das angereicherte Lösemittel von der ursprünglichen Probenlösung abgeschieden werden kann. Die Methode eignet sich auch dafür, die relevanten Probenbestandteile für die anschließende Analytik in ein anderes Lösemittel zu überführen. Einen der Nachteile stellt der vergleichsweise hohe Verbrauch an Lösemitteln dar; eine Alternative bildet die Flüssigphasen-Mikroextraktion, bei der nur geringe Lösemittelmengen benötigt werden.^[11]

Teilweise lassen sich die verschiedenen Aufarbeitungsmethoden miteinander kombinieren, um eine höhere Reinheit zu erzielen. Dabei ist jedoch mit einer Reduzierung der Wiederfindung und einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für Fehlerquellen zu rechnen, weswegen in der Regel nur eine Probenvorbereitungstechnik verwendet wird und dafür die Empfindlichkeit der Methode an einer anderen Stelle, zum Beispiel bei der Analytik, optimiert wird.

2.3 Analytik

2.3.1 Hochleistungsflüssigchromatographie

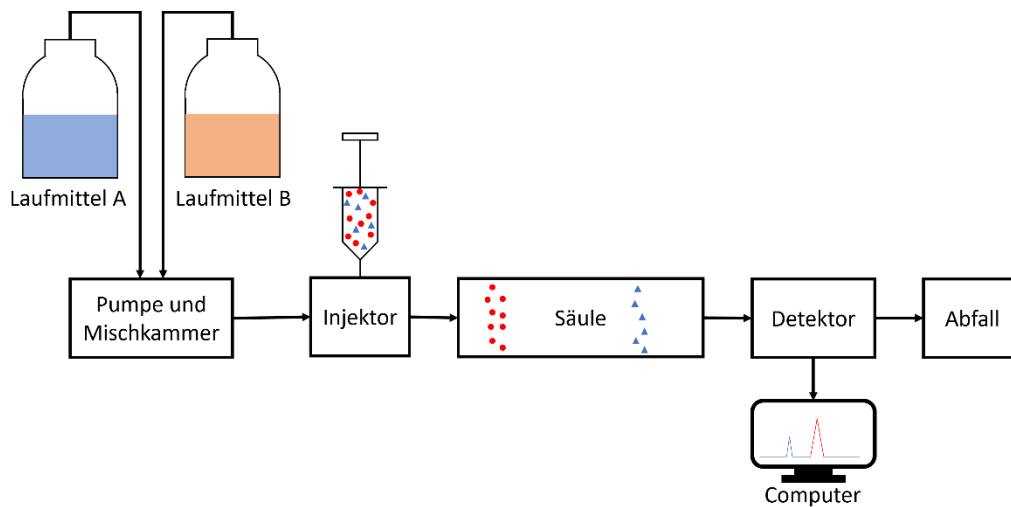


Abbildung 7: Üblicher Aufbau einer HPLC-Anlage.

Bei der HPLC handelt es sich um eine chromatographische Methode, die eine flüssige mobile Phase und eine feste stationäre Phase (häufig auf Basis von Kieselgel) verwendet. Der übliche Aufbau einer HPLC-Anlage ist in **Abbildung 7** schematisch dargestellt. Man unterscheidet hinsichtlich der Zusammensetzung der stationären Phase zwischen der polaren Normalphase und der Umkehrphase, deren Hydrophobizität durch die Modifizierung des Kieselgels mit C_{18} -Ketten erreicht wird. Die Elutionskraft der mobilen Phase variiert je nach Polarität der Säule; so kann bei einer unpolaren Säule mit einem unpolaren Eluenten eine kürzere Retentionszeit erreicht werden als mit einem polaren Eluenten und umgekehrt.^[90] Durch die Kombination verschiedener Lösemittel und/oder Anwendung eines Gradienten kann die Methode für die jeweilige Fragestellung optimiert werden. Die HPLC kann auch präparativ verwendet werden.

Hinsichtlich des Detektors wird häufig ein Diodenarray-Detektor (DAD) verwendet. Dieser detektiert das UV- bzw. Lichtspektrum des durchfließenden Eluenten. Bei Auftreten eines Analyten verändert sich das Spektrum und der Analyt wird in Form eines Peaks (bei Aufnahme einer einzelnen Wellenlänge) sichtbar.^[91] Auf einem ähnlichen Prinzip basiert der FLD, jedoch wird hier eine spezifische Anregungswellenlänge vorausgesetzt. Insbesondere aromatische Verbindungen lassen sich mit dem FLD detektieren. Als Detektor kann auch ein MS verwendet werden; dies ermöglicht die Strukturaufklärung unbekannter Substanzen oder eine eindeutigere Identifizierung der Analyten.

2.3.2 Gaschromatographie

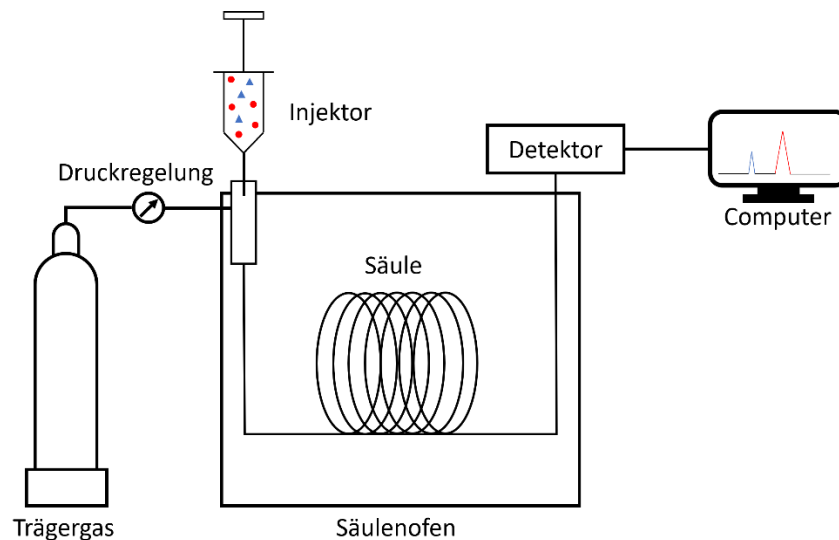


Abbildung 8: Aufbau eines GC-Systems.

Die GC ist eine weitere Methode zur chromatographischen Auftrennung der Komponenten einer Probe. Anhand der ausgegebenen Chromatogramme als Ergebnis des Detektorsignals können sowohl Informationen bezüglich der Identität als auch der Menge der Substanzen gewonnen werden. Die typischen gaschromatographischen Komponenten sind in **Abbildung 8** gezeigt.

Namensgebend für diese Technik, wird die mobile Phase von einem Gas gebildet, welches im Idealfall weder mit den Analyten oder der stationären Phase reagiert noch vom Detektor am Ende der Trennsäule erfasst wird. Als stationäre Phase wird eine hochviskose Flüssigkeit oder ein Feststoff verwendet; sie befindet sich als dünner Film oder Schicht an der Innenwand von Kapillarsäulen oder dient als feinkörniges Füllmaterial für gepackte Säulen.

Die Aufgabe der Probe erfolgt mithilfe verschiedener Verfahren, abhängig vom Aggregatzustand sowie vom Siedeverhalten. Sollte die Probe bereits als Gas vorliegen, kann sie direkt über eine Gasschleife in die Säule gespült werden. Die Injektion kann entweder vollständig (splitlose Injektion) oder mit einem vorher definierten Anteil des Probengases (Split-Injektion, verhindert Überlastung von Kapillarsäulen) erfolgen. Bei flüssigen Proben wird in der Regel zunächst ein Verdampfungsprozess durchgeführt; dies geschieht beispielsweise mithilfe eines temperierten Einspritzblocks (*programmable temperature vaporizer*, PTV), der die Probenlösung verdampft und mit dem Trägergas vermischt. Auch die Applikation direkt auf die Säule (*On-Column-Injektion*) ist möglich.

Substanzen können nur dann voneinander getrennt werden, wenn sie unterschiedliche Dampfdrücke (bei gegebener Säulentemperatur) und/oder Adsorptionskoeffizienten an der stationären Phase aufweisen.^[92] Haben sie identische Dampfdrücke, wird die Trennung nur noch von den

Wechselwirkungen mit der stationären Phase beeinflusst. Durch die Änderung der Polarität der Trennsäule kann nicht nur die Trennung verbessert, sondern auch die Reihenfolge der Elution verändert werden.^[93]

Auch bei der Wahl des Detektors bietet die GC verschiedene Optionen. Einer der am weitesten verbreiteten Detektoren ist der Flammenionisationsdetektor (FID), welcher auf der thermischen Ionisation des Analyten in einer Wasserstoffflamme basiert.^[94] Als prominentes Beispiel für einen selektiven Detektor dient der thermoionische Detektor, welcher selektiv stickstoff- und phosphorhaltige Substanzen detektiert. Ein weiterer häufig verwendeter Detektor ist der Wärmeleitfähigkeitsdetektor, welcher nicht massen-, sondern konzentrationsabhängig arbeitet und den Analyten nicht chemisch verändert. Auch bei der GC ist eine Kopplung mit einem MS möglich.

2.3.3 Massenspektrometrie

Die Massenspektrometrie kann als eigenständige Analysenmethode oder auch in Kopplung mit einer chromatographischen Technik angewandt werden. MS werden hauptsächlich hinsichtlich der Ionenquelle und der Art des Analysators unterschieden; Letztere entscheidet zudem über das Auflösungsvermögen des Geräts als Maß für die Leistungsfähigkeit. Durch die Ionisierung und etwaige Fragmentierung des Analyten können Informationen hinsichtlich der molaren Masse und Struktur gewonnen werden; bei unbekanntem Substanzen kann die Massenspektrometrie daher auch zur Strukturaufklärung genutzt werden.^[95]

Die Elektronenstoßionisation (EI) als „klassische“ harte Ionisationsmethode basiert auf dem Beschuss der Probenmoleküle mit Elektronen. Wird dabei eine ausreichend große Energiemenge auf das Molekül übertragen, findet die Ionisation statt.^[96] Das Ausmaß der dabei auftretenden Fragmentierung ist von der Menge an übertragener Energie und von der Fähigkeit des Ions zur inneren Stabilisierung abhängig. In der Regel entstehen bei dieser Reaktion einfach geladene Ionen, es kann jedoch auch zur Bildung mehrfach geladener Ionen kommen. Dies ist meist nur bei PAK der Fall.^[97-98]

Einige kommerziell erhältliche Ionenquellen können sowohl mit der EI als Ionisationsmethode als auch mit der Chemischen Ionisation (CI) betrieben werden. Die CI als „weiche“ Ionisationsmethode kann dabei als komplementär zur „harten“ EI gesehen werden. Durch die Ion-Molekül-Reaktionen mit einem ionisierten Reaktantgas werden Fragmentierungsreaktionen weitestgehend unterdrückt.^[96]

Während EI/CI-Quellen überwiegend in Verbindung mit gaschromatographischen Geräten verwendet werden, werden bei Kopplung mit einem Flüssigchromatographen eher Elektrosprayionisation (ESI) und/oder chemische Ionisation unter Atmosphärendruck (*atmospheric pressure chemical ionisation*,

APCI) als Ionisationsmethoden genutzt. Beide Methoden basieren auf der Zerstäubung der flüssigen Probe unter Atmosphärendruck. Bei der ESI bilden sich dabei auch mehrfach geladene Ionen und es tritt kaum Fragmentierung auf, weswegen diese Methode besonders zur Detektion großer Biomoleküle geeignet ist.^[99] Die APCI hingegen kann als etwas härtere Ionisationsmethode als die ESI eingeordnet werden. Hier werden keine mehrfach geladenen Ionen gebildet, die Methode ist für Analyten mit wenigen funktionellen Gruppen gut geeignet.^[100]

Insbesondere für aromatische, unpolare Substanzen wie PAK werden häufig auch die Methoden der Atmosphärendruck-Laser- und Photoionisation (APLI bzw. APPI) genutzt. Bei beiden Techniken erfolgt die Ionisation des Analyten durch Beschuss mit Photonen, wodurch das Radikalkation $M^{+\bullet}$ entsteht. Matrixeffekte oder Störpeaks durch unerwünschte Substanzen werden minimiert, da insbesondere die APLI sehr selektiv für Aromaten ist. Beide Ionisationsmethoden sind eher sanft, sodass wenig Fragmentierung auftritt.^[101-102]

Als Massenanalysator werden unter anderem Sektorfeld-, Flugzeit- und Ion Trap-Analysatoren verwendet. Der meistverwendete Analysator ist der Quadrupol, welcher zur besseren Strukturaufklärung auch als Triple-Quadrupol (QQQ) genutzt werden kann. Durch die Kontrolle der passierenden Masse-zu-Ladungs-Verhältnisse (m/z) ist eine genauere Beobachtung der auftretenden Fragmentierungsreaktionen möglich.

2.4 Stand der Technik

2.4.1 Stand der Chromatographie

Ursprünglich wurde für die Analytik von PAK vor allem HPLC verwendet, da damit eine gute Trennung von PAK-Isomeren erreicht wurde und die Möglichkeit der Fluoreszenzdetektion für eine große Auswahl an PAK gegeben war. Im Allgemeinen werden dabei vor allem polymerische C_{18} -Säulen verwendet, wobei Unterschiede hinsichtlich der Trennung zwischen verschiedenen Herstellern feststellbar sind.^[103] Bei der Entwicklung neuer HPLC-Säulen speziell für die PAK-Analytik gab es in den letzten 30 Jahren nur wenige Innovationen. Da die damals entwickelten Säulen für die Trennung der 16 EPA-PAK bereits optimiert waren und sich diese Liste von priorisierten PAK nicht verändert hat, werden diese bzw. ähnliche Säulen weiterhin genutzt. Lediglich zur Erhöhung der Effizienz wurden neue Säulen mit geringerem Partikeldurchmesser entwickelt. Ein aktueller Trend ist die Entwicklung sogenannter Core-Shell-Säulen, die aus einem festen Kern bestehen, welcher mit porösen Silica-Partikeln beschichtet ist. Durch den festen Kern in der Mitte der Säule werden die Trennwege verkürzt und Diffusionseffekte reduziert, wodurch ebenfalls eine Steigerung der Effizienz möglich ist (vgl. **Abbildung 9**).^[104] Zudem können die Säulen bei einer höheren Flussrate betrieben werden, ohne dass

der Rückdruck problematisch wird.^[105] Für Core-Shell-Säulen mit Partikeldurchmessern $< 2 \mu\text{m}$ werden Ultra-HPLC-Systeme (UPLC) benötigt; Core-Shell-Säulen mit konventionelleren Partikelgrößen wie z. B. $5 \mu\text{m}$ sind erst in den letzten Jahren kommerziell erhältlich geworden und sind demnach für die PAK-Analytik erst wenig erforscht.^[106]

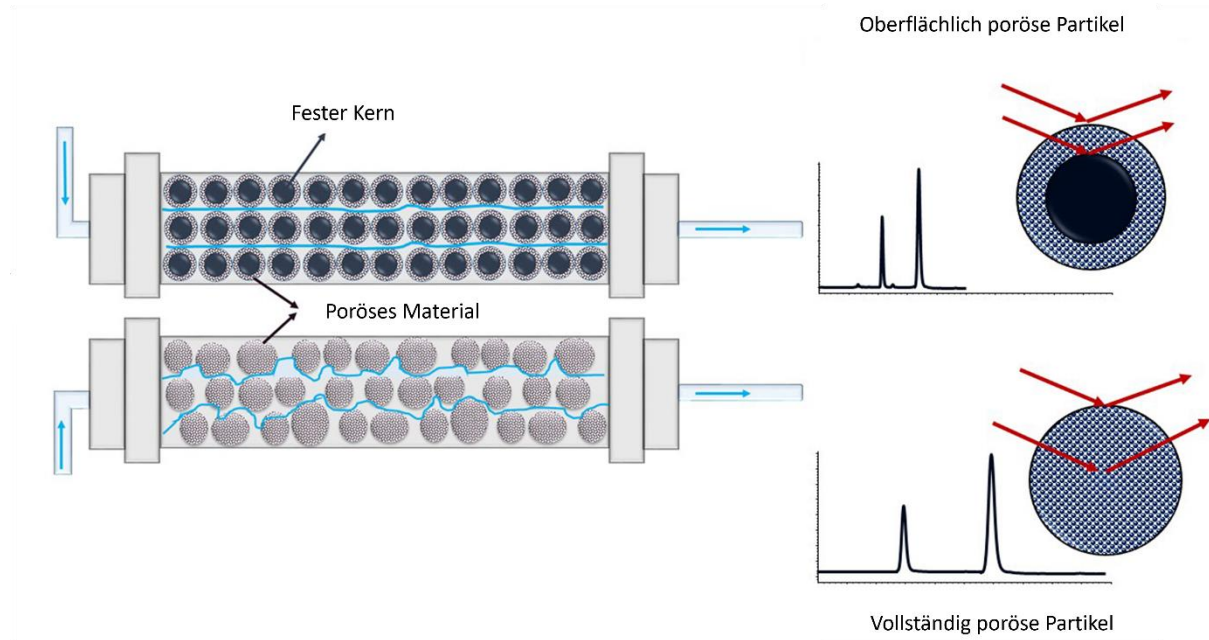


Abbildung 9: Unterschied zwischen Core-Shell-Säulen (oben) und konventionellen Kieselgelsäulen (unten); adaptiert aus ^[107].

Mit der Entwicklung von Kapillarsäulen rückte jedoch mehr und mehr die GC als Analysensystem der Wahl in den Vordergrund.^[103] Vor allem die verbesserte Selektivität, Auflösung und Sensitivität der GC führten dazu, dass diese Technik der LC vorgezogen wurde bzw. wird.^[1] Bei der Wahl des Materials für die stationäre Phase, des Innendurchmessers und der Säulenlänge gibt es bei der GC mehr Möglichkeiten als bei der HPLC. Am häufigsten werden Säulen mit einer stationären Phase aus methyl- und phenyl-substituierten Polysiloxanen verwendet.^[1] Diese bieten den Vorteil, dass sie auch bei hohen Temperaturen nur geringes Säulenbluten aufweisen. Für die Trennung bestimmter kritischer Paare (z. B. Benzo[b]- und Benzo[j]fluoranthen), welche auf Phenyl-Methylpolysiloxan-Säulen häufig co-eluieren, können auch Säulen auf Basis von flüssigkristallinem Polysiloxan genutzt werden. Diese sind aufgrund ihrer *shape selectivity* gut für die Trennung von PAK-Isomeren geeignet.^[108] Üblicherweise werden Säulen mit einer Länge zwischen 12 und 60 m und Filmdicken von $0,1$ bis $0,5 \mu\text{m}$ verwendet.^[13] Die Länge der Säule beeinflusst dabei vor allem die Trenneffizienz sowie die Analysenzeit. Dabei gilt es, einen Kompromiss aus guter Trennung und möglichst kurzer Analysenzeit zu erzielen. Der Säulendurchmesser und die Filmdicke der stationären Phase sind entscheidend für die Probenkapazität und die Retention der Analyten. Je größer der Säulendurchmesser und die Filmdicke sind, desto höher ist die Probenkapazität. Dabei sinkt jedoch die Trenneffizienz. Die Filmdicke hängt dabei auch von der Auswahl der Analyten ab: Bei leichtflüchtigen Substanzen werden eher Säulen mit

großen Filmdicken gewählt, während geringe Filmdicken vor allem für schwerflüchtige Komponenten gut geeignet sind.^[109]

Als Detektoren werden in der PAK-Analytik vor allem MS oder FLD genutzt. Die üblichen Kopplungen sind GC-MS und HPLC-FLD. Zwar sind auch HPLC-MS-Kopplungen möglich, dann kann aber nicht die EI als Ionisationsquelle genutzt werden. Die EI ist für PAK jedoch die Methode der Wahl, da die reproduzierbaren, individuellen Massenspektren eine verlässliche Analyse gewährleisten.^[13] In den letzten Jahren wurden vermehrt MS-Systeme mit Ionisation unter Atmosphärendruck untersucht, also mit ESI-, APCI-, APLI- oder APPI-Quellen. ESI und APCI sind jedoch eher für polare Substanzen geeignet und werden für die PAK-Analytik wenig genutzt.^[110] APPI und insbesondere APLI sind hingegen sehr sensitiv und selektiv für unpolare Aromaten wie PAK. So ist die Empfindlichkeit, die mittels GC-APLI-MS erreicht werden kann, um den Faktor 10^3 höher als bei GC-EI-MS.^[111] Auch LC-APPI-MS- bzw. LC-APLI-MS-Kopplungen sind möglich und wurden bereits untersucht.^[102, 112-113] APPI- und APLI-Quellen werden allerdings nur für sehr spezielle Anwendungen genutzt und sind daher kaum kommerziell erhältlich.

2.4.2 Aktuelle Methode im MGU

Im Messsystem Gefährdungsermittlung der Unfallversicherungsträger (MGU) beschreibt eine 2003 veröffentlichte Methode die Probenahme, -aufarbeitung und Analytik mittels HPLC-DAD/FLD für die 16 EPA-PAK plus Benzo[e]pyren.^[114] Diese Methode wird bei Messungen an Arbeitsplätzen durch die messtechnischen Dienste der Berufsgenossenschaften angewendet.

Für die Probenahme wird ein Kombinationsprobenträger aus einem XAD-2-Röhrchen und einem PTFE-Filter mit einem Durchmesser von 37 mm und einer Porengröße von 3 μm verwendet. Dadurch werden sowohl die PAK in der Gasphase als auch die partikelgebundenen PAK erfasst. Die Probe wird mit einem Luftvolumenstrom von 2 L/min über eine Dauer von 0,25-4 h gesammelt. Die Aufarbeitung der Probenträger erfolgt innerhalb von 14 Tagen nach der Probenahme. Entsprechend der TRGS 402 wird für die Beurteilung der inhalativen Exposition nach Möglichkeit eine personengetragene Probenahme durchgeführt. Die ortsfeste Probenahme wird vor allem zur Ermittlung der Hintergrundkonzentration genutzt.^[115]

Die Extraktion der beiden Sammelmedien wird mithilfe einer Extraktionslösung aus Acetonitril und Methanol im Verhältnis 60:40 (v/v) durchgeführt. Die Aufarbeitung der Filter erfolgt mittels Überschichtung mit der Extraktionslösung, Ultraschallbad und Schütteln. Die PAK vom XAD-2-Röhrchen werden mit Dichlormethan extrahiert, welches anschließend im Rotationsverdampfer eingengt und mit der Extraktionslösung wieder aufgefüllt wird.

Die Analyse der Proben erfolgt mithilfe einer HPLC mit einem DAD und einem nachgeschalteten FLD. Die Parameter der HPLC-Methode sind **Tabelle 2** zu entnehmen. Mithilfe einer externen Kalibration wird der PAK-Gehalt der Probe quantitativ bestimmt. Die Kalibration umfasst dabei einen Bereich von 10-100 ng/mL über zehn Kalibrationspunkte.

Tabelle 2: Parameter der HPLC-Methode, die im MGU für die Analyse der 16 EPA-PAK plus Benzo[e]pyren genutzt wird.

Säule	MZ-PAH C18, 5 µm, 250 x 2,1 mm
Säulentemperatur	25 °C
Eluent	Acetonitril/Wasser 65/35 (v/v) (A) und Acetonitril (B)
Gradient	Start: 100 % A, Fluss 0,3 mL/min 7-17 min: → 100 % B Ab 32 min: → 100 % A
Laufzeit	32 min + 7 min post-run
Injektionsvolumen	12 µL
DAD-Einstellungen	Signal A: 252 nm, Referenz 550 nm Signal B: 268 nm, Referenz 550 nm Signal C: 296 nm, Referenz 550 nm Signal D: 240 nm, Referenz 550 nm Signal E: 225 nm, Referenz 550 nm
FLD-Einstellungen	Anregungswellenlänge: 260 nm Emissionswellenlängen: Signal A: 320 nm (ab 16 min: 502 nm) Signal B: 400 nm Signal C: 430 nm Signal D: 452 nm PMT-Gain 11 (ab 28,5 min: 13)

2.4.3 Problematiken bei der Analytik

Die Analytik der 16 EPA-PAK ist zwar etabliert, doch bei der Messung anderer PAK ergeben sich Schwierigkeiten. Zu den größten Problemen zählt die große Menge an Isomeren. Je mehr Ringstrukturen enthalten sind, desto mehr Isomere sind auch möglich. Beispielsweise sind für PAK mit sechs Ringen mit der Summenformel $C_{26}H_{16}$ und demnach einer molaren Masse von 328 g/mol bereits

37 Isomere möglich.^[116] Im Vergleich zu den EPA-PAK kommen sie zu einem geringeren Anteil in der Umwelt vor, was den Nachweis dieser Analyten ebenfalls erschwert.^[103] Da das mutagene und karzinogene Potential von PAK mit steigender molarer Masse tendenziell zunimmt, sind diese hochmolekularen Substanzen für die Abschätzung des Krebsrisikos jedoch auch bei geringen Konzentrationen sehr relevant.

Die Liste der von der EPA priorisierten PAK wurde unter anderem auf Basis der kommerziellen Verfügbarkeit von analytischen Standards zusammengestellt.^[7] Dies stellt ein weiteres Problem dar, da es für Hersteller von Standards nicht umsetzbar ist, eine so große Anzahl an Standards anzubieten, wie es mögliche PAK-Verbindungen gibt. Es gibt zwar eine Vielzahl von Mischstandards für verschiedene Fragestellungen (z. B. für die in der EU priorisierten PAK, vgl. **Tabelle 1**), doch auch diese beschränken sich meist auf eher niedrigmolekulare Substanzen. Kundenspezifische Standards für höhermolekulare PAK sind teuer oder nicht synthetisierbar. Dies erschwert es interessierten Laboren, ihre Methoden an die Analytik von „neuen“ PAK anzupassen und zu validieren.

Ein weiterer Punkt, der bei der Analytik bzw. schon bei der Probenahme beachtet werden sollte, ist die Möglichkeit der Degradation von Verbindungen. Wie bereits in Kapitel 2.2.1 erläutert, kann es durch Photo- und Biodegradation zum (partiellen) Abbau von PAK kommen. Dadurch kann das PAK-Profil einer Probe verzerrt werden, was beispielsweise die Quellenzuordnung über Konzentrationsverhältnisse erschwert.^[9] Der Abbau durch Mikroorganismen zielt vor allem auf Stammverbindungen und gering alkylierte PAK ab.^[117] Die photochemische Degradation hingegen baut Verbindungen mit höheren Alkylketten schneller ab als solche mit niedrigen Alkylketten.^[118] Durch die unterschiedlichen Abbauprozesse und ihre individuelle Kinetik können Minderbefunde entstehen, was wiederum die Einschätzung der Toxizität einer Probe behindert. Insbesondere bei Umweltproben ist daher darauf zu achten, ob Mikroorganismen wie Bakterien, Pilze oder Algen einen biologischen Abbau verursacht haben könnten oder ob Umgebungsbedingungen wie starke Sonneneinstrahlung und hohe Temperaturen anderweitige Abbauprozesse fördern könnten.^[81] Bei Probenahmen an Arbeitsplätzen spielen diese Einflüsse eine eher untergeordnete Rolle.

2.5 Referenzmaterialien und Ringversuche

2.5.1 Allgemeines zu Referenzmaterialien

Die höchste Qualitätsstufe eines Referenzmaterials sind sogenannte zertifizierte Referenzmaterialien (*certified reference material*, CRM). Um CRM herstellen zu dürfen, muss ein Labor nach DIN EN ISO 17034^[119] akkreditiert sein. Damit ist nachgewiesen, dass das Labor die Anforderungen zur Herstellung eines CRM erfüllt, z. B. hinsichtlich der technischen Kompetenz des Labors oder der Rückverfolgbarkeit

des Referenzmaterials. Die Nutzung von CRM als Mittel zur Qualitätssicherung ist seit mehr als 50 Jahren etabliert.^[120]

CRM sind für eine Vielzahl an Analyten und Matrices erhältlich, die Auswahl wächst durch die fortwährende Entwicklung neuer CRM stetig. Zu den wichtigsten Eigenschaften von CRM zählen Homogenität, Stabilität und eine verlässliche Charakterisierung.^[119] Erst durch diese Eigenschaften ermöglichen CRM die Vergleichbarkeit von Ergebnissen unterschiedlicher Labore. Auch wenn der Gehalt eines bestimmten Analyten für ein CRM noch nicht offiziell bestätigt wurde, ist durch die Veröffentlichung von „off-label“ Analyseergebnisse in Journalbeiträgen ein Vergleich zu anderen Laboren möglich.^[120] Für PAK ist eine Vielzahl an CRM mit unterschiedlichen Matrices erhältlich, beispielsweise Lehmboden, Sediment, Feinstaub, Gummispielzeug oder verschiedene Lebensmittel wie Fisch und Muscheln.

Auch bei fehlender Akkreditierung ist es einem Labor möglich, Referenzmaterialien herzustellen – diese sind dann jedoch nicht zertifiziert bzw. dürfen nicht als CRM verkauft werden. In solchen Fällen sollten die Anforderungen der DIN EN ISO 17034 so weit wie möglich erfüllt werden.

2.5.2 Ringversuche am Institut für Arbeitsschutz

Am IFA werden bereits seit 1989 Ringversuche für Labore und Messstellen für Gefahrstoffe durchgeführt.^[121] Dabei wird eine Vielzahl an Analyten abgedeckt, z. B. organische Lösemittel, Metalle oder Aldehyde. Eine Besonderheit stellen dabei Ringversuche mit eigener Probenahme dar. Damit ist nicht nur die Qualitätskontrolle der Analytik von Probenträgern möglich, sondern des gesamten Probenahmeverfahrens. Die Ringversuche mit eigener Probenahme werden durch die hauseigene Prüfgasstrecke ermöglicht, die zur Herstellung dynamischer Prüfgase dient (s. **Abbildung 10**). Mithilfe einer konstanten Online-Kontrolle können stabile Prüfgase mit einer definierten Konzentration, Temperatur und Luftfeuchte erzeugt werden. Dadurch werden Probenahmen unter präzisen Bedingungen ermöglicht, um beispielsweise die Probenahme an bestimmten Arbeitsplätzen zu simulieren.



Abbildung 10: Die Prüfgasstrecke am IFA.^[122]

Bei vielen Ringversuchen werden jedoch die bereits belegten Probenträgern an die Teilnehmenden geschickt, welche die Messergebnisse anschließend digital übermitteln. Zur Auswertung der zugesandten Ergebnisse wird die Software „Prolab Plus“ genutzt, welche speziell für die Auswertung von Ringversuchen entwickelt wurde und beispielsweise auch von der US-Behörde für Lebens- und Arzneimittel genutzt wird. Die Durchführung der Ringversuche erfolgt in Anlehnung an die Normen DIN EN ISO/IEC 17043 und DIN ISO 13528.^[119, 123]

Die angebotenen Ringversuche werden stetig erweitert, um der Nachfrage von Laboren und Messstellen entgegenzukommen. Im Bereich der Luftmessungen von Gefahrstoffen an Arbeitsplätzen gibt es in Deutschland keinen Anbieter von Ringversuchen oder Referenzmaterialien abseits des IFA. Daher ist es von hoher Wichtigkeit, dass das IFA die Analytik solcher Substanzen vorantreibt, die besonders relevant im Bereich des Arbeitsschutzes sind. Dazu zählen beispielsweise (höhermolekulare) PAK, da diese Stoffgruppe aufgrund des hohen kanzerogenen Potenzials zu diversen Berufskrankheiten führen kann, z. B. Lungen-, Kehlkopf- und Blasenkrebs.^[124-125]

2.5.3 Konzeptionierung eines neuen Ringversuchs

In den mehr als 30 Jahren seit dem ersten Ringversuch wurden am IFA viele Ringversuchsprogramme konzipiert und etabliert. Initiiert wird die Entwicklung eines neuen Ringversuchs beispielsweise durch neu anerkannte Berufskrankheiten, durch die Absenkung von Grenzwerten, durch die Neueinstufung von Chemikalien als gesundheitsgefährdende Stoffe oder durch das Interesse von messtechnischen

Stellen oder Laboren. Anschließend müssen die Durchführung des Ringversuchs näher definiert und wichtige Aspekte geklärt werden:

- Kann der Ringversuch mit oder ohne eigene Probenahme durchgeführt werden?
- Bei einer Stoffgruppe: Welche Vertreter dieser Stoffgruppe sind repräsentativ und/oder relevant?
- Welcher Konzentrationsbereich soll abgedeckt werden? Was macht im Hinblick auf etwaige Grenzwerte Sinn?
- In welcher Matrix soll der Analyt vorliegen?
- Welches Equipment und Know-How wird benötigt?
- Wer sind mögliche Interessenten? Sind diese in ausreichender Zahl vorhanden, dass sich die Entwicklung eines Ringversuchs lohnt?
- Welcher zeitliche und finanzielle Rahmen ist realistisch und machbar?

Sind diese Punkte geklärt, kann der weitere Prozess zur Etablierung eines Ringversuchs entsprechend dem Schema in **Abbildung 11** erfolgen.

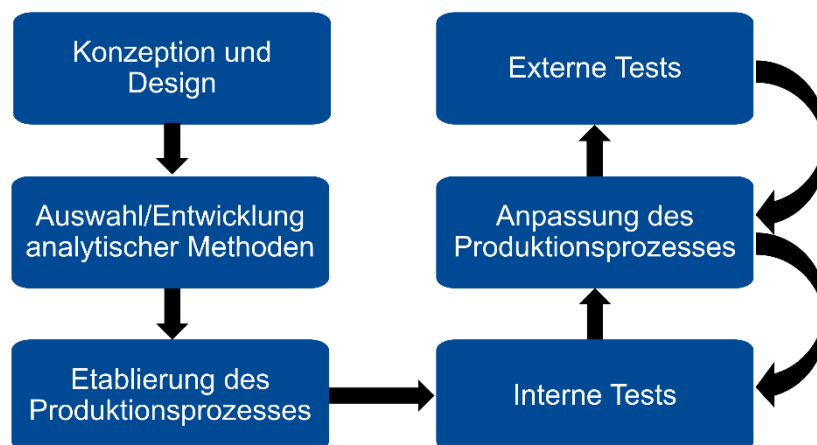


Abbildung 11: Schematischer Ablauf zur Entwicklung eines neuen Ringversuchs.

Die beiden Schritte der Methodenauswahl bzw. -entwicklung und der Etablierung des Produktionsprozesses gehen Hand in Hand. Denn um den Erfolg bzw. die Güte des Produktionsprozesses zu beurteilen, ist es zwingend notwendig, eine geeignete analytische Methode zur Verfügung zu haben. Dazu zählt auch ein möglicher Aufarbeitungs- oder Extraktionsschritt. Daher ist es wichtig, dass an diesem Punkt bereits feststeht, mit welcher Matrix der Ringversuch durchgeführt werden soll und wie der Ringversuch an sich gestaltet werden soll. Beispielsweise kann eine Matrix mit dem Analyten gespiked oder ein Prüfgas hergestellt werden. Im Idealfall liegt für den Analyten, für den der Ringversuch entwickelt wird, eine vollständig validierte Methode vor. So lassen sich interne Tests durchführen, die Auskunft darüber geben, ob Änderungen am Produktionsprozess nötig sind. Dies bezieht sich zunächst vor allem auf die Reproduzierbarkeit und die Richtigkeit des Analytgehalts. Aufgrund dessen muss auch die Wiederfindungsrate der analytischen Methode bestimmt werden. Im

weiteren Verlauf müssen auch die Robustheit des Produktionsprozesses und die Stabilität des Analyten in Verbindung mit der Matrix getestet werden, inklusive der Haltbarkeit der Proben.

Sind die internen Tests zufriedenstellend und der Produktionsprozess weitestgehend optimiert, können externe Tests durchgeführt werden. Für die externen Tests werden geeignete, unabhängige Labore ausgewählt, die die hergestellten Proben mit ihren hauseigenen Methoden untersuchen. Diese Methoden sollten mit den für die internen Tests genutzten Methoden vergleichbar sein, um eine Aussage über die Eignung der Proben treffen zu können.

2.5.4 Erfahrungen aus früheren Ringversuchen

Im Arbeitsschutz gibt es keine verbindlich vorgeschriebenen Messmethoden; die Teilnehmer können bei der Analyse der Ringversuchsproben ihre hauseigenen Methoden einsetzen. Bei Ringversuchen mit eigener Probenahme wird ein homogenes Prüfgas zur Verfügung gestellt, bei Ringversuchen ohne eigene Probenahme wird den Teilnehmenden der Analyt auf einer geeigneten Probenmatrix zugeschickt. Letzterer Weg wird beispielsweise beim Ringversuch Metalle gewählt, in dem ein metallhaltiger Staub auf einen Cellulose-Nitrat-Filter aufgebracht wird.

Aus der Erfahrung des IFA ist bekannt, dass es bei der ersten Durchführung eines neuen Ringversuchs trotz intensiver interner und externer Tests durchaus zu größeren Schwankungen bei den Ergebnissen der Teilnehmenden kommen kann.^[126-127] Dies ist nicht zuletzt darauf zurückzuführen, dass den teilnehmenden Laboren die Art der Bearbeitung der Proben freigestellt ist. Beispielsweise haben sich die Resultate bei den Ringversuchen zu Metallen deutlich verbessert, nachdem die Aufschlussmethode harmonisiert wurde. Diese Methode wurde in die Sammlung der von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) empfohlenen Messverfahren für gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe aufgenommen.^[128]

Selbst wenn ein Ringversuch mehrmals im Jahr angeboten wird, können zwischen den Ergebnissen der einzelnen Durchläufe Unterschiede liegen. Beispielsweise wurde der Ringversuch Lösungsmittel im Jahr 2010 an zwei Terminen mit 12 bzw. 11 teilnehmenden Laboren durchgeführt. Beim ersten Termin lagen die relativen Standardabweichungen (RSD) zwischen 7,26 und 12,35 %, beim zweiten Termin nur noch bei 4,38-7,51 % für die identische Probenzusammensetzung und -konzentration.^[122] Bei empfindlichen Analyten können die Ergebnisse auch bei etablierten Ringversuchen stark streuen. Als Beispiel für solche Analyten dienen leichtflüchtige organische Substanzen (*volatile organic compounds*, VOC), die bereits seit 2007 als Ringversuch mit eigener Probenahme am IFA angeboten werden. Die Werte für die RSD für den Ringversuch VOC im Jahr 2020 lagen beispielsweise zwischen 11,64 und 24,09 %.^[122] Für gewöhnlich liegen die Standardabweichungen bei den meisten Ringversuchen bei 5-

15 %. Bei besonders auffälligen Ergebnissen ist jedoch zu hinterfragen, ob dies auf Schwankungen während des Ringversuchs zurückzuführen ist.

2.5.5 Vorgehen beim neuen Ringversuch

2.5.5.1 Auswahl der Analyten

Um auf eine mögliche Erweiterung der EPA-PAK-Liste vorbereitet zu sein, hatte dieses Projekt die Entwicklung eines Referenzmaterials zur Nutzung in einem Ringversuch für höhermolekulare PAK zum Ziel. Für die Etablierung des Ringversuchs diente das Fließschema in **Abbildung 11** als Orientierung. So wurden zunächst zwei analytische Methoden etabliert, eine gaschromatographische und eine flüssigchromatographische Methode. Anschließend wurden die beiden Methoden miteinander verglichen, um zu beurteilen, welches chromatographische System für welche Art von PAK besser geeignet ist. Dazu wurde eine erweiterte PAK-Auswahl getroffen, welche sowohl einige EPA- und EU-PAK als auch weitere als wahrscheinlich krebserzeugend eingestufte PAK enthält. Die beim Methodenvergleich untersuchten PAK sind in **Tabelle 3** zusammengefasst. Darin ist auch markiert, welche PAK in den EPA- und EU-Listen enthalten sind (vgl. **Tabelle 1**).

Tabelle 3: Liste der für den Methodenvergleich ausgewählten PAK; fett markierte Substanzen sind in der EPA-Liste enthalten, unterstrichene in der EU-Liste.

1-Methylpyren	<u>Benzo[j]fluoranthren</u>	<u>Dibenzo[a,i]pyren</u>
1-Methylnaphthalin	Benzo[k]fluoranthren	<u>Dibenzo[a,l]pyren</u>
2-Methylnaphthalin	Benzo[g,h,i]perylen	Dibenzo[e,l]pyren
1,6-Dimethylnaphthalin	Benzo[a]pyren	Fluoranthren
2,3-Dimethylnaphthalin	Benzo[e]pyren	Fluoren
<u>5-Methylchrysen</u>	Chrysen	Indeno[1,2,3-cd]fluoranthren
Acenaphthen	Coronen	Indeno[1,2,3-cd]pyren
Acenaphthylen	<u>Cyclopenta[c,d]pyren</u>	Naphthalin
Anthanthren	Dibenzo[a,h]anthracen	Perylen
Anthracen	Dibenzo[a,e]fluoranthren	Phenanthren
Benzo[a]anthracen	<u>Dibenzo[a,e]pyren</u>	Pyren
Benzo[b]fluoranthren	<u>Dibenzo[a,h]pyren</u>	

Die Ergebnisse des Methodenvergleichs sind in Kapitel 4.1 dargestellt.

Als Matrix für das Referenzmaterial sollen Filter genutzt werden, die auch für die Probenahme von höhermolekularen PAK – die ausschließlich partikulär auftreten – verwendet werden. PAK, die als Partikel/Dampf-Gemisch vorliegen können, werden bei einer Luftprobenahme nicht (vollständig) von einem Filter zurückgehalten und kommen für die Entwicklung des Referenzmaterials nicht in Frage.

Dazu zählen beispielsweise die alkylierten Naphthaline. Der Fokus liegt auf PAK, die als möglicherweise oder gesichert krebserregend eingestuft sind und die bisher noch nicht in der EPA-Liste enthalten sind. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden auch drei schwerflüchtige Verbindungen von der EPA-Liste inkludiert: Indeno[1,2,3-cd]pyren, Dibenz[a,h]anthracen sowie BaP als Leitsubstanz. Aus der EU-Liste wurden vier der Dibenzopyren-Isomere, Cyclopenta[c,d]pyren sowie 5-Methylchrysen als Vertreter der alkylierten PAK übernommen. Aus den oben genannten PAK wurden so insgesamt elf Substanzen ausgewählt, die als Analyten auf dem Referenzmaterial die Gruppe der höhermolekularen PAK repräsentieren sollen und für die analytische Standards erhältlich waren. Eine Auflistung dieser Auswahl – im Folgenden RM-PAK genannt – mit ihren Strukturformeln ist in **Abbildung 12** gezeigt.

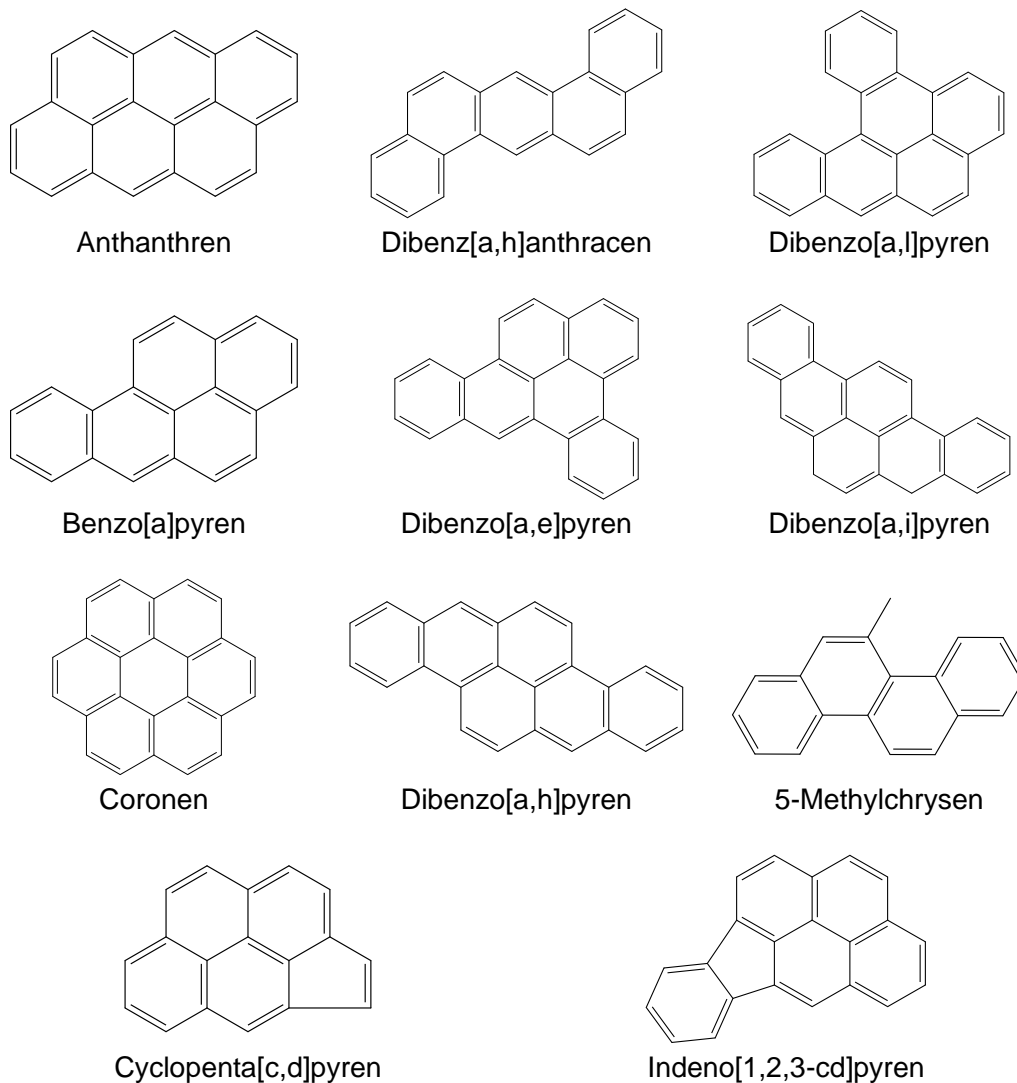


Abbildung 12: Strukturformeln der für das Referenzmaterial ausgewählten PAK (RM-PAK).

2.5.5.2 Etablierung und Qualitätssicherung des Herstellungsprozesses

Nach Auswahl der RM-PAK wurde der Herstellungsprozess für das Referenzmaterial entwickelt. Als Matrix wurden Quarzfaser- und PTFE-Filter sowie drei verschiedene Dosiersysteme getestet. Die Ergebnisse dieser Vortests sind in Kapitel 4.2.1 dargestellt. Parameter wie das Dosiervolumen und die Aufzieh- und Dosiergeschwindigkeiten wurden für die Belegung mit analytischen Standards in Acetonitril optimiert. Die Entwicklung des Belegungsprozesses wurde kontinuierlich durch interne Tests mittels HPLC überwacht. Auf Basis der internen Tests wurde ein optimiertes Belegungsverfahren festgelegt.

Nach den internen Tests folgte die Einbindung von geeigneten externen Laboren, die sich als Kooperationspartner für dieses Projekt zur Verfügung gestellt haben. Eine Liste der teilnehmenden Labore ist in **Tabelle 4** zu finden.

Tabelle 4: Übersicht über die an den Testreihen teilnehmenden Labore.

Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, DE	Istituto nazionale per l'assicurazione contro gli infortuni sul lavoro, IT	Schweizerische Unfallversicherungsanstalt, CH
Belgian Center for Occupational Hygiene, BE	Institut national de recherche et de sécurité, FR	UEG GmbH, DE
Berufsgenossenschaft Nahrungsmittel und Gastgewerbe Mannheim, DE	Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail, CA	University of Pretoria, ZA
Berufsgenossenschaft Nahrungsmittel und Gastgewerbe Potsdam, DE	Müller-BBM GmbH, DE	
Health and Safety Executive Science and Research Centre, GB	münster analytical solutions GmbH, DE	

Vor den eigentlichen externen Tests wurden an alle Labore analytische Standards verschickt, um den Teilnehmenden die Entwicklung bzw. Anpassung analytischer Methoden ohne zusätzliche Kosten zu ermöglichen. Labore mit bereits etablierten Methoden sollten den Gehalt der Standards bestätigen. Die Messung der Standards diente somit dem Abgleich der analytischen Methoden aller Labore. Anschließend wurden in mehreren Testserien belegte Filter an die Labore verschickt. Zwischen den Testserien wurden auf Basis der Ergebnisse der Teilnehmenden immer wieder Anpassungen am Produktionsprozess vorgenommen, um die Qualität des Referenzmaterials weiter zu verbessern. Den Abschluss bildete ein erster Ringversuch im Januar/Februar 2024. Die Ergebnisse dieses Ringversuchs sind in Kapitel 4.2.7 ausführlich dargestellt.

3 Material und Methoden

3.1 Chemikalien und Materialien

Die Chemikalien, Standards und Verbrauchsmaterial, das in dieser Arbeit genutzt wurden, sind in **Tabelle 31**, **Tabelle 32**, **Tabelle 33** und **Tabelle 34** in **Anhang 1** aufgelistet.

Die für die Belegung der Filter verwendeten Dosierlösungen werden als Mischung aus den jeweiligen Einzelstandards angesetzt. Die Verdünnung wird so gewählt, dass eine Konzentration von 1 ng/mL pro PAK erreicht wird. Das Volumen richtet sich nach der Anzahl der zu belegenden Filter. Die Dosierlösung wird arbeitstäglich frisch angesetzt.

3.2 Analysegeräte

Für die Analytik mittels HPLC wird ein Gerät des Herstellers Agilent genutzt. Die Spezifikationen des Geräts sind in **Tabelle 5** zusammengefasst.

Tabelle 5: Spezifikationen des HPLC-Geräts.

Modell	Agilent 1260 Infinity II
Säulenofen	Agilent G7130A
Pumpe	Agilent G7112B
Autosampler	Agilent G7129A
DAD	Agilent G7117C
FLD	Agilent G7121B

Die Spezifikation des für die GC-MS-Analytik genutzten Geräts sind in folgender Tabelle zu finden.

Tabelle 6: Spezifikationen des GC-MS-Geräts.

Modell GC	Agilent 8890
Autosampler	Agilent 7650A
Einlasssystem	Agilent Multimode Inlet
Trägergas	Helium
Modell MS	Agilent 5977B
Ionisierungsart	EI mit 70 eV
Temperatur der Ionenquelle	325 °C
Analysator	Single Quadrupol
Messmodus	<i>Selected ion monitoring (SIM)</i>
Temperatur des Quadrupols	200 °C
Temperatur der MS-Transferleitung	320 °C

Genauere Angaben zu den Analysemethoden sind im nachfolgenden Kapitel zu finden.

3.3 Methoden

3.3.1 Analysemethoden

Die im Rahmen dieser Arbeit genutzten Methoden für HPLC und GC werden in den folgenden Tabellen zusammengefasst. Es handelt sich dabei um die am Ende der Methodenoptimierung etablierten Parameter. Dabei wird jeweils zwischen zwei Methoden differenziert: eine Methode zur Analyse aller ausgewählten PAK sowie eine Methode zur Analyse der RM-PAK. Die Methode zur Analyse aller PAK mittels HPLC ist in **Tabelle 7** zusammengefasst. In **Tabelle 36** ist dargestellt, welche Wellenlängen für die einzelnen Analyten herangezogen werden (s. **Anhang 2**).

Tabelle 7: Parameter der HPLC-Methode zur Analyse aller ausgewählten PAK.

Säule	MZ-PAH C18, 5 µm, 250 x 2,1 mm
Säulentemperatur	35 °C
Eluent	Wasser (A) und Acetonitril (B)
Gradient	Start: 50 % B, Fluss 0,3 mL/min 7-23 min: → 100 % B 32-33 min: → 1 mL/min
Laufzeit	42 min + 7 min post-run
Injektionsvolumen	10 µL
Autosampler-Temperatur	15 °C
DAD-Einstellungen	Signal A: 225 nm, Referenz 480 nm Signal B: 296 nm, Referenz 480 nm
FLD-Einstellungen	Anregungswellenlänge: 260 nm Emissionswellenlängen: Signal A: 320 nm (ab 10 min: 502 nm) Signal B: 405 nm Signal C: 430 nm Signal D: 452 nm PMT-Gain 11

Tabelle 8 fasst die Parameter der angepassten Methode zusammen, welche sich auf die Analyse der PAK für das Referenzmaterial beschränkt.

Tabelle 8: Parameter der HPLC-Methode zur Analyse der PAK für das Referenzmaterial.

Säule	MZ-PAH C18, 5 µm, 250 x 2,1 mm
Säulentemperatur	35 °C
Eluent	Acetonitril/Wasser (60/40 v/v) (A) und Acetonitril (B)
Gradient	Start: 60 % B, Fluss 0,3 mL/min 0-8 min: → 100 % B 45-46 min: → 60 % B
Laufzeit	46 min + 10 min post-run
Injektionsvolumen	12 µL
Autosampler-Temperatur	20 °C
DAD-Einstellungen	Signal A: 225 nm, Referenz 480 nm Signal B: 296 nm, Referenz 480 nm
FLD-Einstellungen	Anregungswellenlänge: 260 nm Emissionswellenlängen: Signal A: 502 nm Signal B: 405 nm Signal C: 430 nm Signal D: 452 nm PMT-Gain: 11

In folgender Tabelle sind die Parameter der GC-MS-Methode für die Analyse aller PAK aufgelistet.

Tabelle 9: Parameter der GC-MS-Methode zur Analyse aller PAK.

Säule	Agilent DB-EUPAH, 60 m x 0,25 mm x 0,25 µm
Liner	Agilent Ultra Inert Liner für splitlose Injektion mit Glaswolle
Injektionsvolumen	5 µL
Einlassmodus	<i>solvent vent</i> -Injektion
Injektionsparameter	60 °C für 0,03 min halten, dann mit 300 °C/min auf 320 °C, für 5 min halten Spülen mit 60 mL/min bei 2,53 min, Entlüftung mit 100 mL/min bei 5 psi
Septumpülung	3 mL/min
Temperaturprogramm Ofen	60 °C für 1 min halten 20 °C/min bis 320 °C, für 70 min halten
Fluss	1,5 mL/min
Laufzeit	84 min

Die Parameter für die angepasste Methode, welche zur Analyse der RM-PAK dient, sind in **Tabelle 10** beschrieben. Die Starttemperaturen des Ofenprogramms ist für Proben in Toluol angegeben. Bei der Nutzung anderer Lösungsmittel muss die Temperatur an den Siedepunkt angepasst werden.

Tabelle 10: Parameter der GC-MS-Methode zur Analyse der PAK für das Referenzmaterial.

Säule	Restek Rxi-5Sil MS, 30 m x 0,25 mm x 0,5 µm
Liner	Agilent Ultra Inert Liner für splitlose Injektion ohne Glaswolle
Injektionsvolumen	1 µL
Einlassmodus	<i>pulsed splitless</i> -Injektion
Injektionsparameter	330 °C, 40 psi für 0,5 min Spülen mit 50 mL/min ab 0,9 min
Septumspülung	3 mL/min
Temperaturprogramm Ofen	90 °C für 2 min 40 °C/min bis 330 °C, für 12 min halten
Fluss	1,4 mL/min
Laufzeit	20 min + 12 min post-run

Tabelle 11 zeigt, welche Quantifizier- und Qualifizier-Ionen pro PAK erfasst werden und welcher interne Standard zur Quantifizierung herangezogen wird.

Tabelle 11: Übersicht über die verwendeten Quantifier- und Qualifier-Ionen sowie die internen Standards.

Substanz	Quantifier-Ion	Qualifier-Ionen	Interner Standard
IS Naphthalin-D8	136,1	108,1 & 137,1	-
Naphthalin	128,1	129,1 & 127,1	Naphthalin-D8
1-Methylnaphthalin	142,1	141,1 & 115,1	Naphthalin-D8
2-Methylnaphthalin	142,1	141,1 & 115,1	Naphthalin-D8
1,6-Dimethylnaphthalin	156,1	141,1 & 155,1	Naphthalin-D8
2,3-Dimethylnaphthalin	156,1	141,1 & 155,1	Naphthalin-D8
Acenaphthylen	152,1	153,1 & 76,1	Chrysen-D12
Acenaphthen	153,1	154,1 & 152,1	Chrysen-D12
Fluoren	166,1	165,1 & 82,2	Chrysen-D12
Phenanthren	178,1	179,1 & 176,1	Chrysen-D12
Anthracen	178,1	179,1 & 176,1	Chrysen-D12
Fluoranthren	202,1	203,1 & 200,1	Chrysen-D12
Pyren	202,1	203,1 & 200,1	Chrysen-D12
1-Methylpyren	216,1	215,1 & 94,9	Chrysen-D12
Benzo[a]anthracen	228,1	226,1 & 114,1	Chrysen-D12
IS Chrysen-D12	240,2	236,2 & 241,2	-
Chrysen	228,1	226,1 & 113,1	Chrysen-D12
Cyclopenta[c,d]pyren	226,1	227,1 & 224,1	Benzo[a]pyren-D12
5-Methylchrysen	242,2	241,1 & 119,9	Chrysen-D12
Benzo[b]fluoranthren	252,1	253,1 & 126,1	Benzo[a]pyren-D12
Benzo[k]fluoranthren	252,1	253,1 & 126,1	Benzo[a]pyren-D12
Benzo[e]pyren	252,1	253,1 & 126,1	Benzo[a]pyren-D12
IS Benzo[a]pyren-D12	264,2	265,2 & 132,1	-
Benzo[a]pyren	252,1	253,1 & 126,1	Benzo[a]pyren-D12
Perylen	252,1	253,1 & 126,1	Benzo[a]pyren-D12
Indeno[1,2,3-cd]fluoranthren	276,1	277,1 & 138,1	Benzo[g,h,i]perylene-D12
Dibenzo[a,h]anthracen	278,1	279,1 & 139,1	Benzo[g,h,i]perylene-D12
Indeno[1,2,3-cd]pyren	276,1	277,1 & 138,1	Benzo[g,h,i]perylene-D12
IS Benzo[g,h,i]perylene-D12	288,2	289,2 & 144,1	-
Benzo[g,h,i]perylene	276,1	277,1 & 138,1	Benzo[g,h,i]perylene-D12
Anthanthren	276,1	277,1 & 138,1	Benzo[g,h,i]perylene-D12
Dibenzo[a,e]fluoranthren	302,2	303,2 & 151,1	Benzo[g,h,i]perylene-D12
Dibenzo[a,l]pyren	302,2	303,2 & 151,1	Benzo[g,h,i]perylene-D12
Dibenzo[a,e]pyren	302,2	303,2 & 151,1	Benzo[g,h,i]perylene-D12
Coronen	300,1	301,1 & 149,9	Benzo[g,h,i]perylene-D12
Dibenzo[a,i]pyren	302,2	303,2 & 151,1	Benzo[g,h,i]perylene-D12
Dibenzo[a,h]pyren	302,2	303,2 & 151,1	Benzo[g,h,i]perylene-D12

3.3.2 Kalibration und Validierung

Für den ersten Teil dieser Arbeit, den Methodenvergleich zwischen HPLC und GC, wurden zunächst die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen anhand des Signal/Rausch-Verhältnisses bestimmt. Die Nachweisgrenze liegt dabei bei einem Signal/Rausch-Verhältnis von 3, die Bestimmungsgrenze bei einem Verhältnis von 10.^[129] Zur Bestimmung der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen werden Proben in einem Konzentrationsbereich zwischen 0,1 und 100 ng/mL gemessen. Die Abstufung erfolgt dabei bis 1 ng/mL in Schritten von 0,1 ng/mL, bis 10 ng/mL in Schritten von 1 ng/mL und darüber in Schritten von 10 ng/mL.

Als Teil der Methodvalidierung wird auch die Linearität über den gesamten Messbereich getestet. Dazu werden mehrere 10-Punkt-Kalibrationen, jeweils über eine Zehnerpotenz, vermessen, um aus diesen das Bestimmtheitsmaß R^2 zu berechnen.^[129] Die 10-Punkt-Kalibrationen decken dabei einen Bereich von 0,1 bis 900 ng/mL ab. Der Konzentrationsbereich, für den das Bestimmtheitsmaß berechnet wird, wird für jeden PAK an die zuvor bestimmten Bestimmungsgrenzen angepasst, sodass nur Bestimmtheitsmaße oberhalb der Bestimmungsgrenzen berechnet werden.

Für arbeitstägliche Messungen wird sowohl für die HPLC als auch für die GC eine Messkalibration über acht Punkte in Dreifachbestimmung erstellt. Idealerweise erstreckt sich diese Messkalibration über den gesamten relevanten Messbereich,¹ wobei die untersten Kalibrationspunkte knapp oberhalb der Bestimmungsgrenze liegen sollten. Die Güte der Kalibrierung wird anhand des Bestimmtheitsmaßes R^2 bewertet. Zudem wird mithilfe des Mandel-Tests beurteilt, ob eine quadratische Regression zu besseren Ergebnissen führen würde als die üblicherweise genutzte lineare Regression.^[130]

Nach der Anpassung der Methoden an die RM-PAK werden erneute Messkalibrationen durchgeführt. Diese beschränken sich jedoch auf 10-Punkt-Kalibrationen in Doppelbestimmungen im Messbereich von 1 bis 100 ng/mL.

3.3.3 Belegung der Filter

Im Rahmen der Etablierung des Produktionsprozesses des Referenzmaterials werden verschiedene Belegungsmethoden mit unterschiedlichen Hilfsmitteln getestet (vgl. Kapitel 4.2.2). Zunächst wird die Belegung mithilfe von zwei verschiedenen piezoelektrischen Dosiergeräten durchgeführt. Bei beiden

¹ Der relevante Messbereich ist definiert als 1/5 der Akzeptanzkonzentration von BaP bis zum Zweifachen der Toleranzkonzentration. Diese liegen bei 70 bzw. 700 ng/m³. Geht man von einem Probenahmevolumen von 1,2 m³ und einer Extraktion mit 2 mL Lösemittel aus, ergibt sich ein Mindestmessbereich von 8,4 bis 840 ng/mL.

Geräten werden vor der eigentlichen Belegung die Dosierparameter mithilfe der integrierten Kalibrierfunktion für das Tropfenvolumen angepasst, um die gewünschte Tropfenanzahl und -größe zu erreichen. Anschließend werden die Filter in eine Filterhalterung (s. **Abbildung 13**) gelegt und im Dosiergerät positioniert. Die Dosierlösung wird wie in Kapitel 3.1 beschrieben hergestellt. Nach der Dosierung der Tropfen werden die Filter noch in der Filterhalterung im Abzug gelagert, bis sie vollständig getrocknet sind (ca. 5-20 min). Danach werden die Filter aus der Filterhalterung gelöst und in 8-mL-Glasvials überführt. Abschließend erfolgt entweder direkt die Aufarbeitung entsprechend der in Kapitel 3.3.4 beschriebenen Methode oder die Lagerung bei ca. 5 °C.



Abbildung 13: Filterhalterungen für den Nanoliter-Dispenser (oben, gefrästes Aluminium) und für den Mikrodosierer (unten, beschichteter Edelstahl).

Eine andere Methode zur Belegung der Filter ist die Verwendung einer Mehrfachdispenser-Pipette. Dazu werden die Filter auf ein beschichtetes Gitter gelegt. Anschließend wird die Dosierlösung (vgl. Kapitel 3.1) mithilfe der Mehrfachdispenser-Pipette bei Geschwindigkeitsstufe 4 auf die einzelnen Filter getropft (s. **Abbildung 14**). Der optimierte Herstellungsprozess sieht eine separate Dosierung des Mischstandards und des Dibenzo[a,l]pyren-Einzelstandards vor (vgl. Kapitel 4.2.5.1). Die Filter verbleiben im Abzug, bis sämtliches Lösemittel verdunstet ist (ca. 1-2 h). Danach werden die Filter in 8-mL-Glasvials überführt und entweder wie in Kapitel 3.3.4 beschrieben aufgearbeitet oder im Kühlschrank bei ca. 5 °C gelagert.

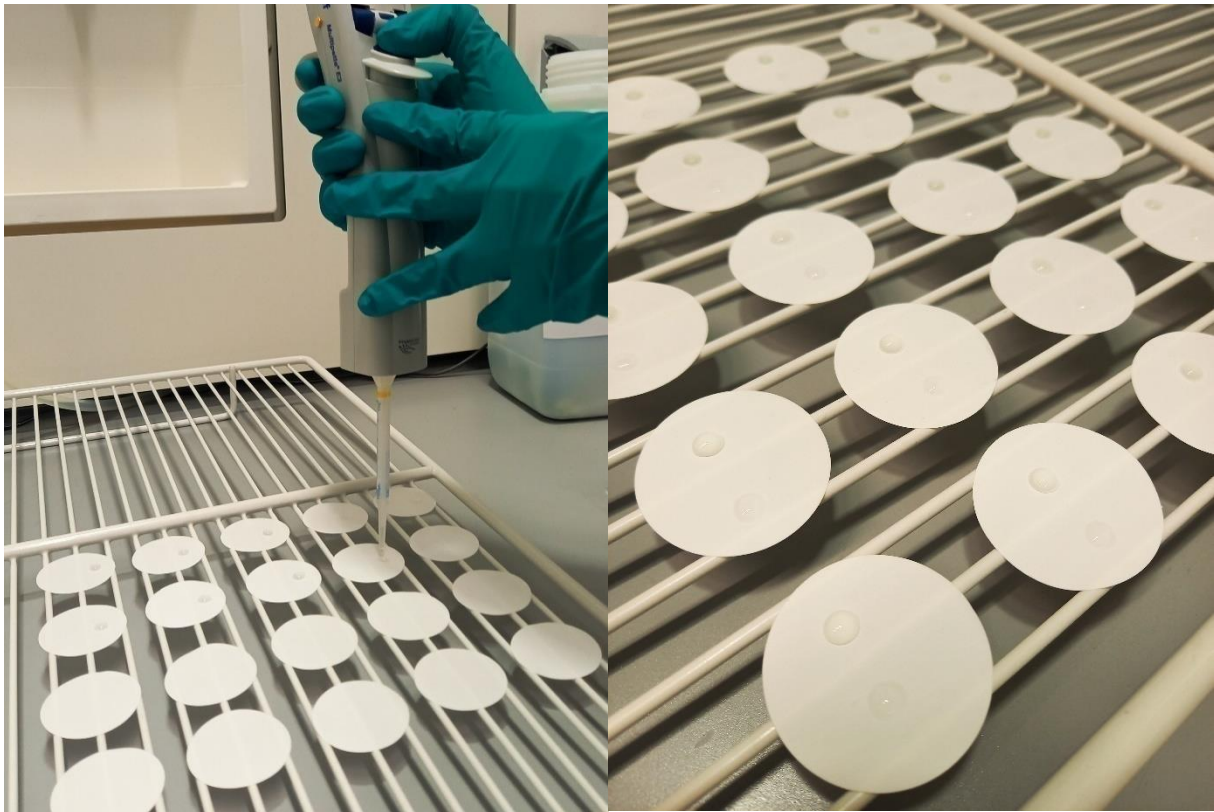


Abbildung 14: Belegung mittels Mehrfachdispenser-Pipette und Nahaufnahme der belegten Filter.

3.3.4 Probenaufarbeitung

Die in diesem Projekt genutzte Methode zur Aufarbeitung von dotierten Filtern orientiert sich an der am IFA verwendeten Routinemethode^[114] und besteht aus folgenden Schritten: Zunächst wird der Filter zweimal mittig gefaltet und in ein 8-mL-Glasvial überführt. Anschließend wird der Filter mithilfe einer Kolbenhubpipette mit 2 mL einer Extraktionslösung überschichtet. Für die Analyse mittels HPLC wird eine Lösung aus Acetonitril und Methanol im Verhältnis 60:40 (v/v) verwendet, für GC-Analysen Toluol mit internem Standard. Das Volumen des internen Standards und der Extraktionslösung wird dabei angepasst, sodass die Konzentration des internen Standards ca. 100 ng/mL beträgt. Daraufhin wird die Probe für eine Stunde ins Ultraschallbad gestellt sowie eine Stunde bei 1000 rpm geschüttelt. Ca. 1 mL des Überstands wird mithilfe eines Spritzenvorsatzfilters aus PTFE mit einer Porengröße von 0,45 µm in ein 1,5-mL-Autosampler-Vial überführt.

4 Ergebnisse & Diskussion

4.1 Teil 1: Methodenvergleich

Für die begleitende Qualitätssicherung des Referenzmaterials wurden zwei analytische Methoden basierend auf GC-MS und HPLC-FLD für die Messung von höhermolekularen PAK aus Luftproben ausgearbeitet. Beide Methoden wurden validiert und die Parameter wie Sensitivität und Linearität miteinander verglichen. Für die ausgewählten PAK wurde bisher kein Vergleich von GC-/HPLC-Methoden durchgeführt. Ein Methodenvergleich wurde für eine Auswahl der EPA-PAK mit drei bis sechs Benzolringen bereits von Wise et al. im Jahr 1990 durchgeführt.^[131] Die Gruppe kam zu dem Ergebnis, dass die Messungen der HPLC und der GC für die meisten PAK gut vergleichbar sind. Bei Substanzen mit geringer Fluoreszenz (beispielsweise Benzo[ghi]perylen und Indeno[1,2,3-cd]pyren) erwies sich die GC als geeigneteres Verfahren.

Für den Methodenvergleich im Rahmen dieser Arbeit wurde eine größere Auswahl an PAK und insbesondere an höhermolekularen PAK (vgl. Kapitel 2.5.5.1, **Tabelle 3**) getroffen. Dabei wurden die EPA-PAK, die von der EU priorisierten PAK (s. Kapitel 2.1.4, **Tabelle 1**) sowie einige methylierte Verbindungen berücksichtigt. Anthanthren und Coronen sind neben den Dibenzopyren-Isomeren als Beispiele für Verbindungen mit sechs und sieben Benzolringen inkludiert.

4.1.1 Methodenentwicklung – HPLC

Als Basis für die Entwicklung einer HPLC-Methode für die erweiterte Auswahl an PAK wurde die im IFA etablierte Methode genutzt (s. Kapitel 2.4.2, **Tabelle 2**). Diese wurde zunächst so angepasst, dass eine bestmögliche Trennung aller Analyten erreicht wird. Problematisch waren die (Di-)Methylnaphthaline, die zu den am frühesten eluierenden Substanzen gehören. Daher konnte hier vor allem durch eine Anpassung der anfänglichen Zusammensetzung des Laufmittels eine Verbesserung der Trennung erzielt werden. Weitere kritische Paare waren Benzo[b]fluoranthen und Perylen sowie Dibenzo[a,e]fluoranthen und Indeno[1,2,3-cd]pyren. Beide Paare konnten durch die Anpassung des Laufmittelgradienten getrennt werden. Die Verkürzung der Retentionszeit und Verbesserung der Peakform der spät eluierenden höhermolekularen PAK wurde mithilfe eines Flussgradienten (von 0,3 auf 1 mL/min) und einer Erhöhung der Säulentemperatur (von 25 auf 35 °C) erreicht. Der Autosampler wurde auf 15 °C temperiert, um konstante Retentionszeiten zu erhalten. Das Injektionsvolumen musste wegen der Beschränkung durch die Injektionsspritze auf 10 µL reduziert werden.

Zur Steigerung der Sensitivität wurde für jeden Analyt entschieden, welcher Detektor und welches Signal für die Quantifizierung herangezogen wird. Von den ursprünglich verwendeten Wellenlängen im FLD (320/502 nm, 400 nm, 430 nm, 452 nm) wurde zur Optimierung lediglich die Wellenlänge von 400 nm auf 405 nm verändert, da sie bei den mit dieser Wellenlänge gemessenen PAK näher am Absorptionsmaximum liegt (vgl. **Tabelle 36** in **Anhang 2**). Die im DAD eingestellten Wellenlängen wurden unverändert übernommen, allerdings wird für die Quantifizierung der ausgewählten PAK nur die Wellenlänge 225 nm herangezogen. Das Signal mit der Wellenlänge 296 nm wird zur Kontrolle beibehalten. Ein beispielhaftes Chromatogramm mit den wichtigsten FLD-Signalen (320, 405 und 430 nm) ist für eine Probe mit 80 ng/mL in **Abbildung 15** dargestellt. Einige PAK sind namentlich hervorgehoben.



Abbildung 15: Beispielchromatogramm einer HPLC-Messung mit dem Gesamtchromatogramm (oben) und den wichtigsten FLD-Signalen (320, 405 und 430 nm) mit einigen markierten PAK.

Da das verwendete HPLC-System auch mit einem MS ausgestattet ist und dies in vielen Fällen zu einer Steigerung der Sensitivität führt,^[132] wurde auch eine HPLC-MS Kopplung mit einem Triple-Quadrupol als Detektor getestet. Als Ionisationsquellen standen eine ESI- sowie eine APCI-Quelle zur Verfügung. Die Nutzung der ESI-Quelle wurde aufgrund der geringen Ionisierung von unpolaren Substanzen nicht eingesetzt. Für die Entwicklung einer APCI-Methode dienten Angaben aus der Literatur zur Orientierung,^[14, 112, 133] die Ionenausbeute war unter diesen Bedingungen für die Detektion im MS jedoch nicht ausreichend. Diverse Parameter wie die Spannung der Corona-Nadel, die Flussrate des Stickstoffs zur Vernebelung der Analyten oder der Fluss und die Temperatur des Trocknungsgases wurden variiert, um die Ionenausbeute zu verbessern. Es konnte jedoch keine zufriedenstellende Methode entwickelt werden. Dies ist unter anderem auf den Einfluss des Lösungsmittels zurückzuführen. Bei der zuvor entwickelten HPLC-Methode zur optimalen Trennung der Analyten besteht das Laufmittel anfangs aus einer Mischung aus Acetonitril und Wasser. Diese Mischung reduziert die Ionenausbeute.^[134] Auch zum Ende der Messung hin, wenn das Laufmittel aus reinem Acetonitril besteht, kann keine nennenswerte Verbesserung der Ionenausbeute erzielt werden. In der Literatur wurde die geringe Signalintensität bei der Verwendung von Acetonitril als Lösungsmittel in Kombination mit Stickstoff als MS-Gas ebenfalls bereits beobachtet.^[135]

Die geringe Ionenausbeute ist auch auf die Protonenaffinitäten/Ionisierungsenergien von PAK zurückzuführen. Für die Ionisierung mittels Protonentransfer muss die Protonenaffinität des Analyten höher sein als die konkurrierender Moleküle. Es ist beschrieben, dass Acetonitril ein stabiles Trimer mit der Summenformel $(\text{CH}_3\text{CN})_3$ bildet, welches eine Protonenaffinität von 918,2 kJ/mol aufweist.^[136] Die Protonenaffinitäten von PAK liegen in einem vergleichbaren Bereich, für BaP beispielsweise bei 923,8 kJ/mol. Die Ionisierung der PAK durch Protonentransfer wird also dadurch verhindert bzw. reduziert, dass das Acetonitril-Trimer bereits den Großteil der Reaktant-Ionen aufgebraucht hat.^[137] Somit bleibt als Ionisierungsreaktion für die PAK nur noch der Ladungstransfer, z. B. mittels NO^+ . Hier ist die Ionisierungsenergie bzw. die Elektronenaffinität (im positiven bzw. negativen Modus) maßgeblich. BaP weist eine Ionisierungsenergie von 7,12 eV auf,^[138] was ein vergleichsweise niedriger Wert ist. Jedoch kann die Ionisierung trotz thermodynamisch günstigen Bedingungen durch andere Faktoren gehemmt werden. Bei der Nutzung von Acetonitril als Laufmittel besteht beispielsweise die Möglichkeit, dass sich durch die Aggregation des Analyten und des Lösemittels neutrale Cluster bilden, die die Ionisierung behindern.^[139] Auch die Geometrie der Ionenquelle scheint die Ionenausbeute zu beeinflussen.^[137]

Die beschriebenen Einflüsse erklären, warum die Messung von PAK mittels APCI-MS erschwert ist und keine ausreichend hohe Sensitivität erzielt. Beim direkten Vergleich zwischen HPLC-FLD und HPLC-APCI-MS wird deutlich, dass die Sensitivität des FLD bei der Messung von PAK über der mittels APCI-MS erreichten Sensitivität liegt; dies wird auch in der Literatur bestätigt.^[133]

4.1.2 Methodenvalidierung – HPLC

Für die Validierung der HPLC-FLD-Methode wurden entsprechend Kapitel 3.3.2 zunächst die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für jeden PAK ermittelt. Die Nachweisgrenzen liegen zwischen $\leq 0,1$ ng/mL und 10 ng/mL, die Bestimmungsgrenzen zwischen 0,1 ng/mL und 20 ng/mL. Die Einzelwerte sind in **Tabelle 37** in **Anhang 2** zu finden. Insgesamt ist kein Trend erkennbar, dass die Sensitivität mit der Höhe der molaren Masse der Analyten korreliert. Die große Spanne bei den Nachweis- und Bestimmungsgrenzen ist darauf zurückzuführen, dass einige PAK aufgrund ihrer starken Fluoreszenz und der guten Auflösung sehr gut zu quantifizieren sind (z. B. Chrysen), während andere PAK kaum voneinander getrennt werden können und/oder eine niedrige Fluoreszenz aufweisen.

Der Bereich, über den die Linearität der Methode untersucht wurde, erstreckte sich jeweils von der Bestimmungsgrenze eines PAK bis 900 ng/mL. Für die einzelnen Kalibrationsbereiche über jeweils eine Zehnerpotenz wurden für das Bestimmtheitsmaß R^2 Werte zwischen 0,71227 und 0,99691 erzielt. Die beste Linearität wurde in den Konzentrationsbereichen bis 100 ng/mL ermittelt; darüber nahm die Linearität für alle PAK ab. Aufgrund dessen wurde die Messkalibration für die HPLC-Methode nur bis 200 ng/mL angesetzt. Eine Übersicht über die Einzelwerte für die Linearität ist in **Tabelle 39** in **Anhang 2** zu finden. Drei PAK wurden für die weitere Betrachtung ausgeschlossen: Für Phenanthren war oberhalb einer Konzentration von 10 ng/mL keine ausreichende Linearität feststellbar; ebenso wurden Cyclopenta[c,d]pyren und Indeno[1,2,3-cd]fluoranthen nicht berücksichtigt, da die Quantifizierung aufgrund der Peakform unzuverlässig war.

Für die Messkalibration wurde eine 8-Punkt-Kalibration von 1-200 ng/mL angestrebt. Für PAK mit einer Bestimmungsgrenze > 1 ng/mL wurden die Messpunkte so gewählt, dass für diese Analyten mindestens sechs Kalibrierpunkte vorliegen. Anhand der Ergebnisse des Mandel-Tests wurde beurteilt, ob eine lineare oder eine quadratische Regression die Verteilung der Messergebnisse besser beschreibt. Das Bestimmtheitsmaß R^2 der entsprechenden Regressionsgeraden wurde als Maß für die Güte der Korrelation und der Kalibrierung herangezogen. Für sieben der 31 untersuchten PAK erzielte die quadratische Regression bessere Ergebnisse, bei allen anderen PAK die lineare Regression. Dies wurde mithilfe einer Residualanalyse weitestgehend bestätigt. Dabei wurden R^2 -Werte zwischen 0,94195 und 0,99979 bestimmt. Auch wenn die quadratische Regressionsfunktion in einigen Fällen besser zu den Messwerten passt, kann bei allen Analyten eine gute Linearität beobachtet werden. Die Einzelwerte jedes einzelnen PAK sind in **Tabelle 13** in Kapitel 4.1.5 zu finden.

4.1.3 Methodenentwicklung – GC-MS

Als Grundlage für die Entwicklung der GC-MS-Methode diente eine vom Hersteller des Geräts, Fa. Agilent, entwickelte und veröffentlichte Methode.^[140] Diese verwendet nicht nur das gleiche GC-MS-System, sondern auch die zunächst in diesem Projekt genutzte Säule (DB-EUPAH, allerdings mit einer Länge von 30 m statt 60 m). Die Herstellermethode ist vor allem für die Analytik der EU-PAK (s. Kapitel 2.1.4, **Tabelle 1**) geeignet und optimiert, sodass bei der Erweiterung um zusätzliche Analyten diverse Anpassungen notwendig sind. Die in der Methode genannten Parameter wurden hinsichtlich der Injektions- und Ofenvariablen zunächst vollständig übernommen und sind in **Tabelle 12** zusammengefasst.

Tabelle 12: Parameter der Ausgangsmethode für die GC-MS-Methodenentwicklung, übernommen von der Fa. Agilent.

Säule	Agilent DB-EUPAH, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm
Liner	Agilent Ultra Inert Liner für splitlose Injektion mit Glaswolle
Injektionsvolumen	1 µL
Einlassmodus	<i>Pulsed splitless</i> -Injektion
Einlasstemperatur	330 °C
Injektionsparameter	Puls: 40 psi bis 0,5 min Spülen: 50 mL/min bei 0,9 min
Septumspülung	3 mL/min
Temperaturprogramm Ofen	80 °C für 2 min halten 40 °C/min bis 225 °C, für 6 min halten 2,5 °C/min bis 330 °C, für 4,5 min halten
Fluss	1 mL/min
Laufzeit	58,25 min
MS-Transferleitung	320 °C
Temperatur Ionenquelle	325 °C
Temperatur Quadrupol	200 °C

Zunächst wurde festgestellt, dass die eingebaute Säule durch die Maximaltemperatur von 330 °C im Injektor sowie im Ofen degradiert, sodass die Einlass- und die Endtemperatur des Ofenprogramms auf 320 °C reduziert wurden. Mit dem oben genannten Ofenprogramm lassen sich alle 34 PAK voneinander trennen, jedoch muss aufgrund der unterschiedlichen Länge der Säule die Laufzeit auf 110 min erhöht werden, um auch die spät eluierenden Substanzen zu erfassen.

Um die Laufzeit pro Messung zu reduzieren, wird die Fließgeschwindigkeit erhöht. Bei einem Fluss von 1,7 mL/min kann die Analysendauer auf ca. 75 min reduziert werden, allerdings kommt es bei einigen Peaks zu einer leichten Co-Elution. Als Kompromiss aus verkürzter Laufzeit und guter Trennung wird ein Fluss von 1,5 mL/min gewählt.

Auch durch eine Anpassung des Ofenprogramms kann die Messdauer reduziert werden. So wird die Starttemperatur auf 60 °C herabgesetzt, um die Peakform der früh eluierenden Substanzen zu verbessern. Anschließend wird die Ofentemperatur mit 20 °C/min auf die Endtemperatur von 320 °C erhöht und für 70 min gehalten. So ergibt sich eine Analysendauer von 84 min pro Messung.

Als nächstes soll durch die Änderung des Injektionsmodus' und der -parameter die Sensitivität der Methode verbessert. Am einfachsten ist dies durch eine Erhöhung des Injektionsvolumens möglich. Dies beeinflusst jedoch die Peakform und führt beispielsweise zu Fronting, wie in **Abbildung 16** (*pulsed splitless*-Modus) am Beispiel von 5-Methylchrysen zu sehen ist.

Um solche Peakdeformationen zu vermeiden, wird die *solvent vent*-Injektion genutzt, bei der der Großteil des Lösemittels verdampft und über ein Ventil entsorgt wird. Da die Siedepunkte aller PAK deutlich über den Siedepunkten der genutzten Lösemittel liegen, können die Analyten unzersetzt auf die Trennsäule überführt werden. Dazu wird für das Inlet ein Temperaturprogramm erstellt, welches knapp unterhalb der Siedetemperatur des Lösemittels beginnt und bei einer ähnlichen Temperatur wie das Ofenprogramm endet. Für n-Hexan (Siedepunkt 69 °C) wird daher 60 °C als Starttemperatur ausgewählt. Als weitere Ausgangsparameter werden ein Entlüftungsdruck von 5 psi und eine Entlüftungsgeschwindigkeit von 100 mL/min ausgewählt. Durch die so ermittelte Injektionsmethode kann die Peakform deutlich verbessert werden (s. **Abbildung 16**). Jedoch ist zu beachten, dass sich durch die Differenz zwischen Start- und Endtemperatur des Injektors die Gesamtzeit pro Messung erhöht, da der Injektor zunächst wieder auf 60 °C abkühlen muss. So dauert eine Messung insgesamt etwa zwei Stunden.

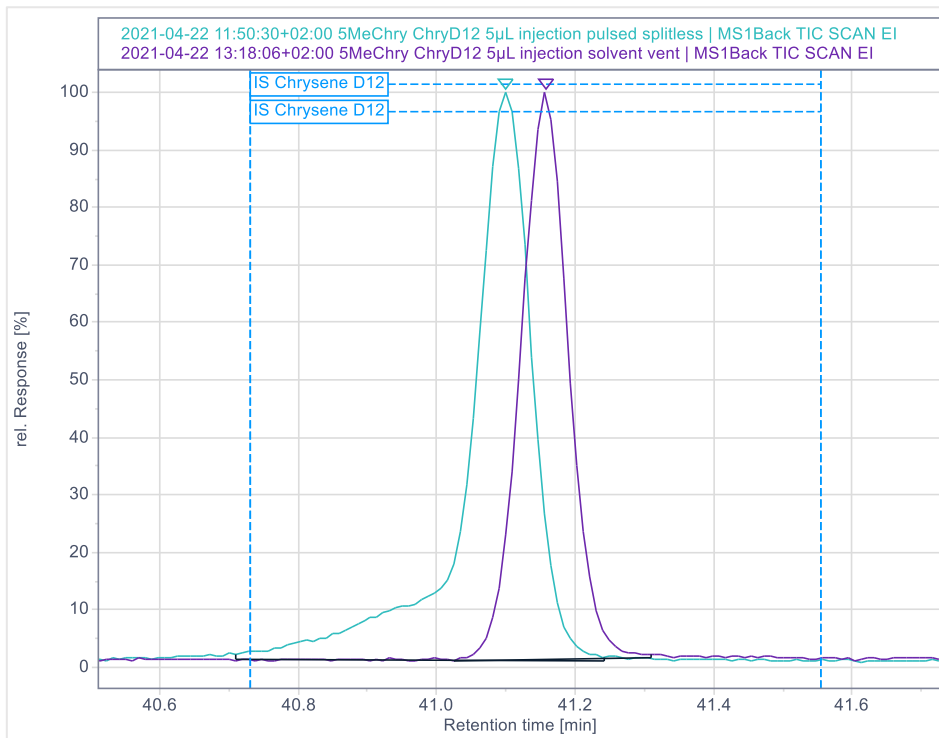


Abbildung 16: Vergleich der Injektion von 5-Methylchrysen im pulsed splitless-Modus (türkis) bzw. im solvent vent-Modus (lila).

Die finalen Parameter der GC-MS-Methode für die erweiterte Auswahl an PAK sind **Tabelle 9** in Kapitel 3.3.1 zu entnehmen.

Abschließend wurde für jeden Analyt das optimale m/z -Verhältnis für die Quantifizierung im SIM-Modus ermittelt, indem ein vollständiges Massenspektrum jeder Einzelsubstanz aufgenommen wurde. Bei den meisten PAK dominiert der Ladungstransfer als Ionisierungsreaktion,^[141] daher wird zumeist das Molekülion M^+ als Quantifier-Ion genutzt. Zusätzlich werden zwei Qualifier-Ionen je Analyt bestimmt und die ausgewählten m/z -Verhältnisse auf mehrere Zeitfenster aufgeteilt. Dadurch können mehr Datenpunkte pro m/z -Verhältnis gemessen werden. Die für jeden PAK verwendeten Quantifier- und Qualifier-Ionen sind in **Tabelle 11** in Kapitel 3.3.1 zusammengefasst. **Abbildung 17** zeigt beispielhaft ein Chromatogramm einer Messung bei 360 ng/mL mit der finalen Methode.

4 Ergebnisse & Diskussion

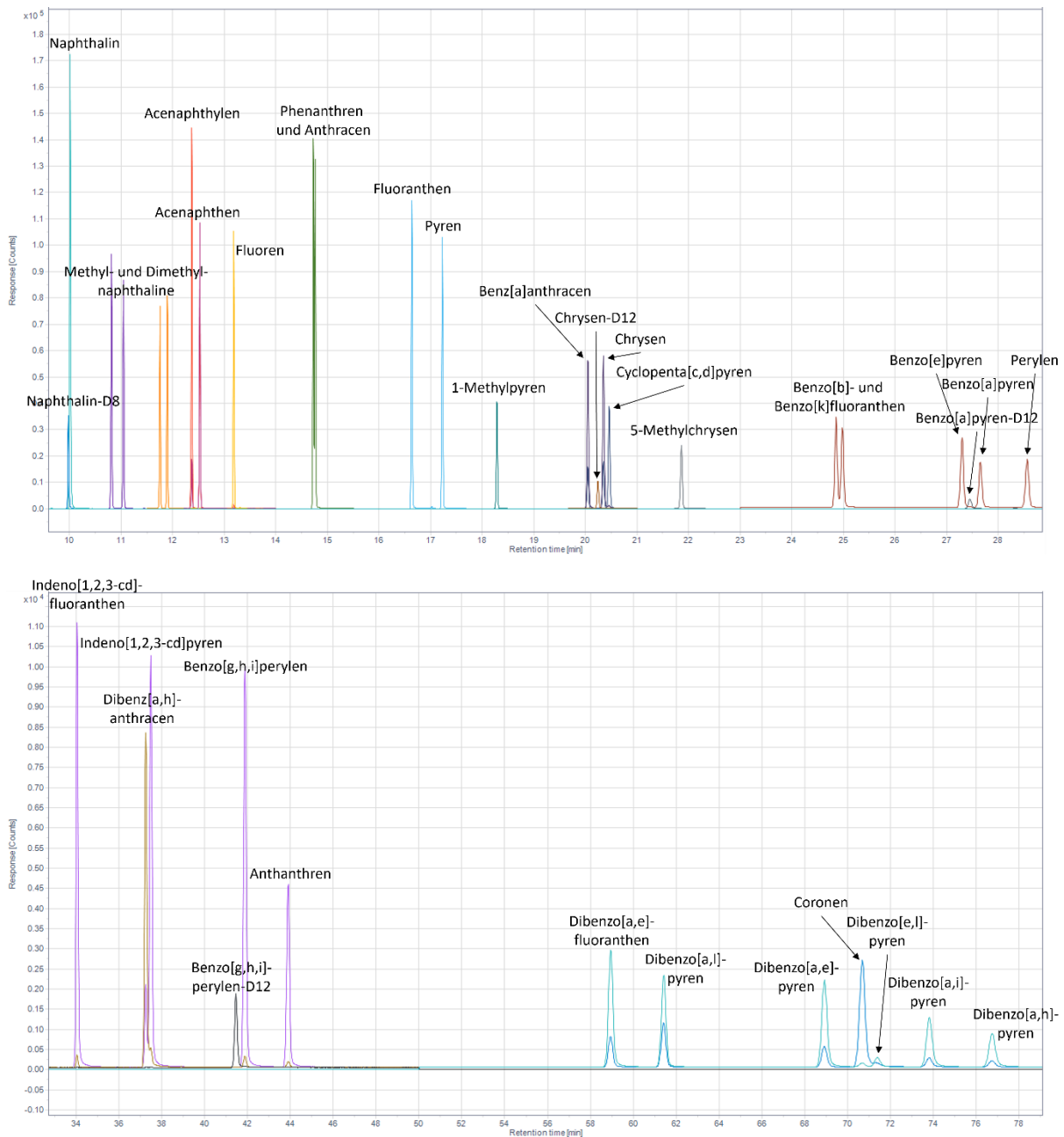


Abbildung 17: Beispielchromatogramm einer GC-MS-Messung aller ausgewählten PAK bei einer Konzentration von 360 ng/mL; die Skalierung zwischen den beiden Ausschnitten ist an den jeweils höchsten Peak angepasst.

4.1.4 Methodvalidierung – GC-MS

Bei der Validierung der GC-MS-Methode wurde analog zur HPLC-Methode verfahren. So wurden zunächst die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen bestimmt. Dabei wurden Nachweisgrenzen zwischen $\leq 0,1$ und 5 ng/mL sowie Bestimmungsgrenzen zwischen $\leq 0,1$ und 30 ng/mL ermittelt. Der Großteil der nieder- bis mittelmolekularen PAK (≤ 5 Ringe) weist Bestimmungsgrenzen von $\leq 0,3$ ng/mL auf. Bei höhermolekularen PAK (6- und 7-Ring-Systeme), z. B. den Dibenzopyren-Isomeren und

Coronen, wurden jedoch höhere Nachweis- und Bestimmungsgrenzen ermittelt. Die Einzelwerte für die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen sind in **Tabelle 37** in **Anhang 2** zu finden.

Anschließend wurde die Linearität entsprechend Kapitel 3.3.2 über den gesamten Messbereich bestimmt. Der Bereich, über den die Linearität der Methode untersucht wurde, erstreckte sich jeweils von der Bestimmungsgrenze eines PAK bis 900 ng/mL. Für die einzelnen Kalibrationsbereiche wurden Bestimmtheitsmaße zwischen 0,92089 und 0,99563 berechnet. Die Einzelwerte der Bestimmtheitsmaße sind in **Tabelle 38** in **Anhang 2** zu finden.

Für die Messkalibration wurde eine 8-Punkt-Kalibration von 1-850 ng/mL angestrebt. Für PAK mit einer Bestimmungsgrenze > 1 ng/mL wurden die Messpunkte so gewählt, dass für diese Analyten mindestens sechs Kalibrierpunkte vorliegen (mit Ausnahme von Dibenzo[e,l]pyren, da hier nur fünf Punkte möglich waren). Analog zur Validierung der HPLC-Methode wurde mithilfe des Mandel-Tests überprüft, ob eine lineare oder eine quadratische Regression besser zur Verteilung der Messpunkte passt. Die Ergebnisse des Mandel-Tests wurden mittels Residualanalyse bestätigt. Für alle PAK bis BaP kann die Verteilung der Messwerte besser mit einer quadratischen Regressionsfunktion beschrieben werden. Bei allen PAK mit mindestens sechs Ringen sowie Perylen und Dibenz[a,h]anthracen hingegen passt eine lineare Regression besser. Die Bestimmtheitsmaße der jeweils am besten passenden Regressionsfunktion liegen zwischen 0,98302 und 0,99999. Auch die Bestimmtheitsmaße der linearen Regressionsfunktionen erreichen einen Wert von mindestens 0,97455, was auf eine gute Linearität der Methode hindeutet.

4.1.5 Vergleich der beiden Methoden

Sensitivität:

Zum Vergleich der Sensitivität der beiden Methoden werden die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen entsprechend **Tabelle 37** in **Anhang 2** herangezogen. In der folgenden Abbildung sind beide Kennwerte jeweils für beide Methoden als Mittelwerte über alle Analyten mit der gleichen Anzahl an Benzolringen dargestellt.

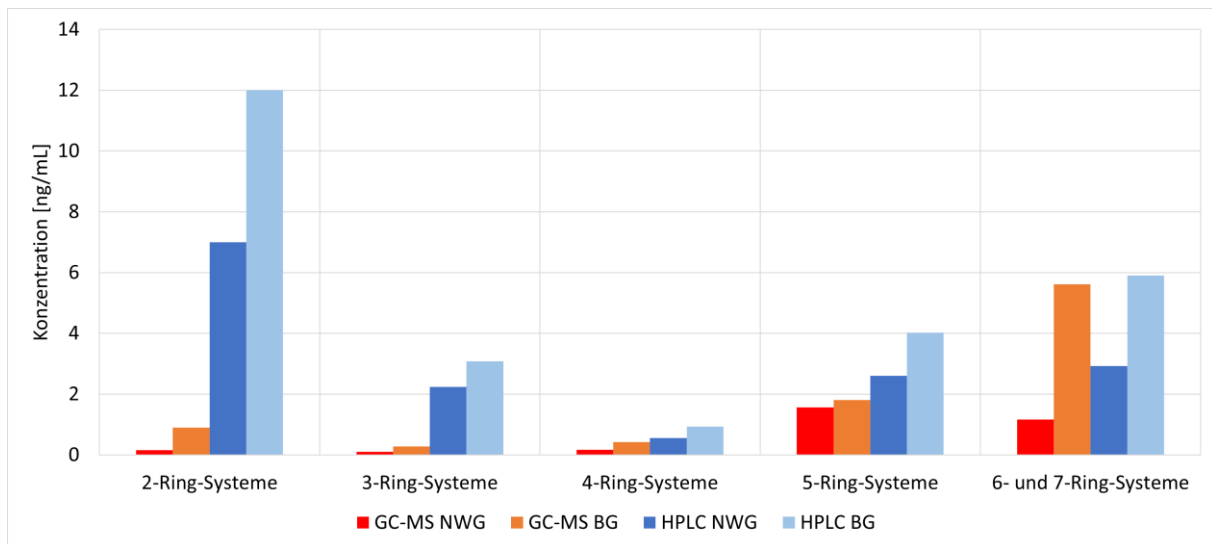


Abbildung 18: Vergleich der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für die HPLC- und die GC-MS-Methode, zusammengefasst als Mittelwert über alle Analyten jeweils mit der gleichen Anzahl an Benzolringen.

Beim Vergleich der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen wird deutlich, dass die mit der GC-MS-Methode ermittelten Werte bei den meisten Analyten niedriger sind. Bei ca. zwei Drittel der Analyten liegen die beiden Methoden jedoch in der gleichen Größenordnung. Zudem liegt das Optimum bei beiden Methoden im Bereich der 3- und 4-Ring-Systeme. Für nieder- bis mittelmolekulare PAK (≤ 5 Ringe) liefert die GC-MS-Methode durchgängig niedrigere Werte. Für einige der höhermolekularen PAK ändert sich dieser Trend, z. B. bei den meisten Dibenzopyren-Isomeren oder Anthanthren; dort weist die HPLC-Methode eine höhere Sensitivität auf.

Diese Ergebnisse decken sich weitestgehend mit den Erwartungen. So eignet sich die GC für schwerflüchtige Substanzen wie höhermolekulare PAK eher weniger, da diese aufgrund des hohen Siedepunkts schwieriger zu verdampfen sind. So kann es zu Rückständen im Injektor und verbreiterten Peakformen kommen, was die Sensitivität der Methode verringert. Dies wird dadurch deutlich, dass die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen mit steigender Molekülmasse der Analyten tendenziell zunehmen. Die starke Fluoreszenz der meisten PAK ermöglicht hingegen eine gute Detektion mittels HPLC-FLD. Die teils sehr hohen Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der HPLC-Methode sind auf die schwierige Integration nah beieinander liegender Peaks zurückzuführen. Durch eine bessere Trennung könnte die Sensitivität für einige der Analyten möglicherweise erhöht werden.

In den hier durchgeführten Versuchen ist die GC-MS-Methode beim direkten Vergleich mit der HPLC-Methode bei den meisten Analyten empfindlicher. Jedoch konnte gezeigt werden, dass sich dieser Trend bei den schwerflüchtigen PAK ändert. In der Literatur finden sich widersprüchliche Angaben, welches der beiden Analysensysteme die bessere Sensitivität bei PAK aufweist. Einige Studien berichten von einer höheren Empfindlichkeit der GC-MS^[1, 142-143], andere stellen bei HPLC-Methoden niedrigere Detektionslimits fest.^[144-145] Die Studien beziehen sich in den meisten Fällen auf die 16 EPA-

PAK, aber auch hier ist der Trend erkennbar, dass die Sensitivität der GC-MS-Methode mit steigender molekularer Masse der Analyten tendenziell abnimmt.

Linearität:

In **Abbildung 19** sind die Bestimmtheitsmaße der beiden mittleren Bereiche (1-10 ng/mL und 10-100 ng/mL) für die HPLC- und die GC-MS-Methode dargestellt, zusammengefasst für alle Analyten mit jeweils derselben Ringanzahl. Für einige Analyten bzw. Messbereiche liegen keine Daten zur Linearität vor; dies ist auf die hohe Bestimmungsgrenze zurückzuführen (z. B. bei den beiden Dimethylnaphthalinen bei der Messung mittels HPLC).

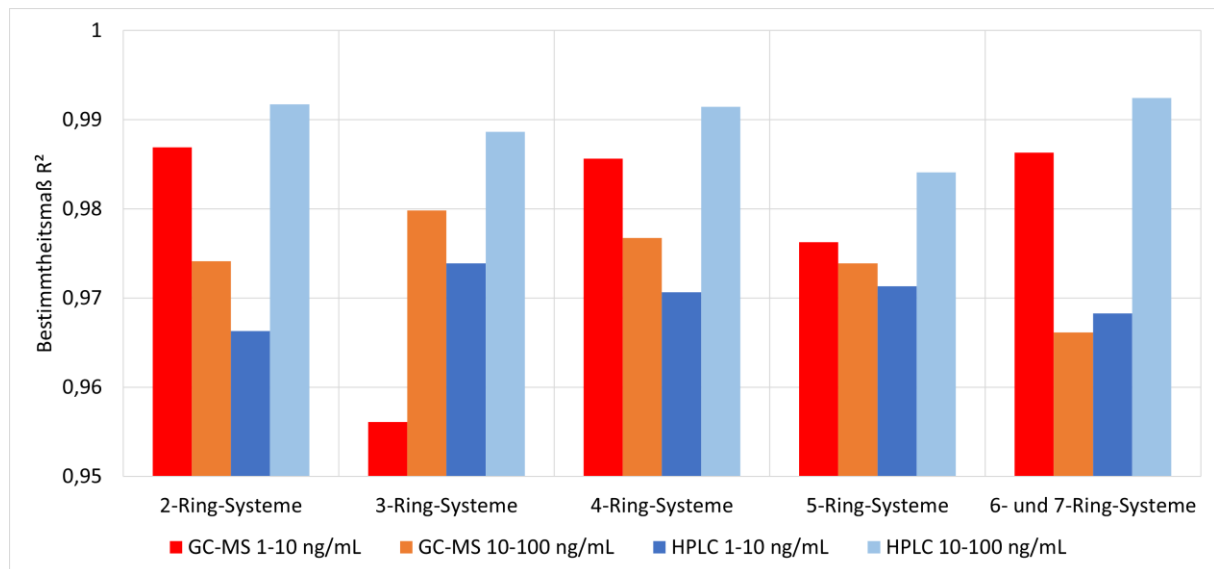


Abbildung 19: Vergleich der Linearität der beiden Methoden für die Messbereiche 1-10 ng/mL und 10-100 ng/mL.

Allgemein lässt sich feststellen, dass die HPLC-Methode im Bereich 10-100 ng/mL die besten Werte für das Bestimmtheitsmaß aufweist. Die Werte der HPLC-Methode für den niedrigeren Bereich von 1-10 ng/mL liegen in fast allen Fällen darunter. Dies bestätigt die Schlussfolgerungen vom Vergleich der Sensitivität, da das Signal/Rausch-Verhältnis der Messung im niedrigen Konzentrationsbereich bei der HPLC zunimmt, was die Integration bzw. Auswertung des Chromatogramms erschwert.

Die Linearität verhält sich bei den meisten Analyten ähnlich, unabhängig von der Ringanzahl: Die Werte für die Messung mittels GC-MS im Bereich 1-10 ng/mL liegen ähnlich hoch wie die Werte für die HPLC-Methode im Bereich 10-100 ng/mL. Ebenso liegen die Bestimmtheitsmaße der jeweils anderen Bereiche nah beieinander. Dies bestätigt, dass die GC-MS-Methode auch bei niedrigen Konzentrationen eine gute Linearität aufweist, während für die HPLC-Methode ein kleinerer linearer Bereich ermittelt werden konnte.

Beim Vergleich der Bestimmtheitsmaße aller Bereiche liegen für die GC-MS-Methode drei Einzelwerte unterhalb von 0,95, was eine mäßige Korrelation kennzeichnet. Für die HPLC-Methode liegt in den

unteren drei Bereichen kein Wert unter 0,95, jedoch fast alle Werte aus dem obersten Bereich (90-900 ng/mL). So lässt sich schlussfolgern, dass die HPLC-Methode zwar eine bessere Linearität bei Konzentrationen zwischen 10-100 ng/mL aufweist, allerdings der eingeschränkte Messbereich berücksichtigt werden muss. Im Bereich 1-10 ng/mL liegen beide Methoden weitestgehend gleichauf, jedoch können die alkylierten Naphthaline sowie Naphthalin selbst im niedrigen Konzentrationsbereich nur mittels GC-MS quantifiziert werden, da die Bestimmungsgrenze der HPLC-Methode nicht ausreichend niedrig ist.

Messkalibration:

Vergleicht man die jeweils besten Regressionsfunktionen der beiden Methoden, ist auffällig, dass fast zwei Drittel der Analyten im GC-MS besser durch eine quadratische Funktion beschrieben werden. (s. **Tabelle 13**) Hingegen trifft dies in der HPLC nur auf wenige PAK zu. Bei beiden Methoden würde jedoch auch eine lineare Regression bei allen Analyten zu guten Ergebnissen führen. Stellt man die Bestimmtheitsmaße der jeweils besten Funktion gegenüber, wird deutlich, welches Analysensysteme bei welchen PAK die besseren Ergebnisse erzielt. Betrachtet man die niedermolekularen PAK mit bis zu vier Ringen, liegen die Bestimmtheitsmaße der GC-MS-Methode höher. Gleiches trifft auf die meisten PAK mit fünf Ringen zu. Bei den spät eluierenden höhermolekularen PAK (mit sechs und sieben Ringen) liegt das Bestimmtheitsmaß der HPLC-Methode höher. **Tabelle 13** fasst zusammen, welche Regressionsfunktion die Messwerte laut Mandel-Test besser abbildet und wie hoch das entsprechende Bestimmtheitsmaß ist. Anhand der Werte in der Tabelle wird deutlich, dass die Unterschiede zwischen der GC-MS- und der HPLC-Methode bei den meisten Analyten nur sehr gering sind. Die Abweichung zwischen den Bestimmtheitsmaßen liegt in den meisten Fällen unter 1 %. Die größte Differenz liegt bei 1,6-Dimethylnaphthalin vor (ca. 6 % Abweichung), gefolgt von den beiden zuletzt eluierenden Analyten Dibenzo[a,i]pyren und Dibenzo[a,h]pyren (jeweils ca. 1,5 % Abweichung). Somit wird erneut bestätigt, dass die beiden Systeme vor allem bei besonders leicht- und besonders schwerflüchtigen Analyten unterschiedlich gut abschneiden.

Tabelle 13: Übersicht über die am besten passende Regression und das entsprechende Bestimmtheitsmaß, jeweils für GC-MS und HPLC.

Analyt	GC-MS		HPLC	
	Regression	R ²	Regression	R ²
Naphthalin	Quadratisch	0,99983	Linear	0,99234
2-Methylnaphthalin	Quadratisch	0,99977	Linear	0,99783
1-Methylnaphthalin	Quadratisch	0,99982	Linear	0,99632
1,6-Dimethylnaphthalin	Quadratisch	0,99989	Linear	0,94195
2,3-Dimethylnaphthalin	Quadratisch	0,99985	Linear	0,98662
Acenaphthylen	Quadratisch	0,99937	Linear	0,99549
Acenaphthen	Quadratisch	0,99943	Linear	0,99755
Fluoren	Quadratisch	0,99912	Quadratisch	0,99832
Phenanthren	Quadratisch	0,99922	-	
Anthracen	Quadratisch	0,99995	Quadratisch	0,99799
Fluoranthren	Quadratisch	0,99958	Linear	0,99828
Pyren	Quadratisch	0,99999	Linear	0,99678
1-Methylpyren	Quadratisch	0,99996	Linear	0,99880
Benzo[a]anthracen	Quadratisch	0,99965	Linear	0,99674
Chrysen	Quadratisch	0,99997	Quadratisch	0,99898
Cyclopenta[c,d]pyren	Quadratisch	0,99994	-	
5-Methylchrysen	Quadratisch	0,99972	Quadratisch	0,99166
Benzo[b]fluoranthren	Quadratisch	0,99987	Linear	0,99867
Benzo[k]fluoranthren	Quadratisch	0,99876	Quadratisch	0,99150
Benzo[e]pyren	Quadratisch	0,9999	Linear	0,99829
Benzo[a]pyren	Quadratisch	0,99983	Quadratisch	0,98881
Benzo[j]fluoranthren	-		Linear	0,99884
Perylen	Linear	0,99919	Quadratisch	0,99800
Indeno[1,2,3-cd]fluoranthren	Linear	0,99789	-	
Dibenzo[a,h]anthracen	Linear	0,99729	Linear	0,99978
Indeno[1,2,3-cd]pyren	Linear	0,9973	Linear	0,99838
Benzo[g,h,i]perylen	Linear	0,99213	Linear	0,99824
Anthanthren	Linear	0,99809	Linear	0,99930
Dibenzo[a,e]fluoranthren	Linear	0,9976	Linear	0,99937
Dibenzo[a,l]pyren	Linear	0,9944	Linear	0,99782
Dibenzo[a,e]pyren	Linear	0,98749	Linear	0,99802
Coronen	Linear	0,99447	Linear	0,99267
Dibenzo[e,l]pyren	Linear	0,98302	-	
Dibenzo[a,i]pyren	Linear	0,98331	Linear	0,99894
Dibenzo[a,h]pyren	Linear	0,98369	Linear	0,99904

Fazit:

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die größten Unterschiede zwischen den beiden Methoden in der Sensitivität und der Linearität liegen. Beide Methoden sind gut für die Analyse von PAK geeignet. Allerdings weist die GC-MS-Methode Vorteile bei der Analyse von PAK mit ≤ 5 Ringen in Bezug auf die Sensitivität und Linearität auf, während die HPLC-Methode einen Vorteil bei schwerflüchtigen Analyten (6- und 7-Ring-Systeme) aufweist. Die HPLC-Methode hat einen kleineren linearen Bereich,

was bei Proben mit einem Analytgehalt $> 200 \text{ ng/mL}$ einen Verdünnungsschritt notwendig macht. Ein Vorteil der HPLC-Methode liegt in der kürzeren Analysendauer von ca. 50 min, die einer Dauer von ca. zwei Stunden mittels GC-MS gegenübersteht.

Im Allgemeinen führt die Nutzung des FLD bei der HPLC-Methode bei einigen Analyten zu Problemen durch unzureichende Auflösung der Peaks oder schlechte Peakformen, was die Quantifizierung erschwert. Auch ist der FLD als Detektor weniger spezifisch als das MS; durch die Nutzung der exakten m/z-Verhältnisse der Analyten bzw. ihrer Qualifier-Ionen haben Störsubstanzen und Matrixbestandteile weniger Einfluss.

Im MGU wird für die Analytik von PAK-Proben an Arbeitsplätzen eine HPLC-Methode genutzt. Aus diesem Grund sind vor einem potenziellen Wechsel der Auftrags- und Routineanalytik zu einer GC-(MS-)Methode entsprechende Validierungen und Messunsicherheitsbestimmungen notwendig. Auch müsste überprüft werden, ob die in diesem Projekt entwickelte GC-MS-Methode verändert werden kann, um die Analysenzeit zu reduzieren. Dies wäre beispielsweise durch die Nutzung einer kürzeren Säule möglich, unter Umständen jedoch mit Einbußen bei der Peakauflösung.

Zudem steht die Erweiterung der standardmäßig an Arbeitsplätzen analysierten PAK im Raum. Sollten 6- und 7-Ring-Systeme künftig mehr Beachtung finden, ist dies bei der Wahl des Analysensystems ebenfalls zu berücksichtigen. In diesem Fall bietet die HPLC die größeren Vorteile, da sie sich bei der Analyse schwerflüchtiger PAK als besser geeignet erwiesen hat als die GC-MS. Die im MGU etablierte HPLC-Methode für PAK-haltige Proben müsste entsprechend angepasst und die Validierungsparameter und Messunsicherheiten neu bestimmt werden. Der damit verbundene Aufwand wäre jedoch geringer als die Entwicklung einer für die Routineanalytik geeigneten GC-Methode.

4.2 Teil 2: Entwicklung des Ringversuchs

Im zweiten, zentralen Teil dieser Arbeit soll der Herstellungsprozess für ein Referenzmaterial für eine Auswahl an höhermolekularen PAK etabliert werden, um dieses Referenzmaterial in zukünftigen Ringversuchen nutzen zu können. Das Vorgehen ist in Kapitel 2.5.5 beschrieben. Im Folgenden werden die Ergebnisse der einzelnen Schritte auf dem Weg zum ersten Ringversuch beschrieben.

4.2.1 Anpassung der analytischen Methoden

Zunächst wurden die beiden zuvor entwickelten analytischen Methoden an die verkleinerte Auswahl der für das Referenzmaterial ausgewählten PAK angepasst und optimiert.

Aufgrund technischer Probleme der HPLC-Anlage musste auf ein baugleiches Gerät ausgewichen werden. Die entwickelte Methode wurde weitestgehend übernommen, allerdings wurde der Gradient des Laufmittels verändert und es wurde kein Flussgradient verwendet. **Abbildung 20** zeigt ein Beispielchromatogramm mit einem PAK-Gehalt von jeweils ca. 50 ng/mL.

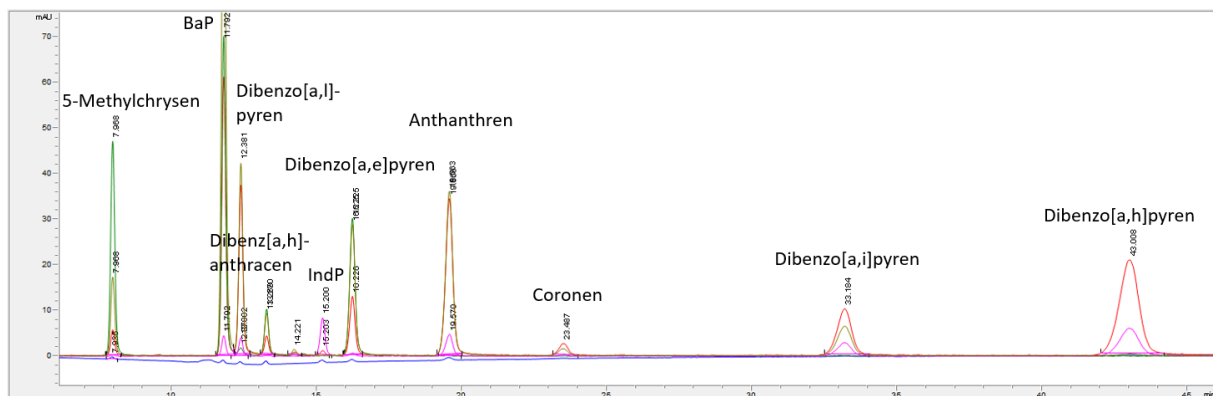


Abbildung 20: Chromatogramm einer Messung der RM-PAK mittels HPLC.

Für die GC-MS-Methode war ein Wechsel der Trennsäule maßgeblich. Die neue Säule ist von einem anderen Hersteller und hat daher eine andere Zusammensetzung der stationären Phase. Zudem ist sie kürzer (30 statt 60 m) und hat eine höhere Filmdicke (0,5 statt 0,25 μm). Damit ist eine sehr gute Trennung der zehn RM-PAK sowie der drei internen Standards möglich. Auch die Injektionsparameter und das Temperaturprogramm des Ofens wurden entsprechend angepasst. Zudem wurde auf einen Injektionsliner ohne Glaswolle gewechselt, um Verschleppungen zu vermeiden. Ein Beispielchromatogramm ist in **Abbildung 21** gezeigt. Hinsichtlich der MS-Parameter wurden lediglich die Zeitfenster des SIM angepasst.

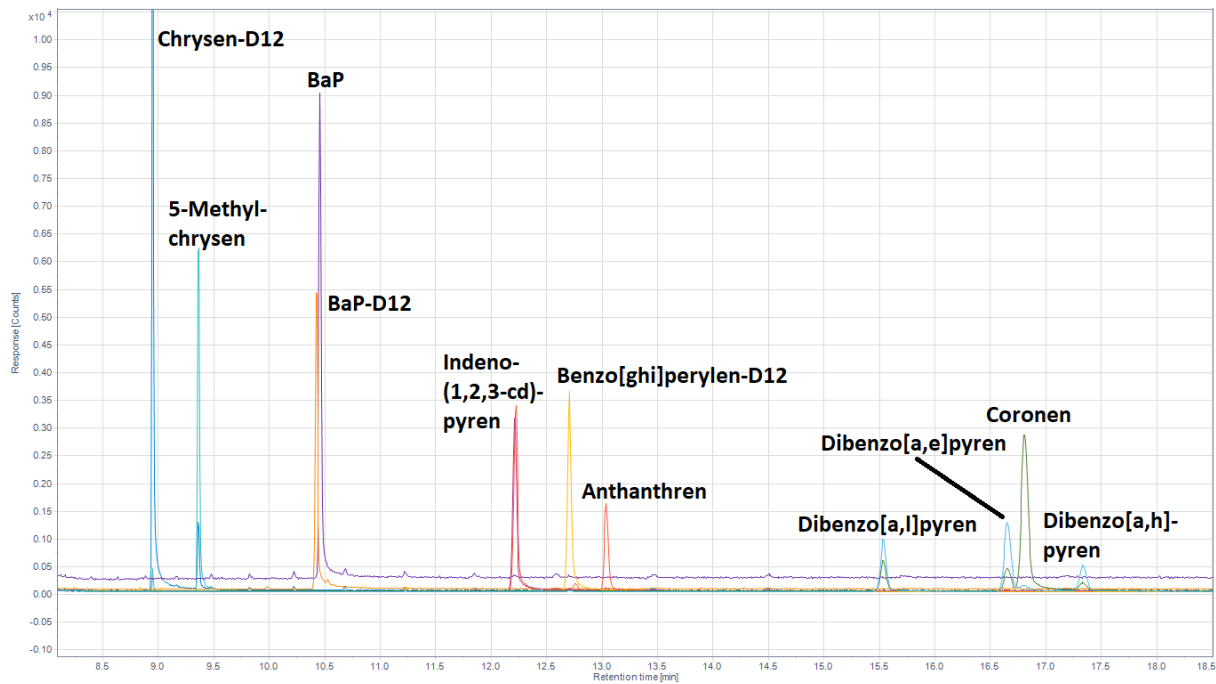


Abbildung 21: Chromatogramm einer GC-MS-Messung der RM-PAK mit 100 ng/mL.

Die Analyse mittels GC-MS war wegen technischer Probleme am Massenspektrometer nur für einige Experimente bzw. Vorversuche möglich. Falls nicht anders angegeben, wurden daher alle Ergebnisse mittels HPLC ermittelt.

4.2.2 Optimierung des Belegungsprozesses

Ziel der Optimierung des Belegungsprozesses ist es, eine große Anzahl an Filtern mit einer möglichst geringen Variabilität des PAK-Gehalts herstellen zu können. Das Ziel für die Variabilität der Belegung ist eine RSD von $< 1\%$. Für die Eignung als (zertifiziertes) Referenzmaterial sind die Anforderungen an die Gleichmäßigkeit der Belegung einschließlich der Validierung der Proben mit externen Referenzlaboratorien sehr hoch: Hier sollte eine Variabilität von maximal 2% gewährleistet sein. Für ein Referenzmaterial für Ringversuche liegt der Zielwert an die Gleichmäßigkeit bei 3% ; bei schwierigen Analyten und/oder bei niedrigen Konzentrationen sind Werte von bis zu 5% akzeptabel.

4.2.2.1 Piezoelektrischer Mikrodosierer

Für die Durchführung von Ringversuchen stand bereits zu Beginn des Projekts ein piezoelektrisches Mikrodosiergerät der Fa. microdrop zu Verfügung. Dieses wurde im Rahmen von vorangegangenen Vorversuchen und Abschlussarbeiten für wässrige Systeme getestet und validiert.^[146] Das Dosiergerät

wird im Rahmen von Ringversuchen für die Belegung von Filtern mit schwerflüchtigen Säuren genutzt^[147] und ein Referenzmaterial für diese Säuren wurde erfolgreich hergestellt.^[148] Die Funktionsweise des Dosiergeräts basiert auf einem Piezoaktor, der eine Glaskapillare umschließt. Diese beiden Komponenten bilden den Dosierkopf. Durch einen Spannungsimpuls wird der Piezoaktor kontrahiert, was eine Druckwelle in der mit Flüssigkeit gefüllten Glaskapillare auslöst. Die Flüssigkeit wird dabei beschleunigt und wird durch eine Düse am unteren Ende der Glaskapillare in Form eines Tropfens ausgestoßen. Sowohl das Volumen und die Anzahl der Tropfen als auch die Frequenz der Dosierung können mithilfe der Ansterelektronik eingestellt werden. Dabei sind Volumina zwischen 20 und 380 pL möglich. Die Tropfenbildung kann über eine Stroboskopdiode und eine Kamera kontinuierlich überwacht werden und ist essenziell für eine akkurate Dosierung bzw. für die Berechnung des dosierten Volumens. Der Mikrodosierer ist in **Abbildung 22** dargestellt.

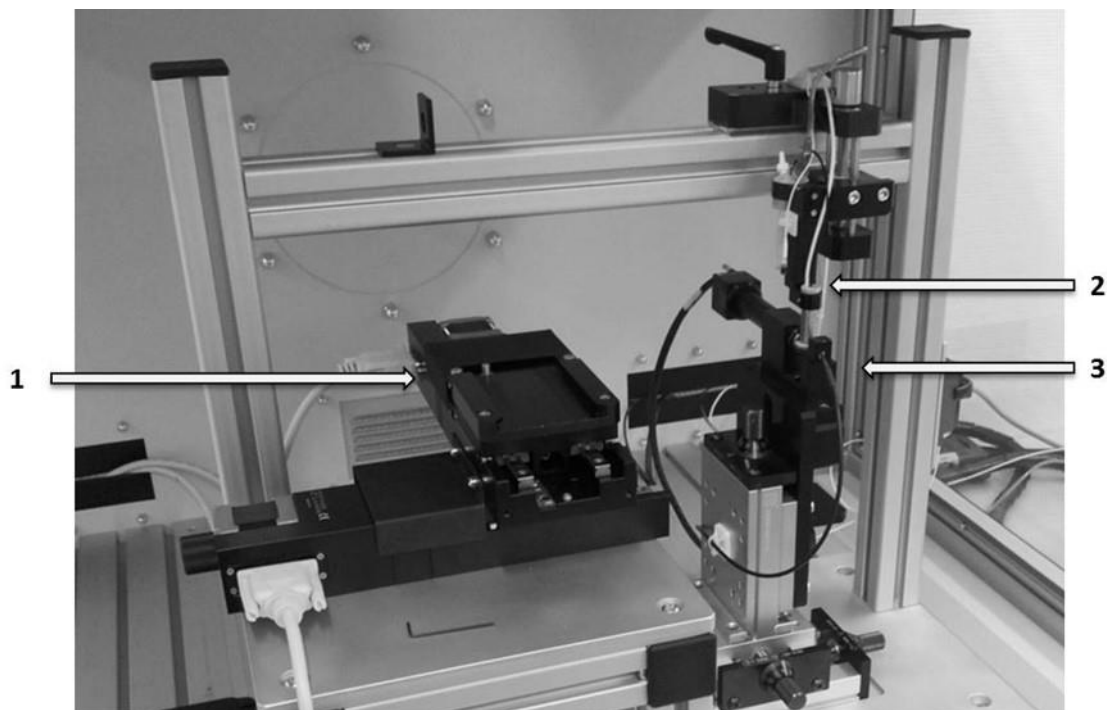


Abbildung 22: Mikrodosierer in einer Einhausung; 1: Filterhalterung mit zwei Motoren für die Steuerung; 2: Dosierkopf, verbunden mit einem Vorratsgefäß; 3: Stroboskopdiode und Kamera. Bild aus ^[147].

In den Vorversuchen sowie im Ringversuch wurden im Mikrodosierer nur wässrige Lösungen verwendet, die häufig mit Glycerin zur Erhöhung der Viskosität versetzt waren. Kommerziell erhältliche PAK-Standards liegen jedoch stets in organischen Lösemitteln wie Acetonitril, Cyclohexan oder Dichlormethan vor. Diese weisen eine teils deutlich geringere Viskosität und Oberflächenspannung als Wasser auf. Beide Parameter beeinflussen die Tropfenbildung und -stabilität maßgeblich. Im Rahmen einer Masterarbeit wurden umfangreiche Versuche durchgeführt, um zu untersuchen, in welchem Viskositätsbereich mit dem Mikrodosiersystem stabile Tropfen hergestellt werden können. Diese ergaben, dass nur Lösemittel mit Viskositäten oberhalb von ca. 1,5 mPa*s reproduzierbar (RSD des Tropfenvolumens unterhalb von 2 %) dosiert werden können. Die Viskositäten der oben genannten

Lösemittel liegen bei Raumtemperatur bei 0,334, 0,94 und 0,43 mPa*s (Acetonitril, Cyclohexan und Dichlormethan)^[149] und liegen somit unterhalb der reproduzierbar dosierbaren Viskosität.

Eine Erhöhung der Viskosität durch Zugabe von Glycerin ist aufgrund der schlechten Löslichkeit nicht möglich. Durch die Zugabe von Polyethylenglycol (PEG) als viskositätserhöhendes Mittel war es zunächst möglich, einen scheinbar stabilen Tropfen der Dosierlösung zu erzeugen (s. **Abbildung 23**). Das mithilfe der Dosiersoftware berechneten Tropfenvolumens war über die Dauer einer Dosierung gleichmäßig (RSD < 1 %).

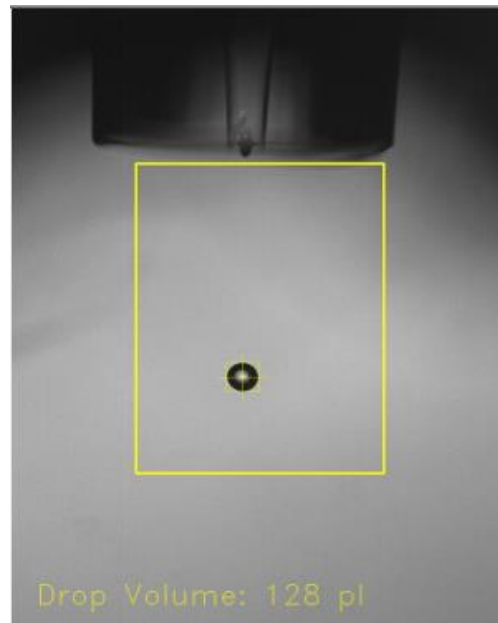


Abbildung 23: Dosierung bei Zugabe von ca. 0,5 % (w/w) PEG zur Dosierlösung, Tropfenvolumen von 128 pL durch die Dosiersoftware ermittelt.

Die Dosierung war jedoch weder innerhalb eines Tages noch über mehrere Tage reproduzierbar. Mit den Einstellungen, die zunächst zu einer stabilen Tropfenbildung führten, wurden zehn Filter belegt und sofort für die anschließende Analyse mittels GC-MS aufgearbeitet und gemessen. An den zwei darauffolgenden Tagen wurden mit den identischen Einstellungen erneut jeweils fünf Filter belegt und aufgearbeitet. Die Werte für die RSD innerhalb der an einem Tag belegten Filter lagen durchschnittlich bei 21 % mit einem Maximum von 58 %. Zudem beliefen sich die Schwankungen des PAK-Gehalts zwischen den drei Tagen auf durchschnittlich 62 %. Bei über Nacht gelagerten Filtern waren Verluste an PAK von bis zu 45 % messbar. Die gemessene PAK-Gehalt auf den Filtern war also nicht stabil.

Es ist nicht auszuschließen, dass es zu Interaktionen zwischen den PAK in der Dosierlösung und dem Material des Schlauchs zwischen Vorratsgefäß und Dosierkopf kommt. Anlagerungseffekte von PAK an Polymere wurden in der Literatur bereits beschrieben;^[150-151] sollten solche Effekte auch hier auftreten, könnte dies die Schwankungen des PAK-Gehalts auf den Filtern erklären. Insgesamt lässt sich schlussfolgern, dass der piezoelektrische Mikrodosierer nicht für die Dosierung von PAK-Standards geeignet ist.

4.2.2.2 Nanoliter-Dispenser

Im Rahmen der Dosiersversuche wurde ein weiteres Gerät zur exakten Flüssigkeitsdosierung getestet. Hierbei handelte es sich um einen BIOSPOT Arc Nanoliter-Dispenser der Fa. BioFluidix (s. **Abbildung 24**), welcher – ähnlich wie das zuvor getestete Gerät – auf einer piezoelektrisch initiierten Verdrängung der Flüssigkeit basiert. Allerdings verwendet das Gerät statt einer Glaskapillare Einweg-Plastikkapillaren, welche bei unterschiedlichen Anwendungen ausgetauscht werden können und so Kontaminationen vermeiden. Die Kapillare ist über einen Tygon®- oder PTFE-Schlauch mit dem Flüssigkeitsreservoir verbunden. Der Durchmesser der Kapillare bestimmt das mögliche Dosiervolumen, welches bei Verwendung der PipeJet-Dosiereinheit zwischen zwei und 70 nL liegt. Das Dosiersystem beinhaltet eine Kamera für eine automatische Kalibration der Dosierparameter für ein bestimmtes Tropfenvolumen. Das Gerät ist vor allem auf wässrige Lösungen in molekularbiologischen Anwendungen ausgelegt, soll aber laut Herstellerangaben auch für viskosere oder weniger viskose Flüssigkeiten als Wasser geeignet sein. Insbesondere die Volumenkalibration ist jedoch bei anderen Flüssigkeiten als Wasser kritisch zu überprüfen.



Abbildung 24: Semi-automatisiertes Dosiersystem der Fa. BioFluidix; Bild aus ^[152].

Für die Dosierung wurde zunächst eine Kapillare mit einem Innendurchmesser von 500 µm verwendet (s. **Tabelle 34, Anhang 1**). Das Dosiergerät wurde anfangs mit reinem Acetonitril getestet. Dabei zeigte sich bei gravimetrischen Kontrollen der Dosierung eine RSD von < 1 %. Danach wurde die Dosierung einer Lösung mit einer Konzentration von 1 µg/mL pro PAK in Acetonitril getestet. Zunächst wurden 17 Filter mit einem Zielgehalt von 100 ng pro PAK pro Filter belegt. Davon wurden acht Filter sofort aufgearbeitet, während die restlichen bei 5 °C gelagert und an den beiden darauffolgenden Tagen aufgearbeitet wurden. Der PAK-Gehalt auf den Filtern schien trotz des kurzen Beobachtungszeitraums nicht stabil zu sein, da die Filter von Tag zu Tag um bis zu 40 % voneinander abwichen. Zudem konnte

an keinem der Tage eine RSD unter 10 % zwischen den Filtern erreicht werden. Die Reproduzierbarkeit musste also deutlich verbessert werden, um die oben genannten Zielwerte für die Streuung (s. Kapitel 4.2.2) zu erreichen.

Weitere Probleme bei der Dosierung mit diesem Dosiergerät waren die Bildung von Luftblasen in der Dosierkapillare und die Dauer der Belegung eines Filters. So war pro Tag nur eine begrenzte Anzahl an Filtern herstellbar. Die Herstellung einer gesamten Serie wie für einen Ringversuch müsste daher über mehrere Tage ausgedehnt werden, was voraussetzt, dass die an unterschiedlichen Tagen belegten Filter vergleichbar sind. Eine Beschleunigung des Dosierprozesses durch die Erhöhung der Dosierfrequenz war nicht möglich, da dadurch keine stabile Tropfenbildung mehr gewährleistet war.

Auch für dieses Dosiergerät wurden Substanzen zur Erhöhung der Viskosität zur Dosierlösung hinzugefügt, um die Tropfenbildung zu stabilisieren. Dabei wurden verschiedene mittlere Molekülmassen und Gewichtsanteile in der Dosierlösung untersucht.

Zunächst wurde PEG mit einer mittleren Molekülmasse von 6000 g/mol (PEG-6) getestet. Damit konnten zwar eine Verbesserung der Reproduzierbarkeit erzielt werden (RSD 2-8 %), jedoch bildete sich nach ca. 20 Minuten kontinuierlicher Dosierung ein Pfropfen aus polymerisiertem PEG an der Spitze der Dosierkapillare, was diese verstopfte und eine weitere Dosierung verhinderte.

Als nächstes wurde Polyvinylpyrrolidon mit mittleren Molekülmassen von 3500 und 58000 g/mol getestet. Bei den so belegten Filtern war die Gleichmäßigkeit der Dosierung nicht ausreichend (RSD bei 5-15 %). Zwar ließ sich durch die Nutzung des Polyvinylpyrrolidon die Problematik der verstopften Kapillare umgehen, aber die Reproduzierbarkeit der PAK sowie die Einstellung einer stabilen Tropfenbildung waren nicht zufriedenstellend.

Da die Zugabe viskositätserhöhender Substanzen die Reproduzierbarkeit der Dosierung nicht verbessern konnten, wurden zwei Dosierkapillaren mit kleinerem Innendurchmesser (125 und 200 μm) getestet. Keine der beiden Kapillaren brachte eine Verbesserung. Eine Verbesserung konnte hingegen mit einer 200- μm -Kapillare mit hydrophober Innenbeschichtung erzielt werden. Für einige der Analyten bei den internen Kontrollanalysen wurde so eine ausreichende Gleichmäßigkeit (RSD 2-3 %) erreicht, für die Mehrzahl der PAK war die Gleichmäßigkeit der Belegung hingegen nicht zufriedenstellend (RSD 9-20 %). Um zu überprüfen, ob die hier festgestellten Ergebnisse von den externen Kooperationspartnern bestätigt werden können, wurde die erste Testserie mit dem Dosiergerät mit der beschichteten Kapillare hergestellt. Die Ergebnisse dieser ersten Serie sind in Kapitel 4.2.6.1 zusammengefasst.

4.2.2.3 Vorversuche mit dem elektronischen Mehrfachdispenser

Da keines der piezoelektrischen Dosiersysteme die für Ringversuche und Referenzmaterialien gestellten Anforderungen erfüllen konnte, wurde eine Belegung der Filter mittels elektronischem Mehrfachdispenser getestet. Dazu wird ein einzelner Tropfen auf den Filter gegeben, dessen Volumen an die Konzentration der Dosierlösung und den gewünschten PAK-Gehalt angepasst wird. Die verwendeten Pipettenspitzen haben ein Gesamtvolumen von 1000 oder 2500 μL ; bei einer Dosierung pro Filter von maximal 100 μL können so 10-20 Filter am Stück belegt werden, bevor die Pipette neu befüllt werden muss. Die erste und die letzte Dosierung wurden jeweils verworfen. Mit dem hier beschriebenen Verfahren können gleichmäßige Dosierungen erreicht werden, wie in **Abbildung 25** anhand der erzielten Konzentrationen bei 12 Filtern grafisch dargestellt ist.

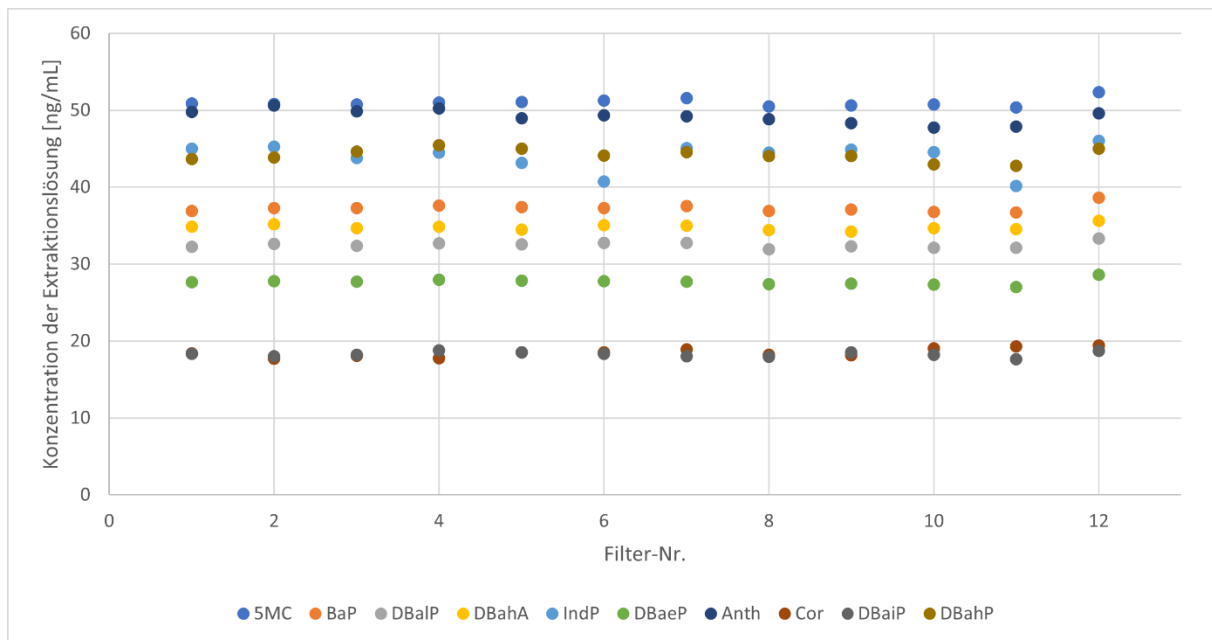


Abbildung 25: Belegung von 12 Filtern mit 100 ng pro PAK pro Filter (Sollwert) mittels Mehrfachdispenser-Pipette.

Für das in der Abbildung gezeigte Experiment liegen bei Verwendung der Mehrfachdispenser-Pipette die Standardabweichungen für alle PAK mit 1-4 % innerhalb des Anforderungsbereichs.

Ein wesentlicher Vorversuch für die Etablierung eines Ringversuchs ist die Herstellung einer ausreichend großen Serie an Filtern, die neben den Filtern für die Teilnehmer auch für sämtliche begleitenden Analysen (Stabilitätstests, Gleichförmigkeit der Belegung, Rückhalteproben zur Kontrolle) ausreichen. Aus diesem Grund wurde eine Probenserie über 96 Filter hergestellt. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind in **Abbildung 26** nur die Ergebnisse für 5-Methylchrysen, Indeno[1,2,3-cd]pyren, Dibenzo[a,e]pyren und Dibenzo[a,i]pyren dargestellt.

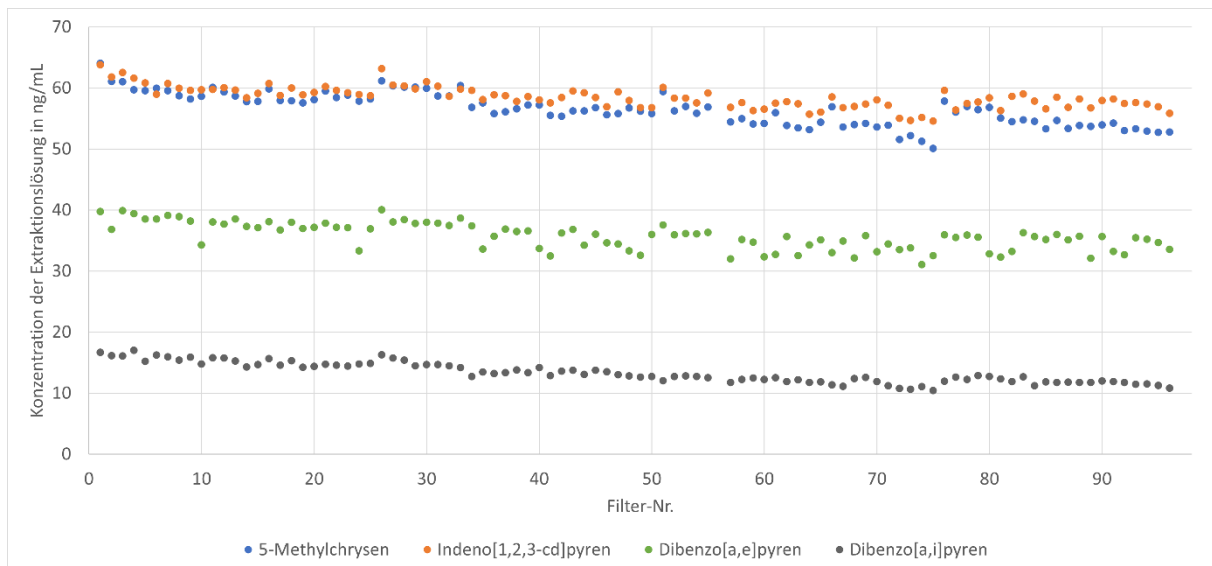


Abbildung 26: Belegung von 96 Filtern mittels Mehrfachdispenser-Pipette auf Quarzfaserfiltern.

Bei der Belegung konnten teils niedrige Streuungen von 3 % erreicht werden, womit die Anforderungen erfüllt wären. Auf dieser Basis wurde die zweite Testserie für die externen Labore mithilfe der Mehrfachdispenser-Pipette hergestellt. Diese Testserie bestand aus zwei verschiedenen Konzentrationsniveaus (50 und 100 ng pro PAK pro Filter) mit jeweils 75 belegten Quarzfaserfiltern. Bei der internen Kontrolle der Testserie wurden Standardabweichungen von durchschnittlich 4 bzw. 5 % für die beiden Konzentrationsniveaus ermittelt; die weiteren Ergebnisse sind in Kapitel 4.2.6.2 zu finden.

4.2.3 Auswahl des Filtermaterials

Alle bisher erläuterten Vorversuche wurden mit Quarzfaserfiltern durchgeführt. Dies hängt vor allem damit zusammen, dass für die anfänglich getestete Belegung mit den halbautomatischen piezoelektrischen Dosiersystemen Quarzfaserfilter zu bevorzugen waren. Die Handhabung von Quarzfaserfiltern ist wesentlich einfacher als der Umgang mit PTFE-Filtern, insbesondere da PTFE-Filter von praktisch allen Lösemitteln nicht benetzt werden und dosierte Tropfen auf der Oberfläche abperlen. Für die Dosiergeräte bedeutet dies, dass beim Herausnehmen der Filter aus dem Gerät die Gefahr besteht, dass die Tropfen nicht stabil auf der Filteroberfläche verbleiben.

Bei den Vorversuchen zeigten sich jedoch Instabilitäten des PAK-Gehalts auf den Quarzfaserfiltern und Unstimmigkeiten in den Messergebnissen (s. Kapitel 4.2.2.1 und 4.2.2.2). Auch die Ergebnisse der zweiten extern gemessenen Testserie waren nicht zufriedenstellend (s. Kapitel 4.2.6.2), was möglicherweise auf eine Instabilität der Filter zurückzuführen ist. In einer Kurzzeitstabilitätsstudie über eine Woche wurde festgestellt, dass die Filter bei der Lagerung bei 5 °C Verluste an PAK von

durchschnittlich 22 % im Vergleich zum Tag der Belegung aufweisen. Eine längerfristige Stabilitätsstudie über vier Monate bestätigte diese Ergebnisse (s. **Tabelle 40** und **Tabelle 41, Anhang 3**).

Die wenig zufriedenstellenden Ergebnisse der Vorversuche und der Stabilitätsstudien mit Quarzfaserfiltern führten zu der Entscheidung, für alle weiteren Versuche PTFE-Filter zu verwenden, zumal dieses Filtermaterial auch von zahlreichen Laboratorien für die Probenahme von PAK an Arbeitsplätzen genutzt wird.

Zunächst wurden Versuche mit dem PTFE-Filter durchgeführt, der standardmäßig im IFA bei der Probenahme partikulärer PAK verwendet wird (vgl. **Tabelle 15**, Filter Nr. 1). Das Abperlen des Tropfens vom Filter kann vermieden werden, indem der Filter zweimal mittig gefaltet wird, sodass eine Vertiefung entsteht. Die Dosierlösung wird dann direkt in die Mitte der Vertiefung getropft. So ließen sich bereits in ersten Versuchen sehr gute Werte für die RSD von 0,4-3,4 % für eine Serie von sechs Filtern erreichen. Für die Belegung einer Stabilitätsstudie über vier Monate wurden die gefalteten Filter in die Öffnung eines 8-mL-Glasvials gesteckt, um sie so zu fixieren. In der Stabilitätsstudie war nach sechs Wochen Lagerung bei 5 °C noch mindestens 90 % des Anfangsgehalts an PAK zu finden (vgl. **Tabelle 42, Anhang 3**).

Zu Beginn der Stabilitätsmessungen fiel auf, dass die Wiederfindungsraten nicht für alle Analyten über dem Zielwert von mindestens 90 %, idealerweise über 95 % liegen. Für fünf der zehn Analyten konnte eine gute oder akzeptable Wiederfindungsrate erreicht werden, wie **Tabelle 14** zu entnehmen ist.

Tabelle 14: Ergebnisse der Stabilitätsstudie und Wiederfindungsraten der PTFE-Filter.

Analyt	Wiederfindungsrate	Analyt	Wiederfindungsrate
5-Methylchrysen	92,8 %	Dibenzo[a,e]pyren	92,2 %
Benzo[a]pyren	92,7 %	Anthanthren	80,1 %
Dibenzo[a,l]pyren	65,5 %	Coronen	89,7 %
Dibenz[a,h]anthracen	94,1 %	Dibenzo[a,i]pyren	81,4 %
Indeno[1,2,3-cd]pyren	91,1 %	Dibenzo[a,h]pyren	75,5 %

Um zu testen, ob die geringen Wiederfindungsraten durch unzureichende Extraktion vom Filter entstehen, wurden in einer Experimentreihe zur Maximierung der Wiederfindung sowohl die Merkmale der Filter variiert als auch die Extraktionsparameter (s. Kapitel 4.2.5). Diese Versuche dienten außerdem dazu, mögliche Quellen für die Unterschiede zwischen den Ergebnissen der externen Labore aus den Testserien zu identifizieren. Bei den ersten Experimenten zur Maximierung der Wiederfindungsrate wurde der bisher verwendete Quarzfaserfilter ebenfalls untersucht, um

vergleichen zu können, ob durch die Nutzung des PTFE-Filters eine Verbesserung der Extraktionseffizienz möglich ist.

Zunächst wurden die Wiederfindungsraten zweier verschiedener PTFE-Filter mit denen der Quarzfaserfilter verglichen (Filter 1 und 2, vgl. **Tabelle 15**). Die Ergebnisse sind in **Abbildung 27** dargestellt.

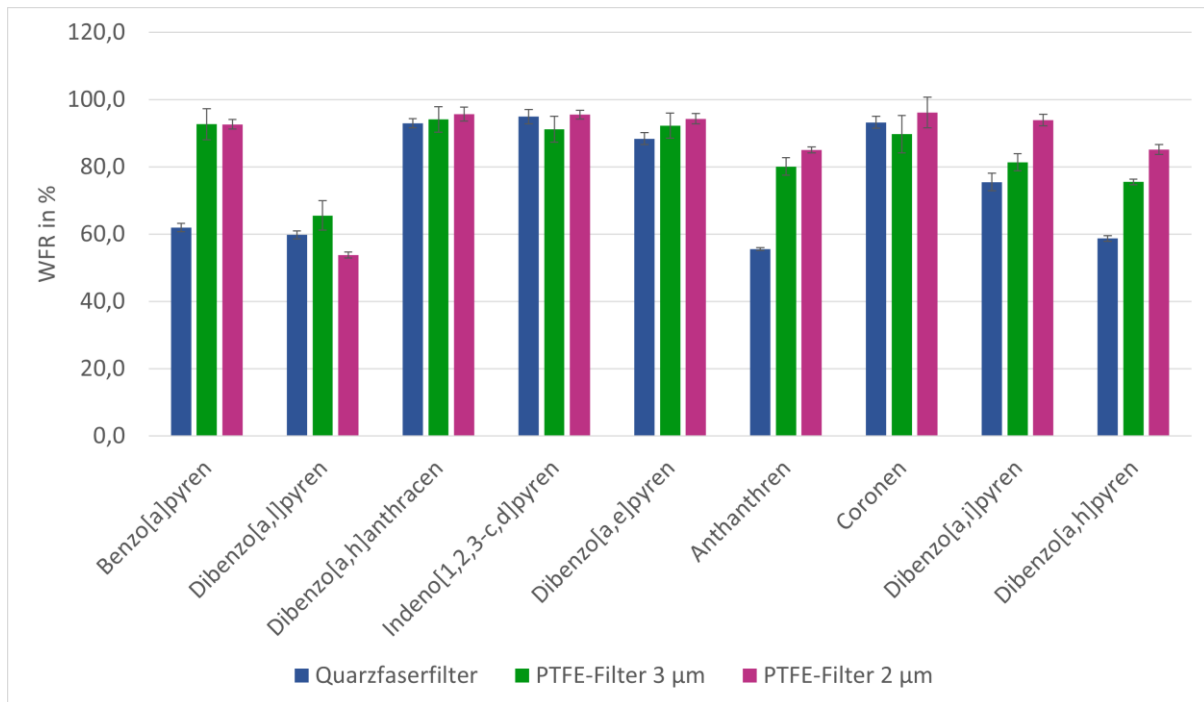


Abbildung 27: Vergleich der Wiederfindungsraten der Quarzfaserfilter und zwei verschiedener PTFE-Filter.

Wie in der Abbildung zu sehen ist, können mithilfe der PTFE-Filter insbesondere für BaP, Anthanthren und die beiden zuletzt eluierenden PAK (Dibenzo[a,i]pyren und Dibenzo[a,h]pyren) die Wiederfindungsraten gesteigert werden.

Es bestand der Verdacht, dass es zu Verlusten an PAK durch Anlagerungseffekte am Filtermaterial und an Glasoberflächen kommen kann. Um die Belegung als Fehlerquelle zu eliminieren, wurden zu Glasvials mit PAK-Lösung unbehandelte Filter gegeben. Anschließend erfolgte die übliche Probenvorbereitung mit Ultraschallbad und Schütteln. Zusätzlich wurden bei diesem Versuch weitere PTFE-Filter untersucht (s. **Tabelle 15**). Der Vollständigkeit halber sind auch die Ergebnisse der Quarzfaserfilter aufgeführt.

Tabelle 15: Übersicht über die unterschiedlichen PTFE-Filter, die auf ihre Eignung als Basis für das Referenzmaterial untersucht wurden.

Filter-Nr.	Material	Stützschrift	Porengröße
1	PTFE	Polyethylen (PE)	3 μm
2	PTFE	Keine (unlamiert)	2 μm
3	PTFE	Polypropylen	1 μm

Bei diesem Versuch wurden die in **Abbildung 28** dargestellten Wiederfindungsraten erzielt. Wiederfindungsraten unterhalb von 100 % (bzw. unterhalb der Wiederfindungsrate der puren Lösung ohne Filter) deuten auf eine mögliche Anhaftung hin, während Wiederfindungen oberhalb von 100 % auf Verdunstungseffekte der Extraktionslösung zurückzuführen sind. Degradation der PAK durch Photolyse oder die Bildung von Reaktionsprodukten wie Nitro-PAK sind aufgrund der kontrollierten Laboratmosphäre auszuschließen.

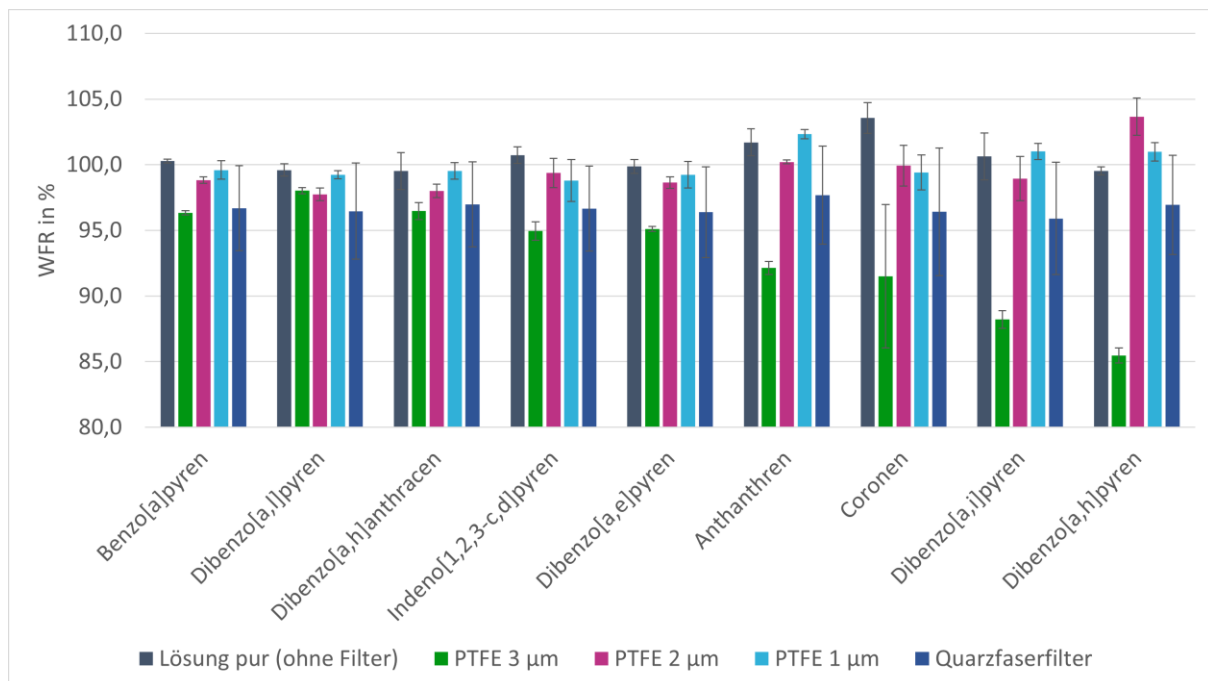


Abbildung 28: Vergleich der Wiederfindungsraten bei Zugabe der Filter zu einer PAK-Lösung ohne Belegung.

Das Diagramm zeigt, dass der Effekt der reduzierten Wiederfindungsraten bei allen Filtern zu beobachten ist. Die besten Ergebnisse werden mit dem 1- μm - und dem 2- μm -Filter erzielt, während bei dem 3- μm -Filter mit PE-Stützschrift vor allem bei den spät eluierenden Analyten eine Reduktion der Wiederfindung auftritt. Die Anhaftung der PAK am Filtermaterial bzw. an der Polymer-Stützschrift ist demnach ein nicht zu vernachlässigender Effekt, der sich negativ auf die Extraktionseffizienz auswirkt. Um diesen Effekt zu umgehen, sollten PTFE-Filter ohne Stützschrift verwendet werden. Bei den Filtern Nr. 2 und 3 handelte es sich um Restbestände, die (zunächst) nicht mehr kommerziell

erhältlich waren. Die weiteren Versuche zur Maximierung der Wiederfindungsrate konnten allerdings nur mit Filter Nr. 1 (PTFE mit PE-Stützschiicht, Porengröße 3 μm) fortgesetzt werden.

Zu einem späteren Zeitpunkt war die Beschaffung von unlaminierten PTFE-Filtern mit einer Porengröße von 1 μm möglich. Diese wurden dann für die dritte Testserie (s. Kapitel 4.2.6.3) und den ersten Ringversuch (s. Kapitel 4.2.7) verwendet.

4.2.4 Untersuchung der Anlagerungseffekte

Der Effekt der Anlagerung wurde in einem weiteren Versuch untersucht. In diesem wurde der Tropfen der Dosierlösung nicht auf einen Filter dosiert, sondern direkt in ein Vial. Nach Verdunstung des Lösemittels wurden die PAK wie üblich in Acetonitril/Methanol extrahiert. Auch hier ist eine Wiederfindungsrate von 100 % zu erwarten, wenn keine Adsorptionseffekte auftreten. Die Dosierung in ein Glasvial sowie in ein Plastikvial aus PE wird mit der bisherigen Durchführung der Dosierung auf den PTFE-Filter mit 3 μm Porengröße verglichen. Die Ergebnisse sind in **Abbildung 29** zu sehen.

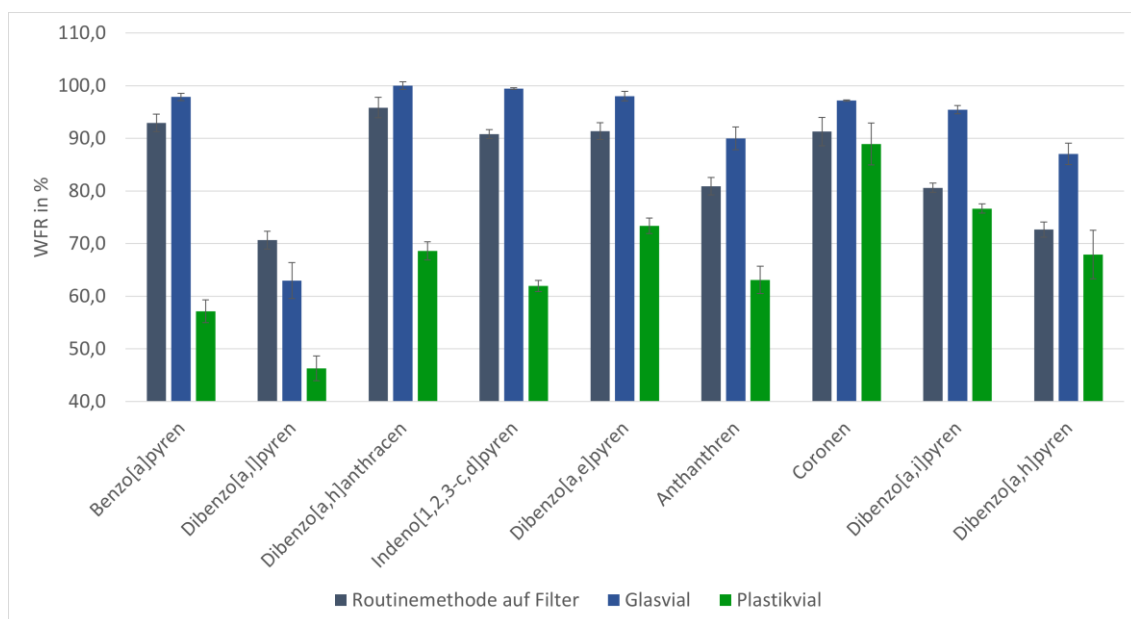


Abbildung 29: Vergleich der Wiederfindungsraten bei Dosierung auf einen PTFE-Filter, in ein Glasvial und in ein Plastikvial.

Auch hier zeigt sich, dass insbesondere bei den sehr unpolaren PAK (Dibenzo[a,i]pyren und Dibenzo[a,h]pyren) eine Wiederfindung von < 100 % erreicht wird. Die Verluste sind im Plastikvial besonders ausgeprägt. Anlagerungsprozesse von Umweltschadstoffen wie PAK an Kunststoffen wurden am Beispiel von Mikroplastik im Meer bereits belegt.^[153-154] Auch die Adsorption von PAK an Glasoberflächen ist ein bekannter Effekt, der vor allem bei stark hydrophoben PAK auftritt.^[155] In einer Studie wurde die Anlagerung von sieben PAK (3-5 Ringe) an Glas sowie an PTFE-beschichtete Rührstäbe

untersucht.^[156] Der direkte Vergleich zeigt, dass bei den meisten Analyten der Adsorptionseffekt an PTFE stärker ausgeprägt ist als an Glas. Der größte relative Verlust durch Anlagerung an den Rührstab wurde bei BaP und bei Benzo[e]pyren beobachtet (27 bzw. 20 %), die Verluste der untersuchten 3- und 4-Ring-Systeme lagen bei < 10 %. Eine andere Studie fand eine Korrelation zwischen der Adsorption an PTFE und dem Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten, welcher als Maß für die Hydrophilie einer Substanz herangezogen werden kann.^[157] Zudem beschreiben die Autoren, dass die Adsorption von der Beschaffenheit der PTFE-Oberfläche abhängt. Dies erklärt, warum bei verschiedenen PTFE-Filtern unterschiedliche Wiederfindungsraten ermittelt werden. Beide Studien bestätigen die bisherigen Ergebnisse und zeigen, dass die verringerten Wiederfindungsraten insbesondere bei den stark hydrophoben PAK auf Anlagerungseffekte zurückzuführen sind.

4.2.5 Versuche zur Maximierung der Wiederfindungsrate

Auf Basis der am IFA verwendeten Aufarbeitungsmethode (vgl. Kapitel 3.3.4) wurden hinsichtlich der Filterbelegung und -aufarbeitung folgende Parameter auf ihren Einfluss auf die Wiederfindungsrate untersucht:

- Bedingungen während der Filterbelegung:
 - Belegung mit und ohne Durchsaugen von Luft
 - Belegung aller PAK als Mischstandard oder Belegung als Mischstandard und Einzelstandard separat
- Extraktionsmittel:
 - Acetonitril/Methanol, Variation des Mischungsverhältnisses (50/50, 60/40, 70/30 und 80/20 (v/v))
 - Verschiedene Lösemittel (Methanol, Aceton, Cyclohexan, Dichlormethan, Toluol)
- Bedingungen während der Extraktion:
 - Temperatur des Ultraschallbads (20, 30, 40 und 50 °C)
 - Dauer des Schüttelns (ohne Schütteln, 1, 2 und 3 h)
- Verwendeter Spritzenvorsatzfilter (Unterschiedliche Hersteller, Material (PTFE, Cellulose), Durchmesser (13, 15 und 25 mm) und Porengröße (0,2 und 0,45 µm))

Falls nicht anders angegeben, wurden alle Versuche mit den PTFE-Filtern mit PE-Stüttschicht mit einer Porengröße von 3 µm durchgeführt. Die Ausgangsmethode (Acetonitril/Methanol im Verhältnis 60/40 (v/v), eine Stunde Ultraschallbad bei Raumtemperatur, eine Stunde Schütteln, PTFE-Spritzenvorsatzfilter mit 0,45 µm Porengröße) wird stets als Referenzmethode herangezogen. In

einigen Experimenten wurde 5-Methylchrysen als Analyt nicht berücksichtigt, da der Standard nicht verfügbar war.

4.2.5.1 Einfluss der Belegungsbedingungen und des Trocknungsprozesses

Neben der Aufarbeitung der Filter muss auch deren Belegung betrachtet und auf ihren Einfluss auf die Extraktionseffizienz untersucht werden. Zu berücksichtigende Aspekte sind:

- Ist während der Belegung Luft durch den Filter zu saugen?
- Hat das Lösemittel der Dosierlösung und somit die Trocknung der Filter einen Einfluss?
- Können alle PAK als Mischstandard dosiert werden oder müssen einzelne Analyten separat dosiert werden?

Besonderer Fokus liegt dabei auf Dibenzo[a,l]pyren, da für diesen Analyten bisher eine maximale Wiederfindungsrate von ca. 70 % (in Belegungsversuchen) erreicht werden konnte. In den Vorversuchen wurde deutlich, dass der Trocknungsprozess einen großen Einfluss auf die Wiederfindung von Dibenzo[a,l]pyren haben kann (z. B. beim Verdampfen im Vial, s. Kapitel 4.2.4, **Abbildung 29**).

Zunächst wurde untersucht, ob sich durch das Durchsaugen von Luft durch den Filter die Extraktionseffizienz erhöhen lässt. Dazu wurden die zu belegenden Filter in eine Filterkapsel eines GSP-Systems eingespannt und Luft mit einem Volumenstrom von 2 L/min für 40, 60 und 120 min durchgesaugt. Die so erzielten Wiederfindungsraten sind in **Abbildung 30** dargestellt.

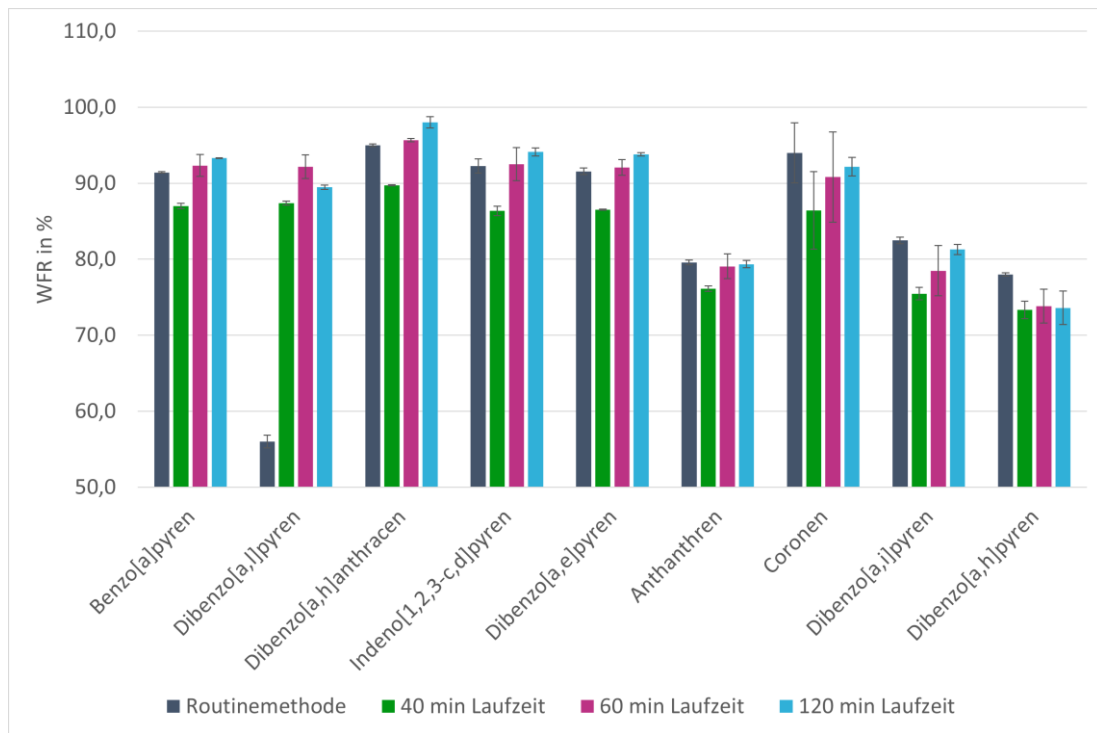


Abbildung 30: Vergleich der Wiederfindungsrate beim Durchziehen von Luft durch den Filter für 40, 60 und 120 min im Vergleich zur Belegung mit statischer Lufttrocknung.

Die Grafik zeigt, dass durch das Durchsaugen der Luft die Wiederfindungsrate von Dibenzo[a,l]pyren signifikant gesteigert werden kann (von 56,0 auf bis zu 92,2 %). Bei den anderen PAK kann kein nennenswerter Einfluss beobachtet werden.

Um die Trocknung von Dibenzo[a,l]pyren gesondert zu betrachten, wird der Einzelstandard (Dibenzo[a,l]pyren 10 µg/mL in Acetonitril oder in Cyclohexan) in unterschiedlichen Lösemitteln auf eine Konzentration von 1 µg/mL verdünnt und anschließend 50 µL auf Filter dosiert. Die Lösemittel werden dabei so ausgewählt, dass sie aufgrund ihrer geringen Polarität und Oberflächenspannung innerhalb weniger Minuten komplett verdampfen. Die so erzielten Wiederfindungsraten sind in **Tabelle 16** zusammengefasst und werden mit der Belegung mit dem Mischstandard mit allen PAK verglichen. Die Tabelle gibt außerdem an, für welche Belegung welcher Einzelstandard (in Acetonitril oder in Cyclohexan) verwendet wurde.

Tabelle 16: Vergleich der Wiederfindungsraten bei der Belegung mit Dibenzo[a,l]pyren als Einzelstandard in verschiedenen Lösemitteln mit Angabe der RSD.

Lösemittel	Einzelstandard	WFR	RSD
Routinemethode (Mischstandard)	10 ng/mL in Acetonitril	56,2 %	0,3 %
Acetonitril	10 ng/mL in Acetonitril	93,6 %	0,7 %
Dichlormethan	10 ng/mL in Acetonitril	89,5 %	1,6 %
n-Hexan	10 ng/mL in Cyclohexan	81,0 %	8,0 %
Cyclohexan	10 ng/mL in Cyclohexan	83,9 %	0,4 %

Bei Betrachtung der Werte wird deutlich, dass bei Verwendung eines Einzelstandards, unabhängig vom Lösemittel, die Wiederfindungsrate im Vergleich zur Belegung mit dem Mischstandard erhöht ist. Die Nutzung schnell verdampfender Lösemittel bringt keine Verbesserung der Wiederfindung im Vergleich zum bisher genutzten Acetonitril als Verdünnungsmittel. Dies deutet darauf hin, dass die Anwesenheit der anderen PAK in diesem Versuch einen Einfluss auf die Extraktionseffizienz von Dibenzo[a,l]pyren hat.

Für die Belegung der Filter bedeutet dies, dass entweder die Filter in eine Filterkapsel unter Luftstrom eingespannt werden müssen oder dass der Einzelstandard von Dibenzo[a,l]pyren und der Mischstandard mit den restlichen PAK nebeneinander auf den Filter dosiert werden müssen. Letzteres ist für die Belegung von großen Serien praktikabler. Zur Absicherung wurde diese Vorgehensweise geprüft: Die Dosierung eines Mischstandards (ohne Dibenzo[a,l]pyren) und von Dibenzo[a,l]pyren als Einzelstandard nebeneinander führt für alle Analyten zu zufriedenstellenden Ergebnissen, wie **Abbildung 31** zu entnehmen ist. Die Belegung mit den beiden Standards nebeneinander wird daher für die dritte Testserie und den Teststringversuch übernommen.

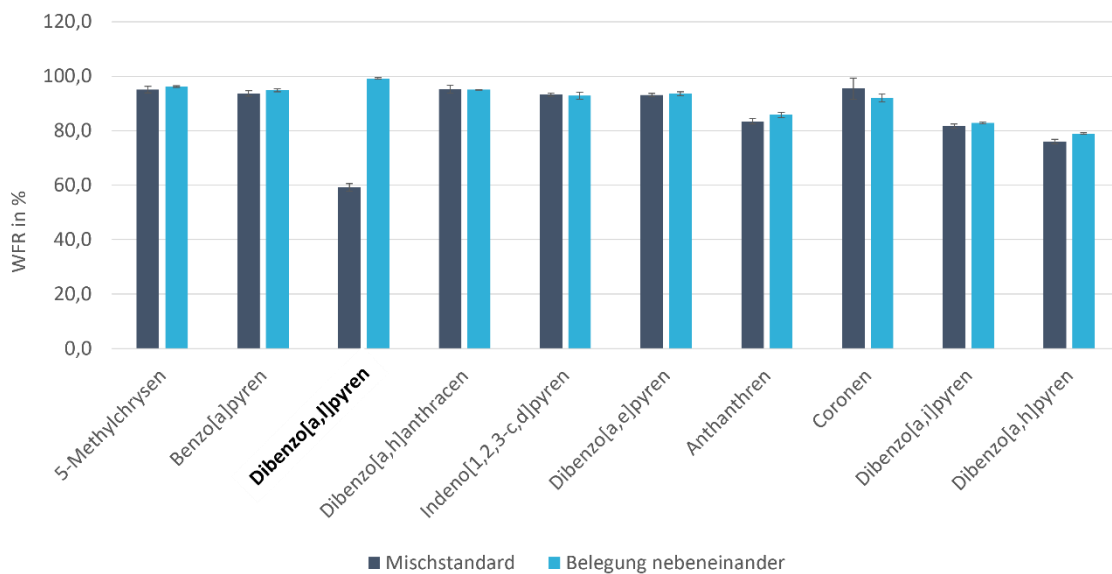


Abbildung 31: Vergleich der Wiederfindungen bei der Belegung mit dem Mischstandard und dem Einzelstandard von Dibenzo[a,l]pyren separat.

Für die geringe Wiederfindungsrate von Dibenzo[a,l]pyren bei der Dosierung im Mischstandard findet sich keine plausible Erklärung. Das Phänomen ist in der Literatur nicht beschrieben; die meisten Studien analysieren Luft- oder Materialproben, simulierte Referenzmaterialien wie die hier belegten Filter wurden noch nicht untersucht. Was Dibenzo[a,l]pyren von den anderen Dibenzopyren-Isomeren unterscheidet, ist seine Struktur. Die meisten PAK sind durch die anellierten Benzolringe weitestgehend planar. Dibenzo[a,l]pyren hingegen weist aufgrund der Atomdichte in der Fjord-Region eine leicht verdrehte Molekülstruktur auf, die dazu führt, dass das Molekül nicht mehr planar ist (s. **Abbildung 32**).^[158] Für Realproben hat dies keine Relevanz, da die Wiederfindungsrate von

Dibenzo[*a,l*]pyren beim Durchziehen von Luft durch den Filter – wie es auch bei der Probenahme an Arbeitsplätzen der Fall ist – bei ca. 90 % liegt.

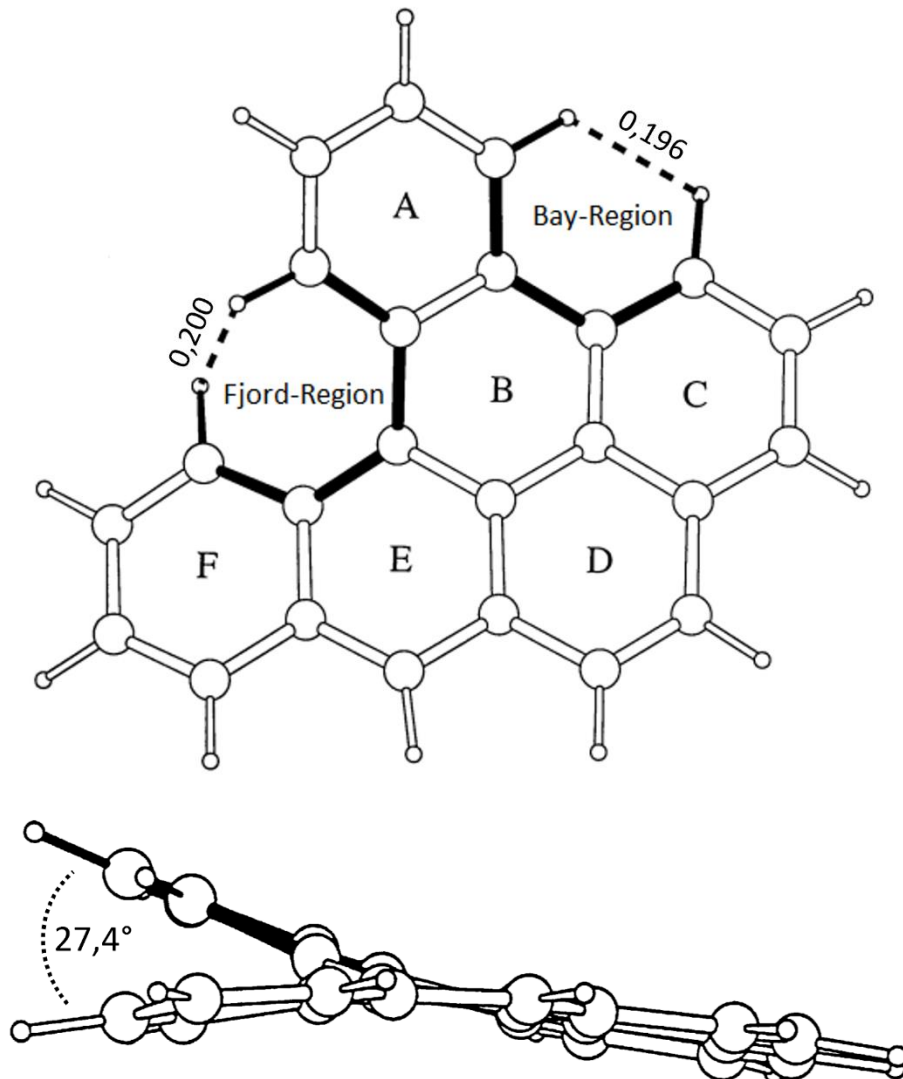


Abbildung 32: Struktur des Dibenzo[*a,l*]pyren-Moleküls; oben: Strukturformel mit Hervorhebung der Fjord- und Bay-Regionen und der Distanz zwischen den äußersten H-Atomen in nm; unten: seitliche Ansicht, Winkel zwischen dem A-Ring (ausgefüllte Linien) und dem F-Ring. Bilder modifiziert aus ^[158].

4.2.5.2 Einfluss der Extraktionslösung

Als nächstes soll beurteilt werden, inwiefern die einzelnen Aufarbeitungsschritte die Extraktionseffizienz der PAK von den Filtern beeinflussen. Zunächst wird untersucht, ob durch eine Erhöhung des Acetonitril-Anteils eine Verbesserung der Wiederfindung erzielt werden kann. Acetonitril ist weniger polar als Methanol (Polarität relativ zu Wasser: $E_T^N = 0,460$ bzw. $0,762$)^[159], sodass es besser in der Lage sein sollte, die unpolaren PAK zu extrahieren. Es zeigte sich jedoch, dass

die Veränderung des Lösemittelverhältnisses keinen erkennbaren Einfluss auf die Wiederfindungsraten hat. Die Löslichkeit der PAK in polaren Lösemitteln wie Acetonitril wird durch die Zugabe eines Co-Lösemittels (beispielsweise Methanol) erhöht, was die Extraktionseffizienz verbessert. Dieser Effekt tritt bereits bei geringen Volumenanteilen von < 1 % auf, bei den hier verwendeten Volumenanteilen (20-50 %) ist der Effekt jedoch bereits maximal ausgeschöpft.^[160]

Bei der Veränderung der Extraktionslösung zu anderen, polaren und unpolaren Lösemitteln wurden die in **Abbildung 33** gezeigten Wiederfindungsraten erzielt. Bei HPLC-inkompatiblen Lösemitteln (Aceton, Toluol, Dichlormethan, Cyclohexan) wurden die Extrakte im Rotationsverdampfer eingengt und in Acetonitril/Methanol resuspendiert.

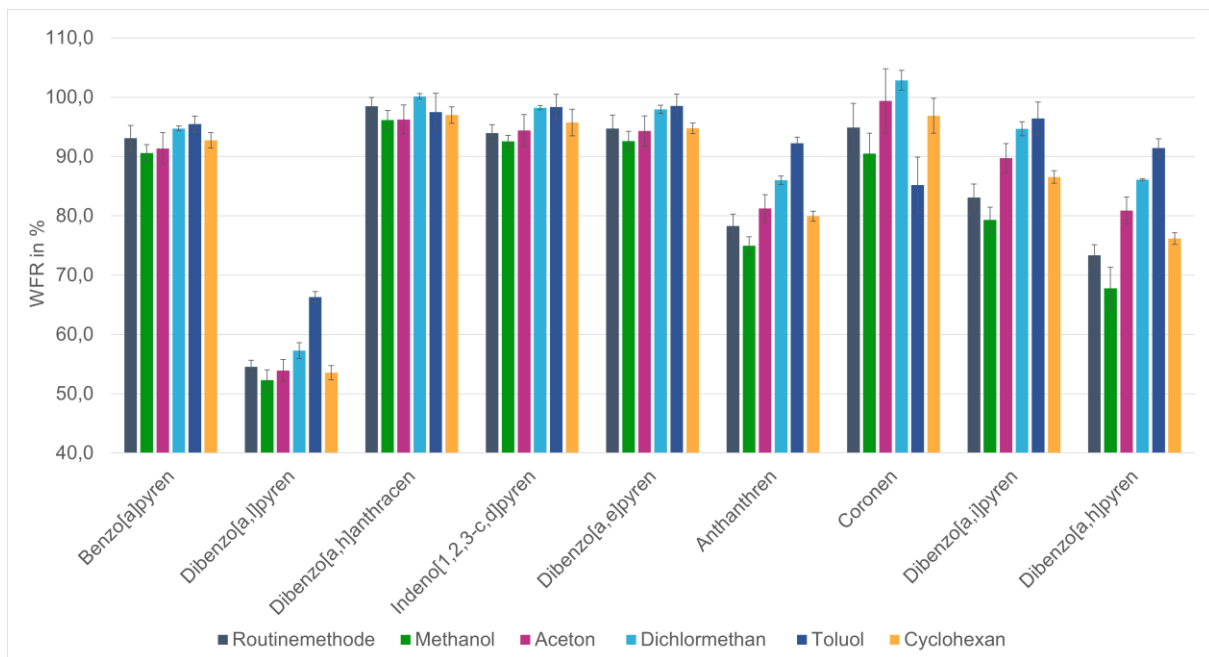


Abbildung 33: Wiederfindungsraten (WFR) der RM-PAK bei Nutzung unterschiedlicher Extraktionsmittel; Routinemethode entspricht der Extraktion mit Acetonitril/Methanol im Verhältnis 60/40 (v/v).

Für BaP, Dibenz[a,h]anthracen, Indeno[1,2,3-cd]pyren und Dibenz[a,e]pyren waren die Wiederfindungen bei allen Lösemitteln vergleichbar. Bei den anderen Dibenzopyren-Isomeren und Anthanthren können durch die Extraktion mit unpolaren Lösemitteln (Dichlormethan ($E_T^N = 0,309$), Toluol ($E_T^N = 0,099$))^[159] teils bessere Wiederfindungsraten erzielt werden. Dies entspricht weitestgehend den Erwartungen; Toluol wird häufig bei gaschromatographischen Verfahren als Extraktionsmittel verwendet.^[161-162] Bei der Probenvorbereitung durch Einengen des Extrakts im Rotationsverdampfer entstehen zwar keine messbaren Verluste an Analyten, der zusätzliche Arbeitsschritt stellt jedoch eine Fehlerquelle und insbesondere bei Routineproben einen nicht unerheblichen Zeitaufwand dar.

4.2.5.3 Einfluss der Extraktionsbedingungen

Zur Variation der Extraktionsbedingungen wurde zunächst die Temperatur des Ultraschallbads erhöht. In der Referenzmethode wird das Ultraschallbad konstant auf ca. 20 °C temperiert. Häufig können durch eine Temperaturerhöhung bessere Extraktionsausbeuten erzielt werden. Da es sich bei den RM-PAK um thermisch stabile Substanzen mit sehr hohen Siedepunkten handelt, kann davon ausgegangen werden, dass eine Erhöhung der Temperatur während der Extraktion weder zu einem thermischen Zerfall noch zu Verlusten durch Verdampfung führt. Durch die erhöhte Ultraschallbadtemperatur konnte jedoch keine signifikante Verbesserung der Wiederfindungsraten erreicht werden.

Nach der Extraktion im Ultraschallbad werden die Proben gemäß der Ausgangsmethode für eine Stunde geschüttelt. Hier konnte festgestellt werden, dass das Schütteln für die Erhöhung der Extraktionseffizienz nicht notwendig ist. Durch das Auslassen des Schüttelns konnte eine leichte Verbesserung der Wiederfindungsraten von Dibenzo[a,i]pyren und Dibenzo[a,h]pyren erreicht werden. So war eine Erhöhung der Wiederfindungsrate von 82,5 auf 86,1 % bzw. von 78,0 auf 82,5 % feststellbar. Eine mögliche Erklärung für dieses Ergebnis sind die bereits zuvor beschriebenen Adsorptionseffekte der Analyten an der PE-Stüttschicht des Filters und an der Innenwand des Glasvials: Durch die verkürzte Extraktionszeit wird die Kontaktzeit der Analyten mit der Polymer-Stüttschicht verringert.

4.2.5.4 Einfluss des Spritzenvorsatzfilters

Da bei einem Ringversuch die Teilnehmer für die Filtrierung des Extrakts Spritzenvorsatzfilter unterschiedlicher Hersteller und Porengröße nutzen, wurde untersucht, ob der Spritzenvorsatzfilter einen signifikanten Einfluss auf die Extraktionseffizienz hat. Im Vorfeld der Testserien wurden die Teilnehmenden gefragt, welchen Typ Spritzenvorsatzfilter sie verwenden. Basierend auf den Rückmeldungen wurden insgesamt neun verschiedene Spritzenvorsatzfilter getestet, die sich im Hersteller, im Filtermaterial, in der Porengröße und im Durchmesser der Filtermembran unterscheiden. Alle untersuchten Spritzenvorsatzfilter und ihre Eigenschaften sind in **Tabelle 17** zusammengefasst. Neben PTFE-Spritzenvorsatzfiltern wurde auch Cellulose als Filtermaterial untersucht, da es eine hohe Beständigkeit gegen Lösemittel aufweist. Zudem ist es hydrophil, was mögliche Bindungseffekte mit den unpolaren PAK reduziert. Um den Einfluss des Spritzenvorsatzfilters isoliert betrachten zu können, wurde die Dosierlösung direkt durch den Spritzenvorsatzfilter in ein Autosampler-Vial überführt, ohne Belegung von Filtern oder Aufarbeitung.

Tabelle 17: Übersicht über die untersuchten Spritzenvorsatzfilter und ihre Merkmale.

Hersteller	Material	Porengröße	Durchmesser
Hersteller 1	PTFE (hydrophil)	0,45 µm	13 mm
Hersteller 1	PTFE (hydrophob)	0,45 µm	13 mm
Hersteller 1	PTFE	0,45 µm	25 mm
Hersteller 2	PTFE	0,45 µm	13 mm
Hersteller 2	PTFE	0,2 µm	13 mm
Hersteller 3	PTFE	0,2 µm	13 mm
Hersteller 4	PTFE	0,45 µm	13 mm
Hersteller 4	PTFE	0,2 µm	13 mm
Hersteller 4	Cellulose	0,45 µm	15 mm

Die Versuche ergaben, dass der Spritzenvorsatzfilter keinen Einfluss auf die Dosierlösung hat; die durchschnittliche Wiederfindungsrate über alle Filter und alle Analyten lag bei 99,9 %. Somit können die unterschiedlichen Spritzenvorsatzfilter der Teilnehmer der Testserien als Ursache für Differenzen zwischen den Messergebnissen ausgeschlossen werden. Ein Einfluss des Spritzenvorsatzfilters auf die Extraktion war nicht zu erwarten, da es sich bei PTFE um ein inertes Material handelt und die Poren lediglich zum Zurückhalten von groben Partikeln dienen, die sonst die HPLC-Säule verstopfen würden. Auch bei der Verwendung von Cellulose als Filtermaterial kann keine Veränderung der Wiederfindungsraten festgestellt werden. Die zuvor beschriebenen Anlagerungseffekte der PAK an Kunststoff, aus dem auch die für das Überführen verwendete Einwegspritze gefertigt ist, traten hier nicht auf, da die Kontaktzeit zwischen der Extraktionslösung mit den PAK und dem Kunststoff der Spritze zu kurz ist.

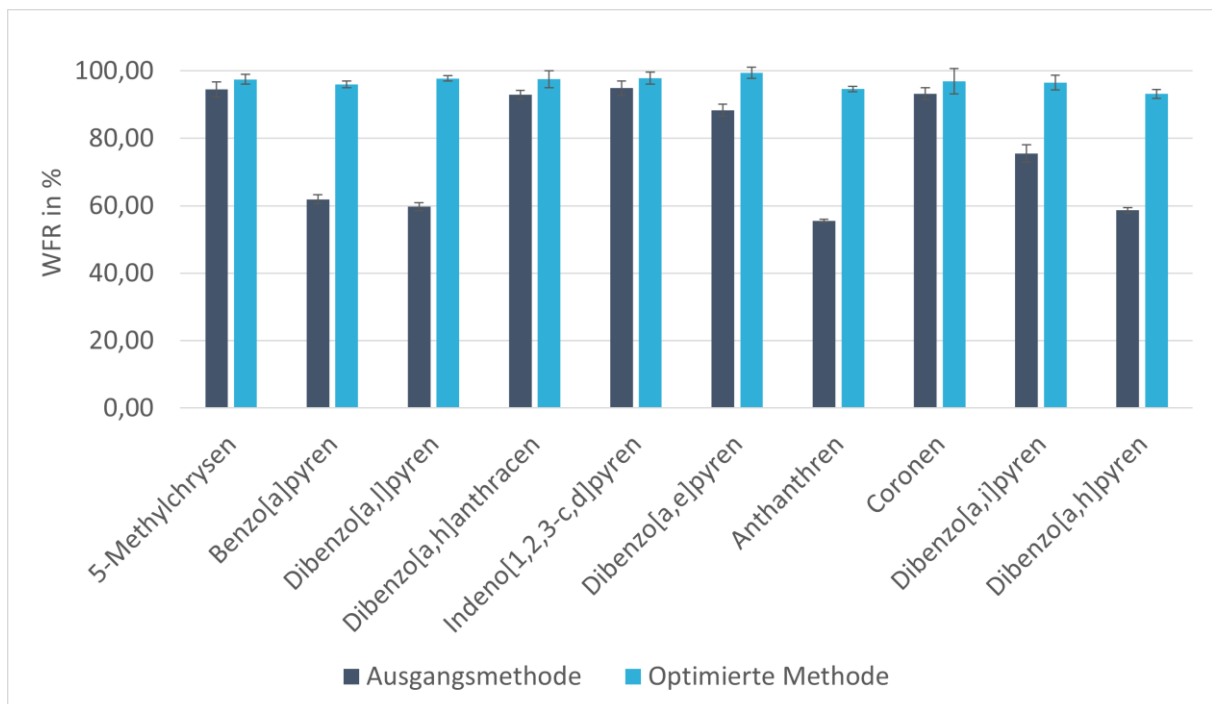
4.2.5.5 Ableitung der optimierten Methode

Folgende Tabelle fasst zusammen, welche der untersuchten Parameter einen Einfluss auf die Extraktionseffizienz haben und dementsprechend verändert wurden.

Tabelle 18: Vergleich der Parameter der Ausgangsmethode mit denen der optimierten Methode.

Parameter	Ausgangsmethode	Optimierte Methode
Filtermaterial	Quarzfaserfilter	PTFE-Filter (unlaminiert)
Belegung	Mischstandard mit allen PAK	Mischstandard und Dibenzo[a,l]pyren separat
Extraktionslösung	Acetonitril/Methanol (60/40 v/v)	
Ultraschallbad	1 h bei Raumtemperatur	
Schütteln	1 h	Ohne Schütteln
Spritzenvorsatzfilter	PTFE, 13 mm Durchmesser, 0,45 µm Porengröße	

In **Abbildung 34** sind die Wiederfindungsmethoden der Ausgangsmethode und der optimierten Methode gegenübergestellt. Dabei wird deutlich, dass die optimierte Methode bei allen PAK eine höhere Wiederfindungsrate erzielt. Der niedrigste Wert wird mit 93,2 % für Dibenzo[a,h]pyren erzielt, im Schnitt liegen die Wiederfindungsraten bei 96,7 %.

**Abbildung 34:** Vergleich der Wiederfindungsraten der Ausgangsmethode und der optimierten Methode.

4.2.6 Testserien und Auswertung

An den Testserien nahmen insgesamt acht verschiedene Labore teil, wobei nicht jedes Labor an jeder Testserie beteiligt war. Zudem konnten einige Labore nur eine eingeschränkte Auswahl an PAK analysieren (meist nur die EPA-PAK). Den Teilnehmenden war die Auswahl der Analysenmethode freigestellt, was auch die Aufarbeitung der zugesendeten Filter umfasst. **Tabelle 19** fasst die

Aufarbeitungs- und Analysemethoden der teilnehmenden Labore zusammen. Ein Kooperationspartner nahm mit zwei verschiedenen Abteilungen (HPLC-FLD und GC-MS, Labor 4 bzw. 5) an den Testserien teil; da es sich um voneinander unabhängige Labore handelt, werden die Datensätze individuell betrachtet. Bei den meisten Laboren blieb die Aufarbeitungsmethode über die Testserien unverändert; lediglich Labor 1 hat in Serie 2 und Serie 3 unterschiedliche Methoden verwendet.

Tabelle 19: Übersicht über die Teilnehmer der Testserien und ihre verwendeten Extraktions- und Analysemethoden.

Labor	Extraktionsmethode	Analysemethode
Labor 1	Dichlormethan, 15 min Ultraschallbad, Wiederholung mit frischem Dichlormethan, Kombination der beiden Extrakte und Aufkonzentration im Rotationsverdampfer, Resuspension in Acetonitril (Serie 2)	UPLC-FLD
	Acetonitril/Methanol (60/40), 1 h Ultraschallbad, 1 h Schütteln (Serie 3)	UPLC-FLD
Labor 2	Toluol, 1 h Ultraschallbad bei 60 °C, 1 h Schütteln, Aufkonzentration im Rotationsverdampfer	GC-MS, PTV-Injektion
Labor 3	Acetonitril/Methanol (60/40), 1 h Ultraschallbad, 3 h Schütteln bei 350 rpm, Filtrierung	HPLC-DAD/FLD
Labor 4	Acetonitril/Methanol (60/40), 1 h Ultraschallbad, 1 h Schütteln, Zentrifugieren ohne Filter für 30 min bei 6000 rpm, Filtrierung	HPLC-FLD
Labor 5	Toluol, 1 h Ultraschallbad bei 60 °C, 1 h Schütteln, Filtrierung	GC-MS, split/splitless-Injektion
Labor 6	Toluol, 1 h Ultraschallbad, 2 h Schütteln, Aufkonzentration im Rotationsverdampfer	GC-MS, split/splitless-Injektion
Labor 7	Acetonitril/Methanol (60/40), 1 h Ultraschallbad, 1 h Schütteln, Filtrierung	HPLC-FLD
Labor 8	Benzol, 30 min Ultraschallbad, Filtrierung über PTFE-Filter	GC-MS, split/splitless-Injektion
Labor 9	Toluol, 1 h Ultraschallbad, Filtrierung und Resuspension in Acetonitril, Aufkonzentration im Rotationsverdampfer	HPLC-FLD

4.2.6.1 Testserie 1

Die Filter für die erste Testserie wurden mithilfe des in Kapitel 4.2.2.2 beschriebenen Nanoliter-Dispensers hergestellt. Die Belegung der Filter wurde wie in Kapitel 3.3.3 beschrieben durchgeführt. Die Dosierparameter wurden so eingestellt, dass eine Masse von 70 ng pro PAK pro Filter erreicht werden sollte. Aufgrund einer unzureichenden Menge des Standards lag der Gehalt an

Dibenzo[a,h]pyren bei 20 ng pro Filter. Der Standard für Dibenzo[a,e]pyren war zum Zeitpunkt der Herstellung der Filter nicht verfügbar. Der Analyt Cyclopenta[c,d]pyren war in dieser Serie noch inkludiert, wurde wegen eines fehlerhaften DAD in der internen Qualitätskontrolle jedoch nicht gemessen. Für die Serie wurden Quarzfaserfilter verwendet. Die Filter wurden in Plastikkapseln verpackt und bis zum Versand bei 5 °C gelagert. Jedes Labor erhielt drei belegte Filter sowie einen unbelegten Filter zur Bestimmung von Hintergrundkonzentrationen. Nach Möglichkeit sollten die Filter in Doppelbestimmung gemessen werden. Die intern durchgeführte Qualitätskontrolle von 21 Filtern ergab die in **Tabelle 20** zusammengefassten Ergebnisse. Die inkonsistente Belegung zeigt sich in den hohen Werten für die RSD; die geringen Wiederfindungsraten zeigen, dass die Einstellung des Tropfenvolumens über die im Dosiergerät verbaute Kalibrationsfunktion nicht verlässlich ist.

Tabelle 20: Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle der in Testserie 1 hergestellten Filter.

Analyt	Sollwert pro Filter	Durchschnitt pro Filter	RSD
5-Methylchrysen	70 ng	48,12 ng	9,69 %
BaP	70 ng	79,85 ng	29,76 %
Dibenzo[a,l]pyren	70 ng	31,90 ng	11,79 %
Dibenz[a,h]anthracen	70 ng	34,60 ng	7,14 %
Indeno[1,2,3-cd]pyren	70 ng	43,16 ng	10,61 %
Anthanthren	70 ng	32,67 ng	40,24 %
Coronen	70 ng	14,98 ng	13,54 %
Dibenzo[a,i]pyren	70 ng	18,83 ng	20,00 %
Dibenzo[a,h]pyren	20 ng	6,30 ng	32,39 %

Als Grund für die Schwankungen innerhalb der Serie sind vor allem Luftbläschen im Dosierschlauch zu nennen. Die Filter wurden trotz der nicht zufriedenstellenden Qualitätskontrolle an die Teilnehmenden verschickt, um das Vorgehen beim Ringversuch grundsätzlich zu untersuchen und zu optimieren.

Für die erste Testserie sind insgesamt sechs Datensätze der externen Kooperationspartner eingegangen. Eine Hälfte der Labore verwendete eine HPLC-Methode, die andere eine GC-MS-Methode. Die Einzelwerte der jeweiligen Labore sind in **Tabelle 45** in **Anhang 4** zusammengefasst.

Die Ergebnisse der Teilnehmenden sind in **Abbildung 35** grafisch dargestellt. Die schwarzen Linien stellen den Sollwert von 70 bzw. 20 ng dar, die schwarzen Punkte die Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle. Anhand der Grafik wird deutlich, dass die Werte für viele PAK stark streuen. Aufgrund der hohen Varianz wird nach dem Grubbs-Test ($\alpha = 0,05$) keiner der Messwerte als Ausreißer identifiziert.

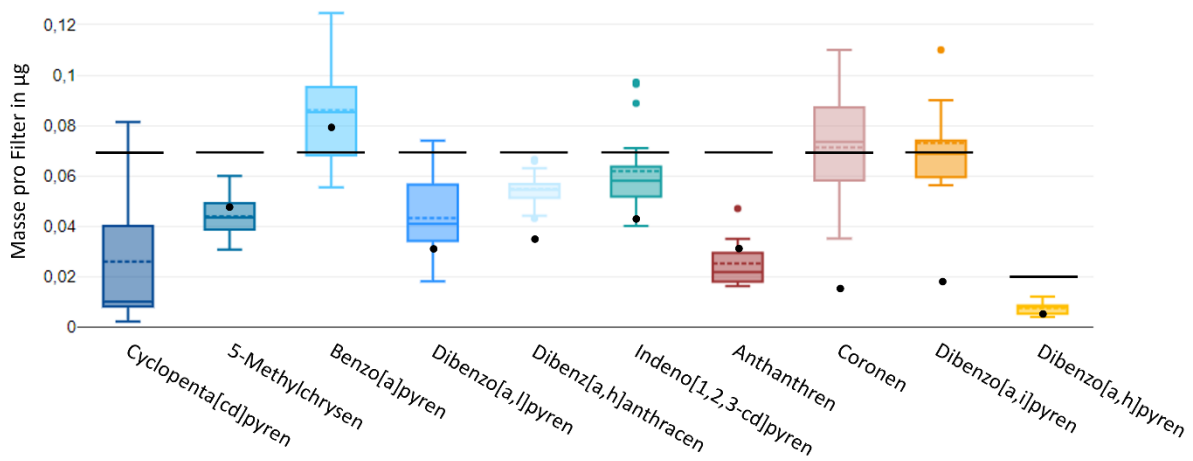


Abbildung 35: Darstellung der Messergebnisse der externen Labore für Serie 1 und des Soll-Werts von 70 bzw. 20 ng; die schwarzen Punkte stellen die Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle dar.

Anhand der Mittelwerte über alle Labore (gestrichelte Linien innerhalb der Kästchen) ist zu erkennen, dass auch die Teilnehmenden bei den meisten Analyten nicht den Zielwert von 70 ng pro PAK (bzw. 20 ng für Dibenzo[a,h]pyren) pro Filter erreichen. Auch in Relation zu den Ergebnissen der Qualitätskontrollproben (schwarze Punkte) sind Unterschiede erkennbar.

Sortiert man die Messergebnisse der Teilnehmer nach aufsteigender Filternummer (also in der Reihenfolge der Belegung), sind keine Trends wie beispielsweise eine kontinuierliche Zu- oder Abnahme der Masse erkennbar. Es handelt sich also wahrscheinlich um zufällige Effekte, die die Dosierung beeinflussen. Aus diesem Grund wurde das Dosiergerät in den weiteren Versuchen und Testserien nicht mehr verwendet.

4.2.6.2 Testserie 2

Die Filter für die zweite Testserie wurden auf zwei Konzentrationsniveaus mithilfe einer elektronischen Mehrfachdispenser-Pipette wie in Kapitel 3.3.3 beschrieben hergestellt. Die Dosierparameter wurden so eingestellt, dass eine Masse von 100 ng pro PAK pro Filter für Level 1 und 50 ng pro PAK pro Filter für Level 2 erreicht werden soll. Pro Konzentrationsniveau wurden insgesamt 75 Filter hergestellt. Der Analyt Cyclopenta[c,d]pyren war auch in dieser Serie noch inkludiert, ebenso wie alle anderen zehn RM-PAK. Für die Serie wurden Quarzfaserfilter verwendet. Die Filter wurden in Plastikkapseln verpackt und bis zum Versand bei 5 °C gelagert. Jedes Labor erhielt drei belegte Filter pro Level sowie einen unbelegten Filter zur Bestimmung von Hintergrundkonzentrationen. Nach Möglichkeit sollten die Filter in Doppelbestimmung gemessen werden. Die Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle der Filter sind in **Abbildung 36** und **Abbildung 37** dargestellt. Es wurden 30 zufällig ausgewählte Filter pro Level untersucht.

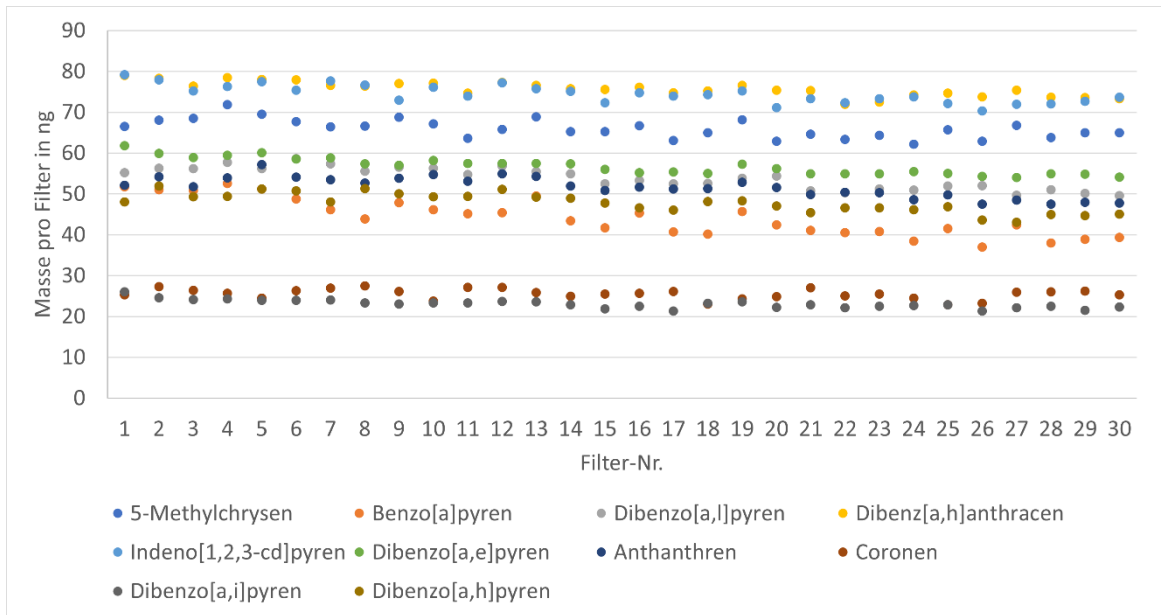


Abbildung 36: Interne Qualitätskontrolle von Level 1 der zweiten Testserie.

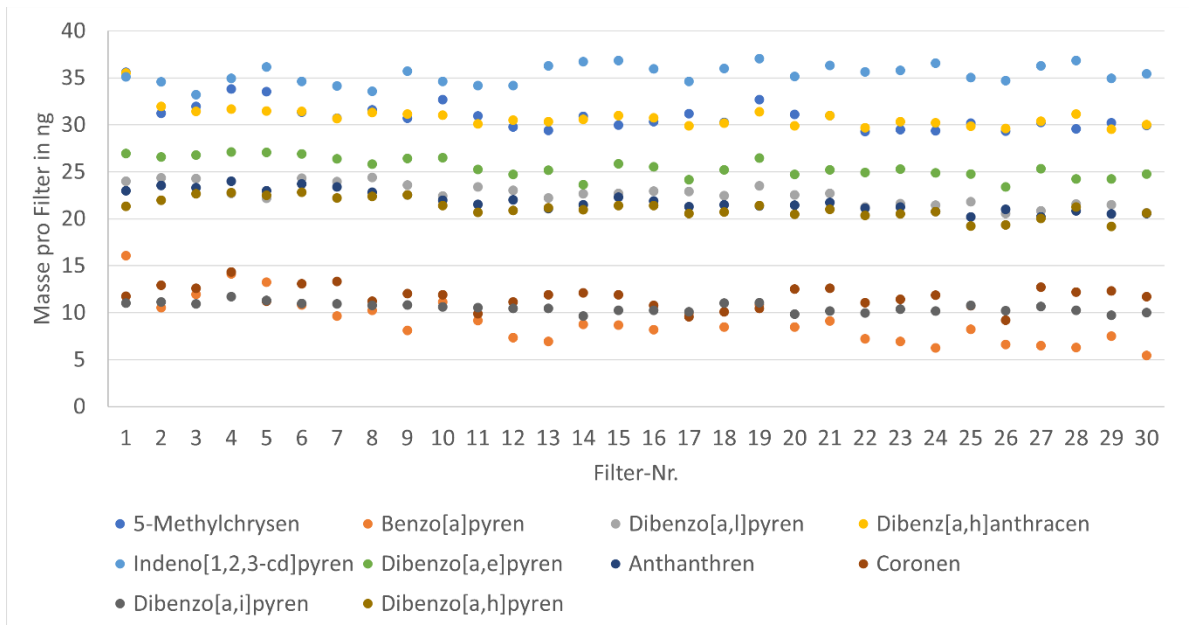


Abbildung 37: Interne Qualitätskontrolle von Level 2 der zweiten Testserie.

Anhand der Grafiken wird deutlich, dass die Gleichmäßigkeit der Belegung im Vergleich zur ersten Testserie erheblich verbessert wurde. Die Filter wurden zufällig ausgewählt und in der Reihenfolge der Darstellung in den obenstehenden Diagrammen analysiert. Der leichte Abwärtstrend der Ergebnisse wird auf eine nachlassende Empfindlichkeit des Analysengeräts zurückgeführt. Die größten Streuungen treten bei BaP und Coronen auf. Beide Stoffe weisen eine ungünstige Peakform im HPLC-Chromatogramm auf und sind in niedrigen Konzentrationsbereichen daher schwierig auszuwerten.

Tabelle 21 fasst die Ergebnisse der Qualitätskontrolle für beide Level zusammen. Bei Level 2 wurde für 5-Methylchrysen und für Dibenz[a,h]anthracen jeweils ein Ausreißer eliminiert.

Tabelle 21: Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle der Filter für Serie 2.

	Level 1		Level 2	
	Durchschnitt pro Filter	RSD	Durchschnitt pro Filter	RSD
5-Methylchrysen	65,98 ng	3,48 %	30,79 ng	3,99 %
BaP	44,27 ng	10,29 %	9,10 ng	27,20 %
Dibenzo[a,l]pyren	53,83 ng	4,94 %	22,62 ng	4,99 %
Dibenz[a,h]anthracen	75,30 ng	2,37 %	30,64 ng	2,22 %
Indeno[1,2,3-cd]pyren	74,48 ng	2,97 %	35,37 ng	2,89 %
Dibenzo[a,e]pyren	56,76 ng	3,61 %	25,48 ng	4,12 %
Anthanthren	51,68 ng	4,84 %	21,85 ng	4,98 %
Coronen	25,56 ng	4,90 %	11,68 ng	9,86 %
Dibenzo[a,i]pyren	23,07 ng	4,51 %	10,54 ng	4,74 %
Dibenzo[a,h]pyren	47,85 ng	4,95 %	21,15 ng	4,79 %

Ergebnisse der Teilnehmenden:

An Serie 2 haben insgesamt acht Labore teilgenommen, von denen fünf Labore bereits an Serie 1 teilgenommen haben, sodass die Ergebnisse der beiden Testserien miteinander vergleichbar sind. Die Messwerte von Labor 7 lagen bei fast allen Analyten extrem niedrig. Da die Verlässlichkeit der Messwerte dadurch unsicher ist, wurden die Daten dieses Labors komplett von der Auswertung exkludiert. Somit wurden insgesamt sieben Datensätze in der statistischen Auswertung berücksichtigt.

Die Ergebnisse der Teilnehmer für die beiden Level und der internen Qualitätskontrolle (schwarze Punkte) sowie die Sollwerte (schwarze Linien) sind in **Abbildung 38** dargestellt. Darin wird deutlich, dass die Varianz zwischen den verschiedenen Laboren deutlich geringer ist als in Serie 1, was die bessere Gleichmäßigkeit der Filterbelegung bestätigt. Auch die Streuung innerhalb der Labore über die drei analysierten Filter pro Level lag niedriger als in der ersten Testserie. Die ausreißerbereinigten Standardabweichungen liegen bei vielen Analyten in Bereichen, die bei der Etablierung eines neuen Ringversuchs zu erwarten sind (vgl. Kapitel 2.5.4), z. B. bei 18,13 % für Anthanthren (Level 2).

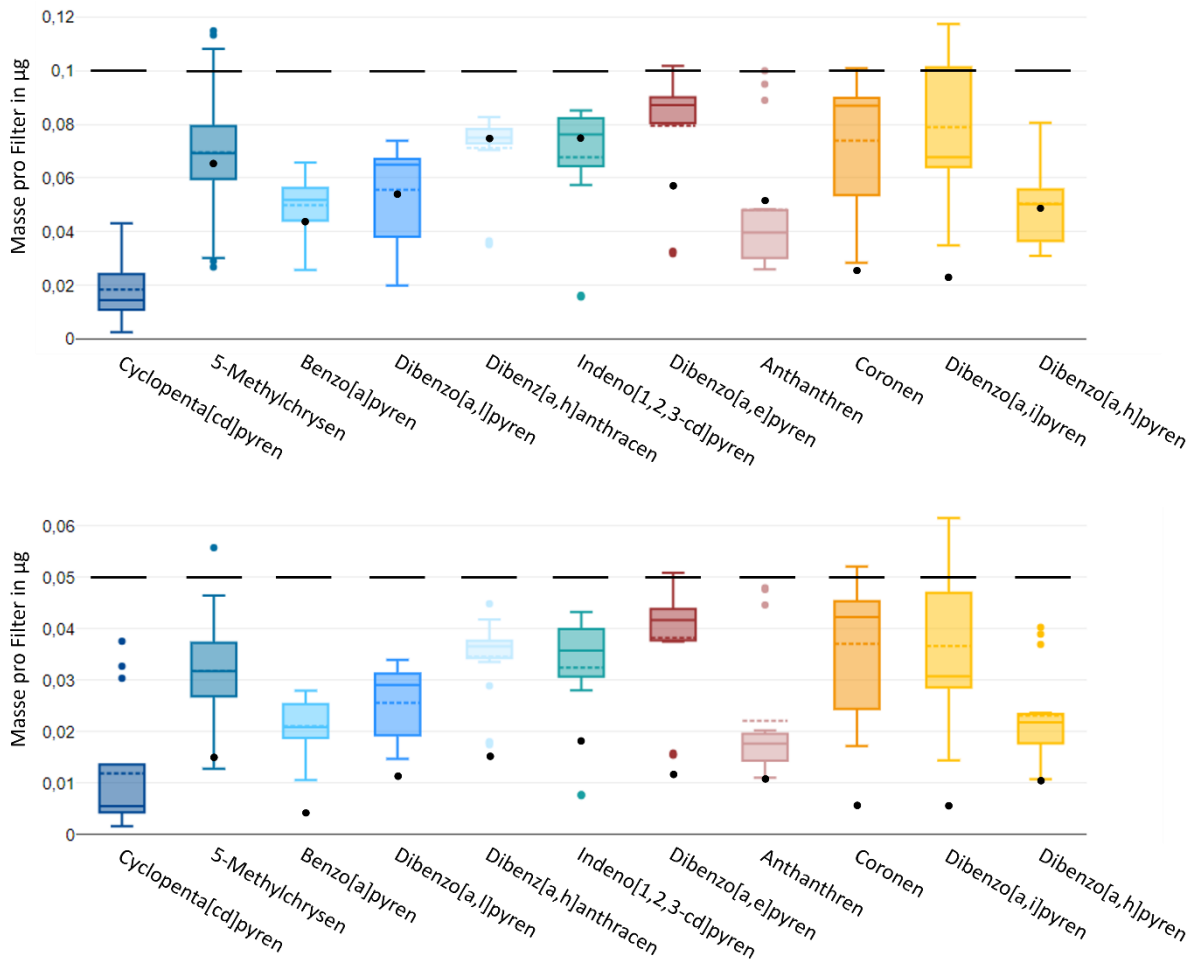


Abbildung 38: Darstellung der Ergebnisse der externen Labore für Testserie 2 für Level 1 (oben) und Level 2 (unten); die schwarzen Linien stellen den Sollwert dar, die schwarzen Punkte die Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle.

Problematisch sind jedoch die noch immer unbefriedigenden Wiederfindungsraten. Verwendet man die bereinigten Mittelwerte über alle Labore, liegt der prozentuale Anteil am Sollwert (100 bzw. 50 ng) bei durchschnittlich 63,9 % für Level 1 und ca. 58,3 % für Level 2. Cyclopenta[c,d]pyren liegt bei beiden Konzentrationsniveaus am weitesten entfernt vom Zielwert und wies die höchsten Standardabweichungen auf. Aus diesem Grund wurde Cyclopenta[c,d]pyren in der dritten Testserie sowie im Teststringversuch nicht mehr inkludiert.

Die Daten der externen Teilnehmer wurden auf zusätzliche Einflüsse untersucht. Dabei wurde der Zeitpunkt der Aufarbeitung, das Extraktionsmittel sowie das verwendete Analysensystem berücksichtigt. Für keinen dieser Parameter war ein Einfluss auf die Messergebnisse erkennbar. Allerdings war erkennbar, dass bei allen Laboren die EPA-PAK die geringste Streuung aufwies. Bei den Laboren, die eine HPLC-Methode zur Analyse verwenden, war außerdem erkennbar, dass die Streuung bei den spät eluierenden Substanzen am höchsten ist, was mit internen Beobachtungen in Bezug auf die Peakform dieser Analyten übereinstimmt.

Bei den internen Versuchen zu den Wiederfindungsraten wurde festgestellt, dass die Extraktionseffizienz von den Quarzfaserfiltern von Tag zu Tag schwankt, ohne dass eindeutige Einflussfaktoren identifiziert werden konnten. Durch einen Wechsel des Filtermaterials zu PTFE sollte demnach nicht nur die Wiederfindung, sondern auch die Reproduzierbarkeit verbessert werden. Die Labore, deren Datensätze (teilweise) exkludiert wurden, haben nach Bekanntgabe der Ergebnisse der zweiten Testserie ihre Kalibrierungen und Analysengeräte überprüft, um bei darauffolgenden Analysen genauere Ergebnisse zu erzielen.

4.2.6.3 Testserie 3

Die Filter für die dritte Testserie wurden mithilfe einer Mehrfachdispenser-Pipette wie in Kapitel 3.3.3 beschrieben hergestellt. Die Dosierparameter wurden so eingestellt, dass eine Masse von ca. 50 ng pro PAK pro Filter erreicht werden sollte. Dibenzo[a,l]pyren wurde als Einzelstandard neben den Mischstandard mit allen anderen RM-PAK (außer Cyclopenta[c,d]pyren) dosiert, wie in Kapitel 4.2.5.1 beschrieben. Auf Basis der Wiederfindungsversuche und der Ergebnisse aus der zweiten Testserie wurden nun PTFE-Filter für die Herstellung des Referenzmaterials verwendet. Dabei wurden zwei unterschiedliche Filter genutzt: der PTFE-Filter mit einer Porengröße von 3 μm und einer PE-Stützschiicht sowie der unlaminierte PTFE-Filter mit einer Porengröße von 1 μm (Filter Nr. 1 und 2, s. Kapitel 4.2.3, **Tabelle 15**). Die Filter wurden leicht eingerollt (mit der belegten Seite nach innen) in Glasvials verpackt und bis zum Versand bei 5 °C gelagert. Jedes Labor erhielt drei belegte Filter pro Filtertyp sowie jeweils einen unbelegten Filter zur Bestimmung von Hintergrundkonzentrationen. Nach Möglichkeit sollten die Filter in Doppelbestimmung gemessen werden. Pro Filtertyp wurden 40 Filter hergestellt, wovon jeweils 15 zufällig ausgewählte Filter für die interne Qualitätskontrolle verwendet wurden, deren Ergebnisse in **Abbildung 39** und **Abbildung 40** dargestellt sind. Bei beiden Filtertypen wurde ein Filter als Ausreißer identifiziert ($\alpha = 0,05$). Diese sind auf die Bildung von Satellitentropfen während des Belegungsprozesses zurückzuführen. Für den Ringversuch wird die Dosiergeschwindigkeit der Pipette auf 4 herabgesetzt, um solche Satellitentropfen zu verhindern.

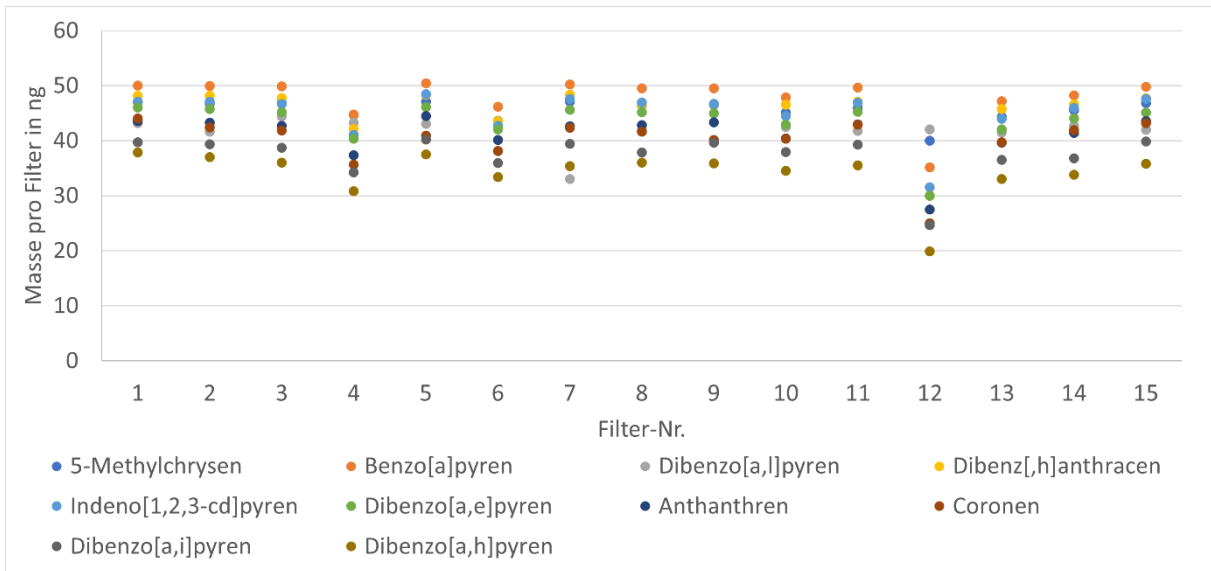


Abbildung 39: Interne Qualitätskontrolle der Filter mit PE-Stützschiicht der dritten Testserie.

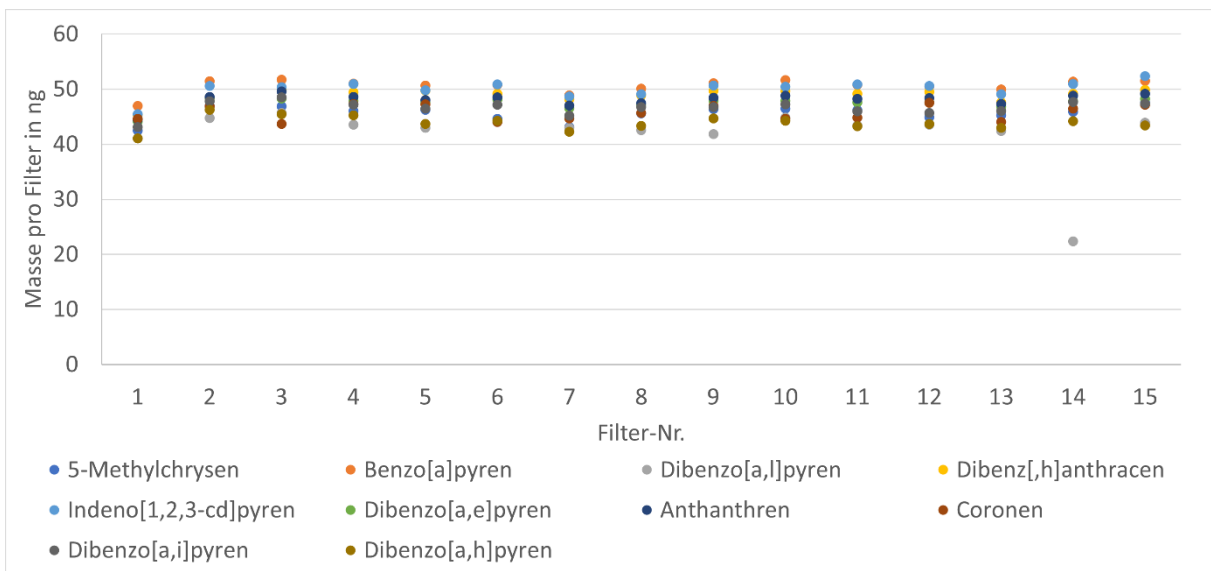


Abbildung 40: Interne Qualitätskontrolle der unlaminierten Filter der dritten Testserie.

In der Abbildung sind die Ausreißer klar erkennbar: Filter 12 beim Filter mit Stützschiicht sowie Filter 1 (für den Mischstandard) und Filter 14 (nur Dibenzo[a,l]pyren) beim unlaminierten Filter. Ansonsten weist die Dosierung bei beiden Filtertypen eine sehr gute Reproduzierbarkeit von durchschnittlich 4,23 % für bzw. 2,12 % auf. Die statistischen Ergebnisse der Qualitätskontrolle sind in **Tabelle 22** zusammengefasst.

Tabelle 22: Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle der dritten Testserie.

	Dosierlösung [ng/mL]	Filter mit Stützschrift		Unlamierte Filter	
		Mittelwert [ng/mL]	RSD	Mittelwert [ng/mL]	RSD
5-Methylchrysen	25,08	23,01	2,52 %	22,82	3,05 %
BaP	27,67	24,40	3,52 %	25,41	1,53 %
Dibenzo[a,l]pyren	23,62	21,01	3,63 %	27,71	2,84 %
Dibenz[a,h]anthracen	25,53	23,33	3,92 %	24,59	1,39 %
Indeno[1,2,3-cd]pyren	26,05	22,97	4,60 %	25,19	1,90 %
Dibenzo[a,e]pyren	24,99	22,17	4,03 %	23,85	1,14 %
Anthanthren	27,06	21,02	4,68 %	24,18	1,45 %
Coronen	23,03	20,55	5,35 %	22,86	3,08 %
Dibenzo[a,i]pyren	24,98	19,13	4,64 %	23,42	1,94 %
Dibenzo[a,h]pyren	25,37	17,59	5,41 %	21,93	2,92 %

In der Tabelle sind jeweils die Konzentrationen in der Extraktionslösung (mit entsprechender RSD) sowie in der Dosierlösung (als Kontrollmessung) angegeben. Durch die Aufarbeitung mit 2 mL der Extraktionslösung liegt die Konzentration um den Faktor 2 unter dem PAK-Gehalt pro Filter. Für die Kontrollmessung der Dosierlösung wurde eine identische Verdünnung gewählt. Hier wird deutlich, dass die Ergebnisse der unlamierten Filter bei allen Analyten näher an der Konzentration der Dosierlösung liegen, was die höhere Extraktionseffizienz aus den Vorversuchen zur Maximierung der Wiederfindungsraten bestätigt (vgl. Kapitel 4.2.3). Ebenso wird anhand der RSD deutlich, dass die unlamierten Filter eine geringere Streuung des PAK-Gehalts aufweisen als die Filter mit Stützschrift. Mit der dritten Testserie sollte nun untersucht werden, welcher Filtertyp bei externen Laboren die besseren Ergebnisse erzielt.

Ergebnisse der Teilnehmer:

An der dritten Testserie haben insgesamt sechs Labore teilgenommen. Insgesamt vier Datensätze wurden mittels HPLC bzw. UPLC bestimmt, drei Datensätze mittels GC-MS. Auch in dieser Serie bestehen die größten Unterschiede bezogen auf die Aufarbeitung der Filter im Extraktionsmittel (Acetonitril/Methanol oder Toluol). Ansonsten erfolgt auch diesmal die Extraktion hauptsächlich mittels Ultraschallbad und Schüttler.

In **Abbildung 41** und **Abbildung 42** sind die Ergebnisse der teilnehmenden Labore für die jeweiligen Filtertypen dargestellt. Die schwarze Linie zeigt den Soll-Wert von 50 ng an.

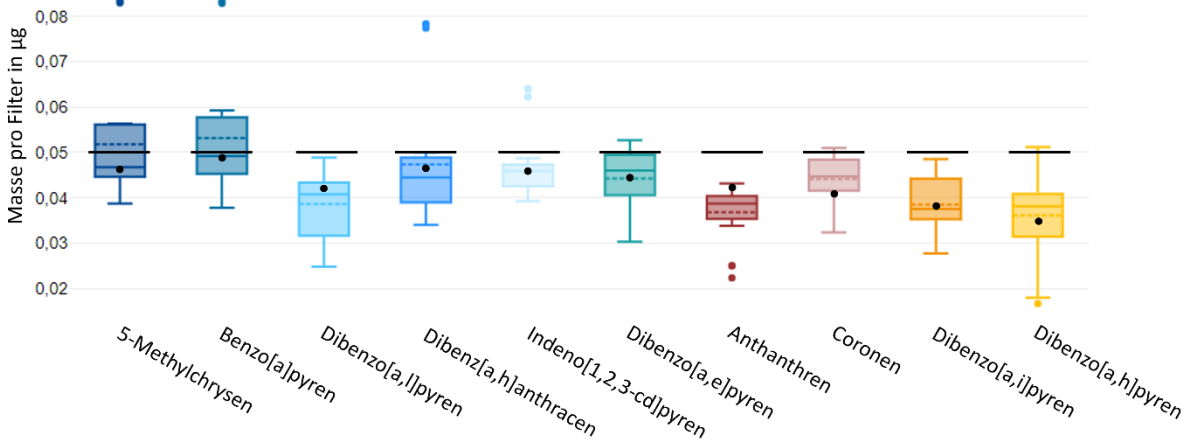


Abbildung 41: Darstellung der Ergebnisse der Teilnehmer der dritten Testserie für die Filter mit Stützschrift; schwarze Linie beim Soll-Wert von 50 ng, schwarze Punkte bei der internen Qualitätskontrolle.

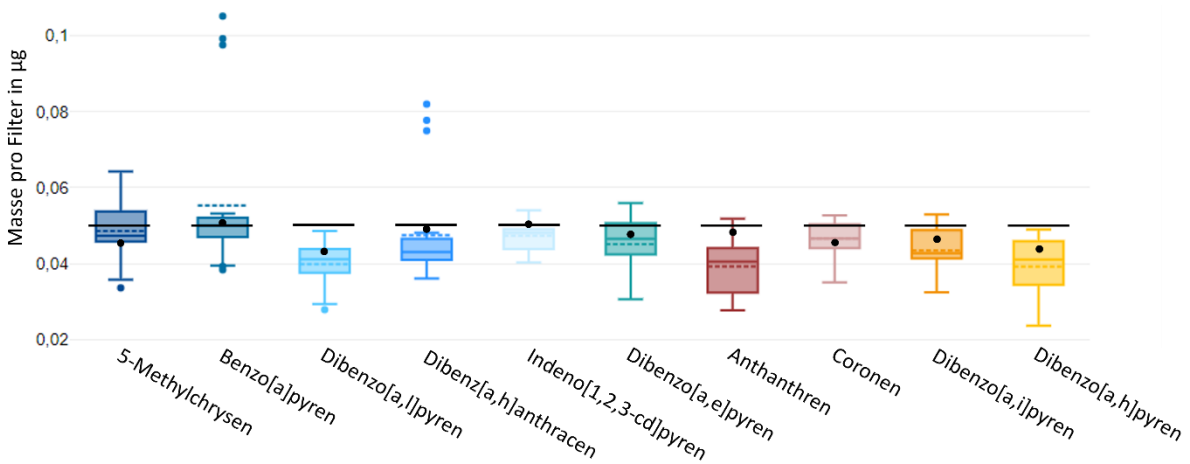


Abbildung 42: Darstellung der Ergebnisse der Teilnehmer der dritten Testserie für die unlaminierten Filter; schwarze Linie beim Soll-Wert von 50 ng, schwarze Punkte bei der internen Qualitätskontrolle.

Bei Betrachtung der Diagramme fallen einige Werte oberhalb des Durchschnitts als potenzielle Ausreißer auf. Nach dem Grubbs-Test ($\alpha = 0,05$) sind diese jedoch keine statistischen Ausreißer. Die auffälligen Werte für BaP und Dibenz[a,h]anthracen wurden bei beiden Filtertypen von demselben Labor ermittelt. Somit kann von einer fehlerhaften Kalibration dieser beiden Analyten ausgegangen werden. Ebenso liegen die Werte von Labor 3 für Anthanthren und Dibenz[a,h]pyren bei beiden Filtertypen auffällig niedrig. Die Ergebnisse beider Labore für die genannten Analyten werden wegen einer fehlerhaften Kalibration vom Gesamtdatensatz ausgeschlossen.

Die statistischen Parameter wie Streuung und Wiederfindungsrate wurden unter Berücksichtigung aller eingegangenen Messwerte und für den „ausreißerbereinigten“ Gesamtdatensatz berechnet (s. **Tabelle 23**).

Tabelle 23: Zusammenfassung der Ergebnisse der externen Labore für Serie 3; bereinigte RSD bezieht sich auf Ausreißer.

	Filter mit Stützschrift			Unlamierte Filter		
	RSD	Bereinigte RSD	Soll	RSD	Bereinigte RSD	Soll
5-Methylchrysen	27,45 %	27,45 %	93,0 %	16,49 %	16,49 %	97,1 %
BaP	26,30 %	12,72 %	96,1 %	35,21 %	9,57 %	95,5 %
Dibenzo[a,l]pyren	19,89 %	19,89 %	77,3 %	15,10 %	15,10 %	79,7 %
Dibenz[a,h]anthracen	28,69 %	11,58 %	84,5 %	28,11 %	8,64 %	84,7 %
Indeno[1,2,3-cd]pyren	15,31 %	15,31 %	89,1 %	8,66 %	8,66 %	94,5 %
Dibenzo[a,e]pyren	15,50 %	15,50 %	88,5 %	15,87 %	15,87 %	90,4 %
Anthanthren	15,71 %	6,22 %	77,9 %	16,24 %	16,24 %	78,5 %
Coronen	12,41 %	12,41 %	88,2 %	9,25 %	9,25 %	93,2 %
Dibenzo[a,i]pyren	16,00 %	16,00 %	77,0 %	11,70 %	11,70 %	86,9 %
Dibenzo[a,h]pyren	26,88 %	16,46 %	78,3 %	20,14 %	20,14 %	78,3 %

In der Tabelle ist hervorgehoben, welcher der beiden Filter im direkten Vergleich das bessere Ergebnis erzielt. Bei der RSD ist somit der jeweils niedrigere Wert markiert, bei Soll der höhere Wert. Dabei wird deutlich, dass die unlamierten Filter besser abschneiden, wenn der unbereinigte Datensatz betrachtet wird. Insgesamt wurden für den Filter mit Stützschrift 12 Datenpunkte von zwei verschiedenen Laboren als Ausreißer identifiziert und eliminiert, für die unlamierten Filter nur sechs Datenpunkte aus einem Labor. Letztere werden also weniger von Ausreißern betroffen. In Bezug auf die bereinigten Standardabweichungen ist kein Filtertyp überlegen. Allerdings zeigt der Vergleich der prozentualen Anteile am Sollwert, dass mit dem unlamierten Filter teils deutlich höhere Wiederfindungsraten erzielt werden. Dies bestätigt die Ergebnisse der internen Vorversuche und der Qualitätskontrollmessung der dritten Testserie. In Anbetracht der geringeren Wahrscheinlichkeit für Ausreißer und der besseren Extraktionseffizienz wird der unlamierte Filter als Basis für das Referenzmaterial für den Ringversuch ausgewählt.

Anhand der Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle und der geringen Streuung der externen Labore wird deutlich, dass die Belegung der Filter mit der hier etablierten Methode ausreichend gleichmäßig ist. Nun kann also überprüft werden, ob Extremwerte im Datensatz der Teilnehmenden auf Fehler der Labore zurückzuführen sind.

Bei der Einzelbetrachtung der Ergebnisse der Labore sind keine systematischen Ausreißer erkennbar, wie es beispielsweise für Labor 7 in Testserie 2 der Fall war. Vergleicht man die Ergebnisse von Labor 7 aus den Testserien 2 und 3, wird deutlich, dass die Überprüfung der Kalibrierung zu einer deutlichen

Verbesserung der Ergebnisse geführt hat (bezogen auf den Abstand der Einzelergebnisse zum Gesamtmittelwert).

Zu den auffälligsten Werten der dritten Testserie zählen vor allem die Datenpunkte von Labor 1 für BaP und Dibenz[a,h]anthracen. Da die Werte auf beiden Filtertypen überdurchschnittlich hoch liegen, sind diese Ausreißer wahrscheinlich auf eine fehlerhafte Kalibration zurückzuführen. Nach Rückfrage wurden von diesem Labor Probleme mit der Trennsäule angegeben, sodass diese als mögliche Fehlerquelle für die Ausreißer zu nennen ist.

Ein ähnliches Phänomen ist bei den Daten von Labor 3 zu erkennen. Bei beiden Filtertypen liegen die Ergebnisse für Anthanthren und Dibenzo[a,h]pyren deutlich unterhalb des Durchschnitts. Da beide Filtertypen betroffen sind, ist dies wahrscheinlich auf eine unzureichende Kalibration zurückzuführen.

Auch die Werte, die von Labor 6 ermittelt wurden, liegen tendenziell bei allen Analyten im unteren Bereich. Es handelt sich zwar um keine statistischen Ausreißer, allerdings sollte das Labor dennoch die Gerätekalibrierung überprüfen.

Auffällig sind auch die Ergebnisse von Labor 5 für den Filter mit Stützschiicht. Hier liegen die Messwerte von 5-Methylchrysen und Indeno[1,2,3-cd]pyren überdurchschnittlich hoch, nämlich etwa 79 bzw. 42 % über dem Durchschnitt. Für 5-Methylchrysen hatte dieses Labor bereits in der zweiten Testserie einen auffällig hohen Wert ermittelt. Beim unlaminierten Filter liegt das Ergebnis für 5-Methylchrysen jedoch nur durchschnittlich 28 % oberhalb des Durchschnitts. Hier sind also weitere Untersuchungen nötig, ob die hohen Messergebnisse auf den Filtertyp oder auf eine fehlerhafte Kalibration oder Auswertung zurückzuführen sind.

Beim Vergleich der Datensätze für das Labor, das sowohl HPLC- als auch GC-MS-Analysen durchgeführt hat, fällt auf, dass die Unterschiede zwischen den beiden Abteilungen (Labore 4 und 5) deutlich geringer sind als bei der zweiten Testserie. Für den unlaminierten Filter liegen die Ergebnisse zwischen HPLC und GC-MS maximal 13 % auseinander, was in etwa der durchschnittlichen RSD über alle Teilnehmer entspricht. Zudem wurden die Filter mit einem Abstand von fast drei Wochen aufgearbeitet, was ebenfalls geringe Schwankungen verursachen kann.

4.2.6.4 Zusammenfassung der Testserien

Insgesamt kann geschlussfolgert werden, dass die Reproduzierbarkeit durch die Anpassungen des Produktionsprozesses der Filter von Serie zu Serie verbessert werden konnte. Dies konnte sowohl durch die interne Qualitätskontrolle der Filter als auch durch die Ergebnisse der Teilnehmer bestätigt werden. **Tabelle 24** fasst die Verbesserungen in Bezug auf die Streuung der internen Qualitätskontrolle

und auf die Extraktionseffizienz zusammen. Dabei werden jeweils die ausreißerbereinigten Werte betrachtet. Für die zweite Testserie werden die Werte für Level 1 verwendet, für die dritte Testserie die Ergebnisse für die unlaminierten Filter. Anhand der Daten wird deutlich, dass insbesondere die Varianz der Filter stetig und für alle Analyten verbessert werden konnte. Auch die Extraktionseffizienz erreicht in der dritten Testserie bei allen Analyten ihr Maximum.

Tabelle 24: Entwicklung des Produktionsprozesses über die drei Testserien anhand der Streuung und den Wiederfindungsraten, die bei der internen Qualitätskontrolle ermittelt wurden.

	Streuung			Wiederfindung		
	S1	S2	S3	S1	S2	S3
5-Methylchrysen	9,69 %	3,48 %	3,05 %	68,75 %	65,98 %	91,3 %
BaP	29,76 %	10,29 %	1,53 %	114,07 %	44,27 %	101,6 %
Dibenzo[a,l]pyren	11,79 %	4,94 %	2,84 %	45,47 %	53,83 %	86,8 %
Dibenz[a,h]anthracen	7,14 %	2,37 %	1,39 %	49,42 %	75,73 %	98,4 %
Indeno[1,2,3-cd]pyren	10,61 %	2,97 %	1,90 %	61,66 %	74,48 %	100,7 %
Dibenzo[a,e]pyren	-	3,61 %	1,14 %	-	56,76 %	95,4 %
Anthanthren	40,24 %	4,84 %	1,45 %	46,67 %	51,68 %	96,7 %
Coronen	13,54 %	4,90 %	3,08 %	21,41 %	25,56 %	91,4 %
Dibenzo[a,i]pyren	20,00 %	4,51 %	1,94 %	26,89 %	23,07 %	93,7 %
Dibenzo[a,h]pyren	32,39 %	4,95 %	2,92 %	9,00 %	47,85 %	87,7 %

Insbesondere die dritte Testserie konnte zeigen, dass der an diesem Punkt etablierte Herstellungsprozess der Filter geeignet ist für die Nutzung im Ringversuch. Die einzige Änderung von Testserie 3 zum Testringversuch ist die Dosiergeschwindigkeit der Mehrfachdispenser-Pipette, die von 5 auf 4 reduziert wurde. Zudem wurde sich final für die Nutzung der unlaminierten Filter als Filtermaterial entschieden.

4.2.7 Ringversuch

4.2.7.1 Qualitätskontrolle der Filter

Die Filter für den ersten Ringversuch wurden auf zwei Konzentrationsniveaus wie in Kapitel 3.3.3 beschrieben mithilfe einer Mehrfachdispenser-Pipette hergestellt. Als Zielwerte wurden Massen von 40 ng für Level 1 und 80 ng für Level 2 pro PAK pro Filter angestrebt. Dazu wurden pro Filter 40 bzw. 80 µL der Dosierlösung ($c_{\text{sol}} = 1 \mu\text{g/mL}$ pro PAK, vgl. Kapitel 3.1) dosiert. **Tabelle 25** gibt die gemessene

Konzentration der Dosierlösung und die daraus resultierenden Sollwerte für den Gehalt pro PAK pro Filter an.

Tabelle 25: Konzentration der für den Ringversuch hergestellten Dosierlösung und den daraus resultierenden Sollwerten für die Filter der Levels 1 und 2.

	Dosierlösung	Soll Level 1	Soll Level 2
5-Methylchrysen	0,981 µg/mL	39,25 ng	78,51 ng
BaP	1,081 µg/mL	43,26 ng	86,52 ng
Dibenzo[a,l]pyren	0,892 µg/mL	35,68 ng	71,35 ng
Dibenz[a,h]anthracen	0,998 µg/mL	39,92 ng	79,85 ng
Indeno[1,2,3-cd]pyren	0,943 µg/mL	37,72 ng	75,44 ng
Dibenzo[a,e]pyren	0,957 µg/mL	38,29 ng	76,57 ng
Anthanthren	0,960 µg/mL	38,42 ng	76,84 ng
Coronen	0,937 µg/mL	37,47 ng	74,94 ng
Dibenzo[a,i]pyren	0,922 µg/mL	36,86 ng	73,72 ng
Dibenzo[a,h]pyren	0,891 µg/mL	35,64 ng	71,28 ng

Dibenzo[a,l]pyren wurde als Einzelstandard neben den Mischstandard mit allen anderen RM-PAK (außer Cyclopenta[c,d]pyren) dosiert, wie in Kapitel 4.2.5.1 beschrieben. Um die Bildung von Satellitentropfen zu verhindern, wurde die Dosiergeschwindigkeit der Pipette auf 4 reduziert und die Pipette wurde beim Dosieren so nah wie möglich an den Filter gehalten, ohne die Filteroberfläche zu berühren. Es wurden unlaminierte PTFE-Filter mit einer Porengröße von 1 µm verwendet (s. **Tabelle 34** in **Anhang 1**). Alle Filter wurden zuvor auf Hintergrundkonzentrationen getestet und stammen aus einer Herstellungscharge. Die Filter wurden leicht eingerollt (mit der belegten Seite nach innen) in Glasvials verpackt und bis zum Versand bei 5 °C gelagert. Jedes Labor erhielt drei belegte Filter pro Level sowie zwei unbelegte Filter zur Bestimmung von Hintergrundkonzentrationen. Alle Filter sollten in Doppelbestimmung gemessen werden. Von den 70 Filtern, die pro Level belegt wurden, wurden jeweils zehn zufällig ausgewählte Filter für die interne Qualitätskontrolle mittels HPLC zurückgehalten und ebenfalls in Doppelbestimmung analysiert. Aus der Doppelbestimmung wurde jeweils der Mittelwert gebildet. Keiner der Einzel- oder Mittelwerte wurde als Ausreißer identifiziert ($\alpha = 0,05$). Die Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle sind in **Abbildung 43** dargestellt.

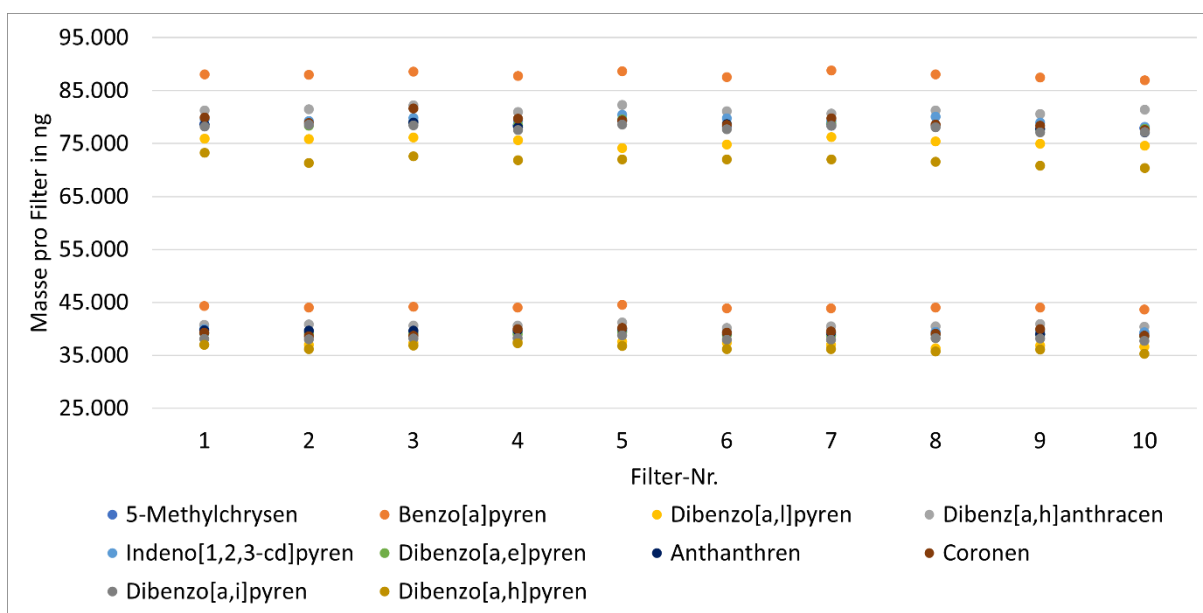


Abbildung 43: Interne Qualitätskontrolle der Filter des Teststringversuchs mittels HPLC, Level 1 (unten) und Level 2 (oben).

Die statistischen Parameter der Mittelwerte sind in **Tabelle 26** zusammengefasst. Die Spalte „WFR“ gibt an, wie nah die Messergebnisse an den Sollwerten liegen. Da diese Werte alle bei ca. 100 % liegen, wird deutlich, dass die PAK vollständig von den Filtern extrahiert werden.

Tabelle 26: Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle der Filter des Teststringversuchs mittels HPLC.

Analyt	Level 1			Level 2		
	Ø pro Filter	RSD	WFR	Ø pro Filter	RSD	WFR
5-Methylchrysen	39,17 ng	0,58 %	99,8 %	78,53 ng	0,63 %	100,0 %
BaP	44,05 ng	0,57 %	101,8 %	88,02 ng	0,66 %	101,7 %
Dibenzo[a,l]pyren	37,06 ng	1,08 %	103,9 %	75,42 ng	0,93 %	105,7 %
Dibenz[a,h]anthracen	40,64 ng	0,74 %	101,8 %	81,37 ng	0,71 %	101,9 %
Indeno[1,2,3-cd]pyren	39,36 ng	0,88 %	104,3 %	79,50 ng	0,81 %	105,4 %
Dibenzo[a,e]pyren	38,97 ng	0,58 %	101,8 %	78,53 ng	0,70 %	102,6 %
Anthanthren	39,41 ng	1,05 %	102,6 %	78,43 ng	0,80 %	102,1 %
Coronen	39,33 ng	1,41 %	105,0 %	79,28 ng	1,40 %	105,8 %
Dibenzo[a,i]pyren	38,15 ng	0,72 %	103,5 %	78,04 ng	0,72 %	105,9 %
Dibenzo[a,h]pyren	36,36 ng	1,74 %	102,0 %	71,84 ng	1,16 %	100,8 %

Durch die Bildung des Mittelwerts aus den Doppelbestimmungen der Filter wird die Varianz des Analysengeräts teilweise eliminiert. Dadurch sind noch geringere Standardabweichungen möglich als in der dritten Testserie. Auch bei Betrachtung aller Einzelwerte liegen alle Standardabweichungen (mit

einer Ausnahme) unterhalb von 3 % und erfüllen somit die gestellten Anforderungen an ein Probenset für Ringversuche.

Da mehr Filter produziert wurden, als für die Teilnehmer des Ringversuchs nötig waren, konnte auch eine Qualitätskontrolle mittels GC-MS durchgeführt werden. Diese beschränkte sich jedoch auf fünf Filter pro Level und wurde ca. vier Wochen nach der Belegung durchgeführt. Die zuvor durchgeführte Stabilitätsstudie ergab, dass bei einer gekühlten Lagerung nach vier Wochen mit Verlusten von durchschnittlich 3,62 % gerechnet werden muss (vgl. Kapitel 4.2.7.2). Die Filter weisen bei der Messung mittels GC-MS eine teils etwas höhere Streuung auf im Vergleich zur Messung mittels HPLC, was auf Verschleppungen im Injektor zurückzuführen ist, welche die Präzision der Messungen negativ beeinflussen. Die Ergebnisse der GC-MS-Messungen sind in **Abbildung 44** dargestellt sowie in **Tabelle 27** zusammengefasst.

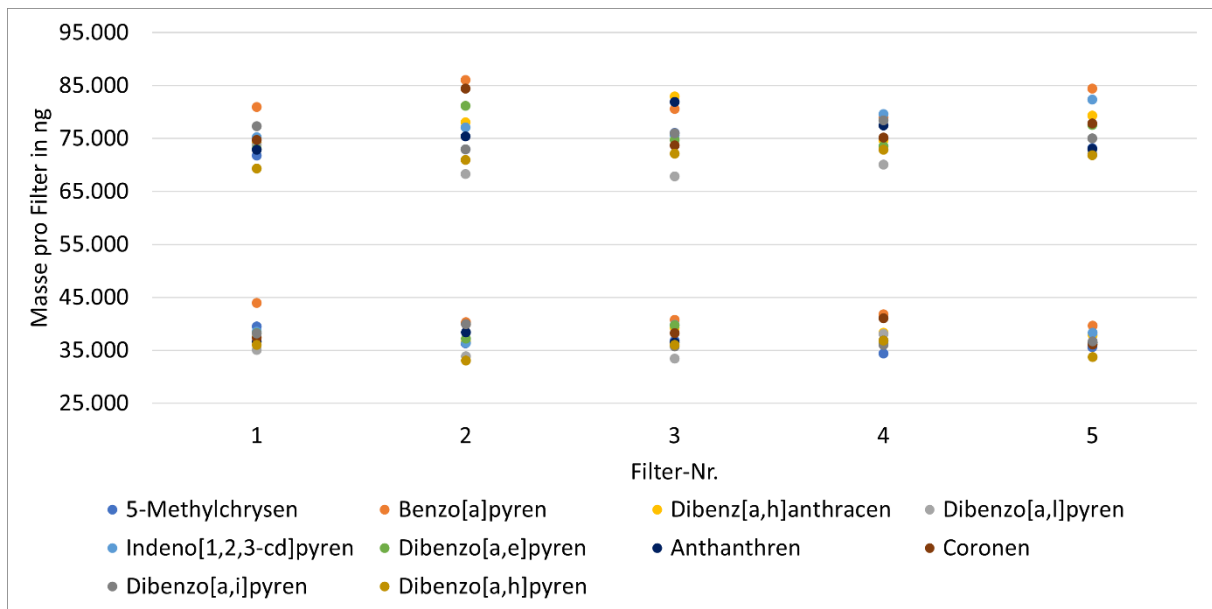


Abbildung 44: Interne Qualitätskontrolle der Filter des Testringversuchs mittels GC-MS, Level 1 (unten) und Level 2 (oben).

Tabelle 27: Ergebnisse der internen Qualitätskontrolle der Filter des Testringversuchs mittels GC-MS ca. vier Wochen nach der Belegung.

Analyt	Level 1			Level 2		
	Ø pro Filter	RSD	Differenz zur HPLC	Ø pro Filter	RSD	Differenz zur HPLC
5-Methylchrysen	36,51 ng	5,22 %	-6,78 %	73,80 ng	2,35 %	-6,02 %
BaP	41,33 ng	4,04 %	-6,18 %	82,19 ng	3,58 %	-6,62 %
Dibenzo[a,l]pyren	35,44 ng	5,45 %	-4,38 %	70,43 ng	3,61 %	-6,61 %
Dibenz[a,h]anthracen	37,96 ng	2,54 %	-6,61 %	77,84 ng	4,64 %	-4,33 %
Indeno[1,2,3-cd]pyren	37,98 ng	3,70 %	-3,50 %	78,00 ng	3,82 %	-1,89 %
Dibenzo[a,e]pyren	37,62 ng	3,76 %	-3,47 %	76,00 ng	4,43 %	-3,21 %
Anthanthren	37,00 ng	2,16 %	-6,12 %	76,16 ng	4,89 %	-2,90 %
Coronen	38,59 ng	5,18 %	-1,88 %	77,17 ng	5,60 %	-2,66 %
Dibenzo[a,i]pyren	37,35 ng	4,70 %	-2,11 %	75,95 ng	2,78 %	-2,67 %
Dibenzo[a,h]pyren	35,18 ng	4,69 %	-3,26 %	71,45 ng	1,91 %	-0,54 %

Der Vergleich der Messwerte mit den Ergebnissen der HPLC legt nahe, dass PAK mit im Vergleich relativ niedrigen Siedepunkten (vor allem 5-Methylchrysen ($T_B = 411 \text{ °C}$) und BaP ($T_B = 496 \text{ °C}$), vgl. **Tabelle 35** in **Anhang 1**) möglicherweise von Lagerverlusten betroffen sein könnten. Dennoch kann mithilfe der GC-MS-Messungen bestätigt werden, dass der PAK-Gehalt pro Filter im gewünschten Bereich liegt und dass die Relation zwischen Level 1 und 2 – also dass der Gehalt der Filter von Level 2 doppelt so hoch ist wie von Level 1 – korrekt ist.

4.2.7.2 Stabilität der Filter

Um die Stabilität der für den Ringversuch verwendeten Filter zu überprüfen, wurde eine Serie von 90 Filtern analog zur Belegung der Filter für den Ringversuch hergestellt. Dabei wurde ein PAK-Gehalt von 50 ng pro Filter angestrebt. Als Referenzpunkt für die Bestimmung der Lagerverluste wird der Gehalt von 10 Filtern am Tag der Belegung (= Tag 0) gemessen. Die restlichen Filter werden leicht eingerollt in Glasvials (mit der belegten Seite nach innen) gelagert: die eine Hälfte bei 5 °C , die andere bei Raumtemperatur. So soll verglichen werden, ob die Lagerbedingungen einen Einfluss auf potenzielle Verluste des PAK-Gehalts haben. Die Filter wurden zunächst nach drei und sieben Tagen, dann nach zwei, drei, vier, sechs, acht und 12 Wochen (jeweils berechnet am Zeitpunkt der Belegung) aufgearbeitet und analysiert. Pro Messzeitpunkt wurde der Gehalt von fünf Filtern pro Lagerungsart

gemessen. Die exakten Einzelwerte aller Messzeitpunkte sind in **Tabelle 43** und **Tabelle 44** in **Anhang 3** zu finden.

Die nachfolgende Tabelle fasst die Konzentration der Extraktionslösung der Filter von Tag 0 sowie die Verluste nach einigen ausgewählten Lagerzeitpunkten zusammen. Für den Ringversuch war ursprünglich ein Zeitrahmen von vier Wochen für die Analyse der zugesandten Filter vorgesehen. Dieser Zeitrahmen wurde aufgrund von Verzögerungen bei der Zusendung der Ergebnisse um zwei Wochen verlängert, daher sind in **Tabelle 28** die Verluste nach bis zu sechs Wochen dargestellt. Die Streuung der Anfangskonzentrationen liegt zwischen 0,8 und 3,5 % und bestätigt somit die gleichmäßige Belegung der Filter.

Tabelle 28: Ausgewählte Messzeitpunkte der Stabilitätsstudie der unlaminierten Filter, Verluste in Relation zur Konzentration der Extraktionslösung am Tag der Belegung (Tag 0).

	Tag 0 [ng/mL]	Lagerung bei 5 °C			Lagerung bei Raumtemperatur		
		Woche 1	Woche 4	Woche 6	Woche 1	Woche 4	Woche 6
5-Methylchrysen	28,372	-12,0 %	-15,4 %	-16,5 %	-21,6 %	-31,5 %	-34,8 %
BaP	32,005	-3,8 %	-8,5 %	-8,9 %	-11,2 %	-16,7 %	-18,2 %
Dibenzo[a,l]pyren	27,061	-1,0 %	-6,5 %	-3,1 %	-9,6 %	-12,6 %	-10,4 %
Dibenz[a,h]anthracen	28,822	-2,1 %	-4,5 %	-4,6 %	0,1 %	-2,3 %	-2,1 %
Indeno[1,2,3-cd]pyren	27,746	-0,3 %	-2,3 %	-2,3 %	-3,9 %	-9,7 %	-10,3 %
Dibenzo[a,e]pyren	27,038	1,3 %	-0,7 %	-0,9 %	1,5 %	2,5 %	2,5 %
Anthanthren	25,062	1,7 %	2,4 %	2,2 %	-2,0 %	0,0 %	-1,0 %
Coronen	27,952	1,4 %	0,5 %	0,1 %	4,2 %	-1,9 %	-0,4 %
Dibenzo[a,i]pyren	26,678	0,6 %	-0,2 %	0,3 %	0,6 %	-0,4 %	-0,3 %
Dibenzo[a,h]pyren	22,999	-0,7 %	-1,0 %	-2,7 %	-4,2 %	-1,0 %	-0,5 %

Anhand der Tabelle wird deutlich, dass die Verluste bei den PAK mit der geringsten Molekülmasse (bzw. mit relativ niedrigen Siedepunkten, vgl. **Tabelle 35** in **Anhang 1**) am höchsten sind. Zudem führt die Lagerung bei Raumtemperatur zu höheren Verlusten als die gekühlte Lagerung. Die Streuung der Messwerte je Analysentag nimmt im Laufe der Studie zu; dennoch kann aufgrund des weitestgehend konsistenten Konzentrationsverlaufs davon ausgegangen werden, dass die Verluste auf allen Filtern gleichmäßig entstehen und nicht auf zufällige Effekte zurückzuführen sind. Vielmehr ist davon auszugehen, dass die Verluste durch Verdampfung der Analyten von den Filtern entstehen. Bei einigen Analyten steigt der gemessene Gehalt auf den Filtern über zwei Messzeitpunkte an (z. B. bei Coronen). Dies ist auf die Schwankung des Analysengeräts zurückzuführen.

Der Gehalt der Filter beträgt nach sechs Wochen gekühlter Lagerung durchschnittlich noch 96,4 % des Anfangsgehalts, was eine sehr gute Stabilität der Filter belegt. Wie den Gesamtdaten im Anhang zu entnehmen ist (vgl. **Tabelle 43** und **Tabelle 44, Anhang 3**), kann bei Lagerung bei ca. 5 °C auch nach zwölf Wochen noch ein Gehalt von durchschnittlich 95,4 % des Anfangsgehalts erwartet werden; lediglich bei 5-Methylchrysen und BaP muss mit Verlusten von > 10 % gerechnet werden. Bei ungekühlter Lagerung hingegen betragen die Verluste bis zu 40 %, was die Wichtigkeit der gekühlten Lagerung nach der Probenahme – insbesondere für die eher leichtflüchtigen Analyten – betont. In **Abbildung 45** ist beispielhaft der prozentuale Konzentrationsverlauf für einen leicht- und einen schwerflüchtigen PAK (5-Methylchrysen bzw. Coronen) jeweils bei ungekühlter und gekühlter Lagerung dargestellt. Anhand der Darstellung wird der Einfluss der Lagerungsbedingungen im Hinblick auf die Flüchtigkeit der Analyten deutlich.

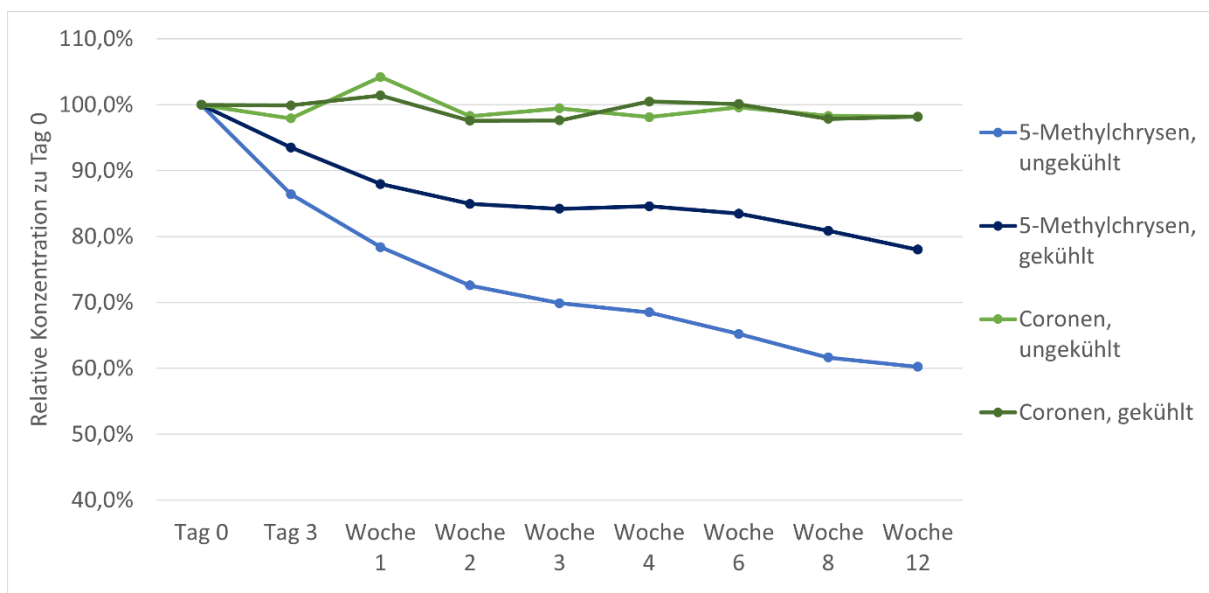


Abbildung 45: Vergleich des Konzentrationsverlaufs während der Stabilitätsstudie für 5-Methylchrysen und Coronen, jeweils bei unterschiedlichen Lagerbedingungen.

4.2.7.3 Ergebnisse der Teilnehmenden

An dem Teststringversuch haben 13 Labore teilgenommen, wobei ein Labor zwei Probensets zugeschickt bekommen hat, um sowohl seine HPLC- als auch seine GC-MS-Methode zu verwenden. Die Ergebnisse der beiden Probensets werden unabhängig voneinander betrachtet. Insgesamt sind demnach 14 Datensätze eingegangen, wobei nicht jedes Labor alle zehn Analyten untersucht hat. Eine Übersicht über die von den teilnehmenden Laboren verwendeten Aufarbeitungs- und Analysenmethoden ist in **Tabelle 29** zu finden.

Tabelle 29: Übersicht über die von den Teilnehmenden des Ringversuchs verwendeten Aufarbeitungs- und Analysemethoden.

Labornr.	Aufarbeitungsmethode	Analysemethode
1	Soxhlett-Extraktion mit Ethylacetat + Aufkonzentrieren	GC-MS
13	2 mL Acetonitril/Methanol (60/40), 1 h Ultraschallbad	HPLC-FLD
33	3 mL Toluol, 30 min Ultraschallbad, 2 h Schütteln	GC-MS
52	0,5 mL Aceton, 1 h Ultraschallbad, Einengen auf 1 mL	GC-MS
130	Toluol/Cyclohexan, 15 min unter erhöhtem Druck	GC-MS
150	5 mL Acetonitril/Methanol (60/40), 1 h Ultraschallbad, 1 h Schütteln	HPLC-FLD
200	5,5 mL Toluol, 1 h Ultraschallbad (60 °C), 1 h Schütteln (RT)	GC-MS
203	2 mL Acetonitril/Methanol (60/40), 1 h Ultraschallbad, 1,5 h Schütteln bei 420 rpm	HPLC-FLD
231	2 mL Cyclohexan, 1 h Ultraschallbad, 1 h Schütteln	GC-MS
238	4 mL Dichlormethan, Ultraschallbad	GC-MS
248	4 mL Toluol, Ultraschallbad	HPLC/ GC-MS
266	5 mL Benzol, 30 min Ultraschallbad	GC-MS
267	8 mL Hexan/Aceton (90/10 v/v), 1 h Ultraschallbad, Einengen auf 1 mL	GC-MS
519	2 mL Toluol, 1 h Ultraschallbad, 1 h Schütteln	GC-MS

Für die Auswertung der Ergebnisse der externen Labore werden die in der internen Qualitätskontrolle ermittelten Gehalte als Referenzwerte verwendet. Für die Beurteilung der Messwerte wird neben der Laborstandardabweichung (über die drei Filter pro Level) und der RSD über alle Labore (pro Analyt) auch der Z-Score für die einzelnen Labore und Analyten herangezogen. Der Z-Score ergibt sich aus dem Abstand des Messwerts vom Referenzwert dividiert durch die maximal zulässige Standardabweichung. Letztere wird bei Ringversuchen des IFA in der Regel auf 10 % festgelegt. Ein Z-Score ≤ 1 kennzeichnet ein gutes Ergebnis, ein Z-Score ≤ 2 ein zufriedenstellendes Ergebnis. Ergebnisse mit Z-Scores > 2 werden als fragwürdig gekennzeichnet, > 3 als äußerst fragwürdig. Der Toleranzbereich ist definiert durch die untersten und obersten Messwerte, für die der Z-Score bei einem Wert von 2 liegt.

Bei der Untersuchung der Daten auf Ausreißer wird zwischen verschiedenen Typen unterschieden:

- Typ A: Einzelausreißer (nach Grubbs)
- Typ B: abweichender Labormittelwert (nach Grubbs)
- Typ C: überhöhte Laborstandardabweichung (nach Cochran)
- Typ D: manuell entfernter Wert
- Typ E: Mittelwert außerhalb des Toleranzbereichs
- Typ F: Betrag des Z-Scores $> 3,50$

Ergebnisse können auch als mehrere Typen klassifiziert werden, beispielsweise als Typ E und Typ F. Aus dem Datensatz für Level 1 wurden elf Ausreißer des Typs C, drei Ausreißer des Typs E und drei

Ausreißer des Typs F identifiziert. Insgesamt wurden 14 Werte als Ausreißer vom Gesamtdatensatz eliminiert. Bei Level 2 wurden sechs Typ-C-Ausreißer und drei Typ-F-Ausreißer eliminiert. In den Rohdaten in **Tabelle 50** und **Tabelle 51** in **Anhang 4** ist erkennbar, welche Einzelwerte als Ausreißer identifiziert wurden.

Abbildung 46 zeigt eine grafische Zusammenfassung der ausreißerbereinigten Ergebnisse der Teilnehmenden. Die schwarzen Linien geben den Referenzwert aus der internen Qualitätskontrolle an. Bei Betrachtung der Grafiken – insbesondere im Vergleich zur Darstellung der Testserien – ist zu beachten, dass die y-Achse eine kleinere Spannweite hat (von 0,035 bis 0,045 μg bzw. 0,065 bis 0,090 μg). So ist eine detaillierte Darstellung der Ergebnisse möglich.

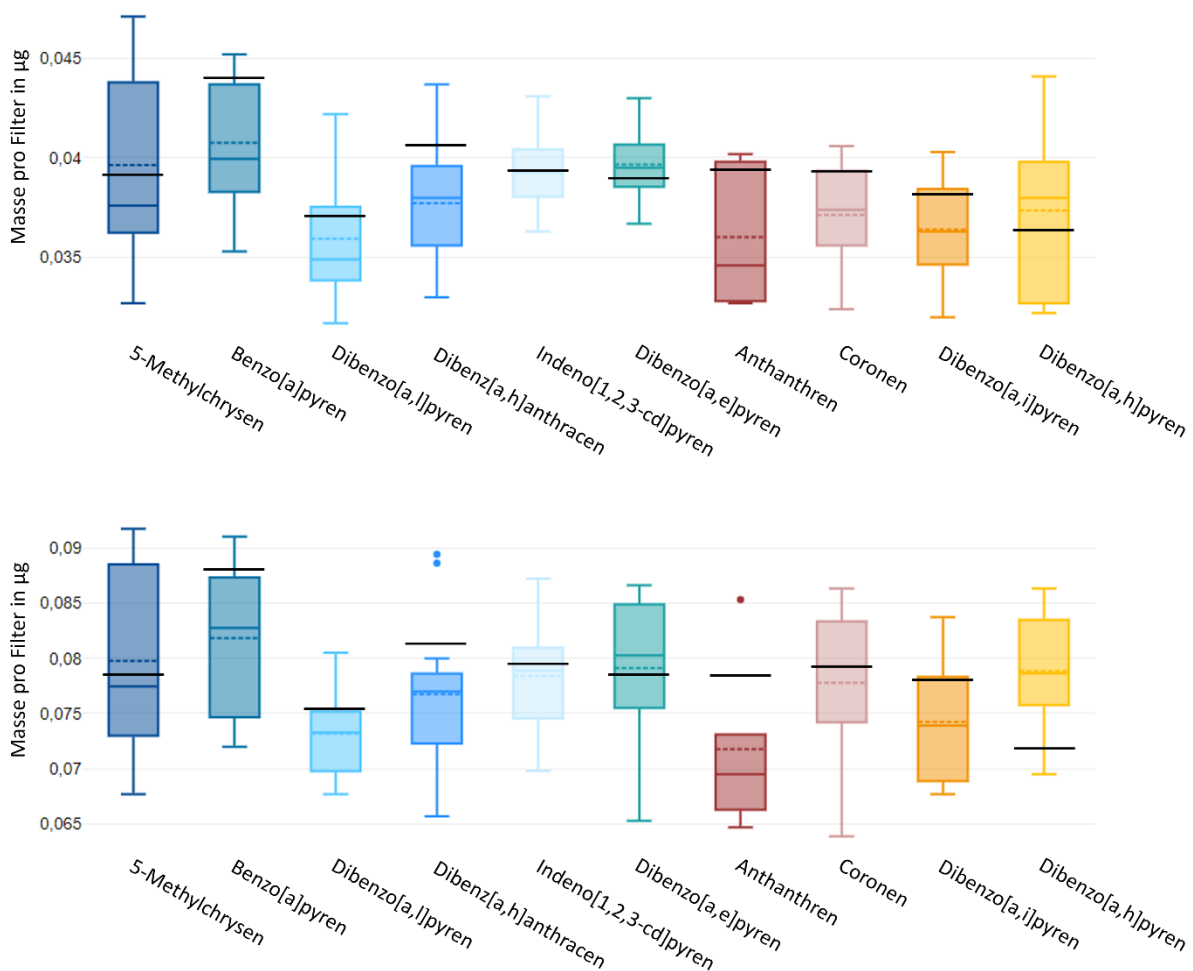


Abbildung 46: Darstellung der Ergebnisse der Teilnehmenden des ersten Ringversuchs für Level 1 (oben) und Level 2 (unten).

Anhand der Abbildungen wird deutlich, dass die Mittelwerte der Teilnehmenden (gestrichelte Linien) bei vielen Analyten nahe am Referenzwert liegen. Bei keinem Analyt weicht der Mittelwert über alle Teilnehmenden mehr als 10 % vom Referenzwert ab. Die genauen relativen Abweichungen sowie die Mittelwerte über alle Labore und die entsprechende RSD sind in **Tabelle 30** zusammengefasst. Zudem ist angegeben, wie viele Datensätze für die statistische Auswertung herangezogen werden konnten.

Tabelle 30: Statistische Auswertung der ausreißerbereinigten Ergebnisse des ersten Ringversuchs.

Level 1	Mittelwert [µg/Filter]	RSD	Abweichung Referenzwert	Anzahl Datensätze
5-Methylchrysen	0,0396	13,54 %	1,21 %	7
BaP	0,0408	7,70 %	-7,48 %	12
Dibenzo[a,l]pyren	0,0359	9,65 %	-3,02 %	7
Dibenz[a,h]anthracen	0,0377	8,67 %	-7,17 %	11
Indeno[1,2,3-cd]pyren	0,0393	5,09 %	-0,12 %	12
Dibenzo[a,e]pyren	0,0397	5,48 %	1,78 %	6
Anthanthren	0,0360	10,31 %	-8,60 %	5
Coronen	0,0371	8,29 %	-5,59 %	6
Dibenzo[a,i]pyren	0,0364	8,03 %	-4,59 %	7
Dibenzo[a,h]pyren	0,0374	13,39 %	2,74 %	5
Level 2	Mittelwert [µg/Filter]	RSD	Abweichung Referenzwert	Anzahl Datensätze
5-Methylchrysen	0,0798	11,27 %	1,57 %	8
BaP	0,0818	7,94 %	-7,04 %	12
Dibenzo[a,l]pyren	0,0732	6,45 %	-2,95 %	6
Dibenz[a,h]anthracen	0,0768	9,53 %	-5,67 %	11
Indeno[1,2,3-cd]pyren	0,0784	6,50 %	-1,40 %	12
Dibenzo[a,e]pyren	0,0791	8,94 %	0,74 %	8
Anthanthren	0,0718	11,44 %	-8,48 %	5
Coronen	0,0778	9,82 %	-1,90 %	8
Dibenzo[a,i]pyren	0,0742	8,34 %	-4,87 %	7
Dibenzo[a,h]pyren	0,0788	7,92 %	9,74 %	6

Wie in der Tabelle dargestellt, liegt die RSD bei 5-13 % für Level 1 und bei 6-11 % für Level 2. Im Schnitt kann für Level 1 und 2 eine RSD von 9,02 bzw. 8,82 % ermittelt werden. Dies entspricht in etwa der durchschnittlichen Varianz in etablierten Ringversuchen ohne eigene Probenahme^[122] und impliziert eine sehr gute Gleichmäßigkeit der Filterbelegung bzw. eine sehr gute Leistungsfähigkeit der teilnehmenden Laboratorien.

Vergleicht man die Streuung der Teilnehmerdaten für die EPA-PAK und alle nicht-EPA-PAK, wird deutlich, dass die Varianz bei den EPA-PAK etwas niedriger ist: 7,15 gegen 9,81 % für Level 1 und 7,99 gegen 9,17 % für Level 2. Dies spiegelt wider, dass die Analyse der EPA-PAK bereits etabliert ist. Zudem lagen für die EPA-PAK die meisten auswertbaren Datensätze vor. Für eine bessere Vergleichbarkeit der beiden Analytgruppen wären gleich große Datensätze erforderlich.

4.2.7.4 Detaillierte Betrachtung der Labore

Im Folgenden sollen die Z-Scores der Labore näher betrachtet werden. Die grafische Darstellung der Z-Scores für die beiden Konzentrationsniveaus ist in **Abbildung 47** gezeigt.

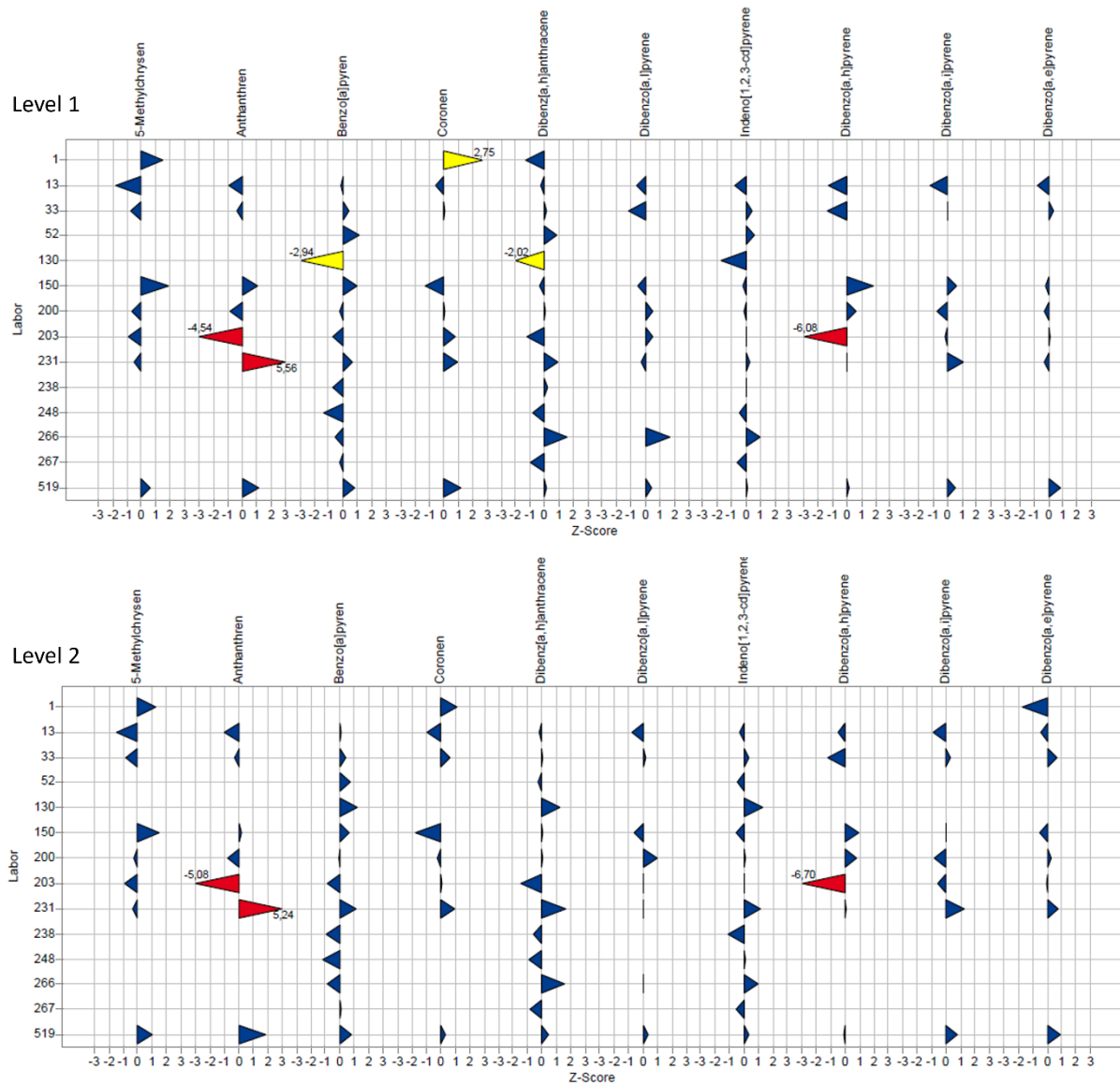


Abbildung 47: Grafische Darstellung der Z-Scores der Teilnehmenden des Ringversuchs für Level 1 (oben) und Level 2 (unten); Z-Scores ≤ 3 sind gelb dargestellt, > 3 rot.

Die Z-Scores zeigen, wie nah die Messergebnisse der einzelnen Labore am Referenzwert liegen. Zudem wird durch diese Darstellung erneut bestätigt, bei welchen Analyten die geringste Streuung auftritt, beispielsweise bei Indeno[1,2,3-cd]pyren. Die farblich hervorgehobenen Z-Scores korrelieren mit den Ausreißern des Typs E (Mittelwert außerhalb des Toleranzbereichs) und F ($|Z\text{-Score}| \geq 3,5$).

Betrachtet man die Z-Scores der einzelnen Labore, stehen einige Auffälligkeiten ins Auge. Beispielsweise liegen die Z-Scores von Labor 203 für Anthanthren und Dibenz[a,h]pyren bei beiden Konzentrationsniveaus extrem hoch (-4,54 und -6,06 bzw. -5,08 und -6,70). Die Betrachtung der

Einzelwerte zeigt, dass die von diesem Labor ermittelten Gehalte auf den Filtern etwa um den Faktor 2 vom Referenzwert abweichen. Das Labor hat bereits als Kooperationspartner an den Testserien teilgenommen (Labor 3); in der dritten Testserie lagen die Ergebnisse dieses Labors für die beiden genannten Analyten ebenfalls deutlich unterhalb des Durchschnitts (vgl. Kapitel 4.2.6.3). Auf Nachfrage wurde bestätigt, dass es sich um ein Problem mit der Kalibration, also um einen systematischen Fehler handelt.

Ebenfalls auffällig sind die Messwerte von Labor 130. Dieser Teilnehmer hat nur die drei EPA-PAK analysiert, allerdings wurden alle Messwerte auf beiden Konzentrationsniveaus als Ausreißer identifiziert: Zwei Messwerte auf Level 1 lagen außerhalb des Toleranzbereichs und wurden so als Typ-E-Ausreißer klassifiziert, bei den anderen Messwerten handelt es sich aufgrund der hohen Laborstandardabweichung um Ausreißer des Typs C. Die hohe Laborstandardabweichung wird bei Betrachtung einzelner Analyten im Vergleich zu den anderen Teilnehmenden deutlich, wie in **Abbildung 48** am Beispiel von BaP (Level 1) dargestellt ist.

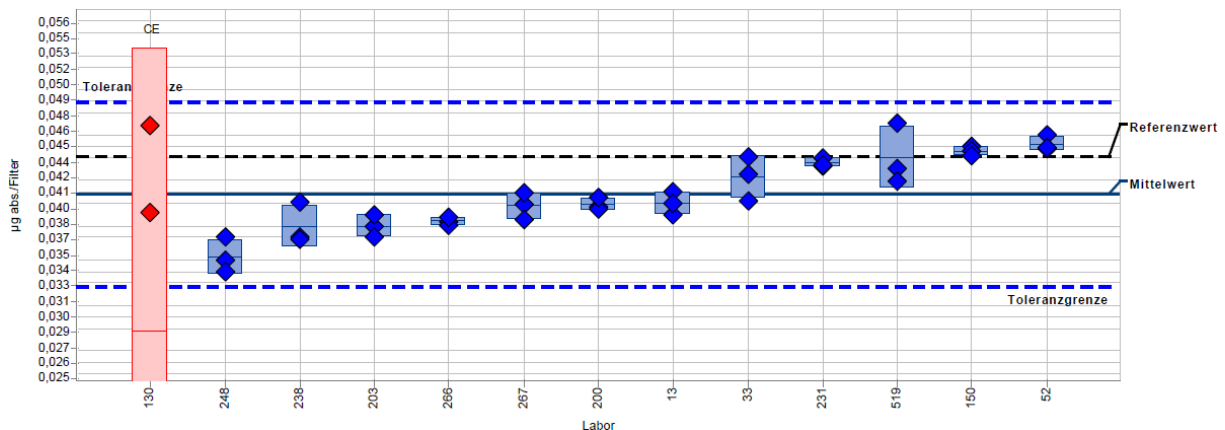


Abbildung 48: Einzeldarstellung der Ergebnisse des Ringversuchs für BaP auf Level 1.

In der Grafik sind die für BaP ermittelten Ergebnisse für die drei Filter pro Labor zusammengefasst. Die Messwerte sind nach aufsteigender Konzentration des Labormittelwerts sortiert. Bei allen Laboren außer Labor 130 liegen die Messwerte für die drei Filter nah beieinander, sodass die Varianzhomogenität nach Cochran gegeben ist. Bei Labor 130 hingegen weichen die Ergebnisse der Filter voneinander ab; der dritte Messwert liegt so niedrig, dass er in der Grafik nicht mehr dargestellt wird. Der Mittelwert liegt außerhalb des Toleranzbereichs, somit handelt es sich um einen Ausreißer der Typen C und E.

Auch für Dibenz[a,h]anthracen und Indeno[1,2,3-cd]pyren wurden die Messwerte des Labors 130 aufgrund der hohen Laborstandardabweichung als Ausreißer identifiziert, die Ergebnisse zeigen eine ähnliche Verteilung wie bei BaP. So könnte die hohe Differenz zwischen den ermittelten Werten für den PAK-Gehalt auf die zugesandten Filter zurückzuführen sein. Das Labor fällt jedoch auch bei den

Filtern auf Level 2 wegen seiner hohen Laborstandardabweichung auf. Hier liegen die Messwerte eher im überdurchschnittlich hohen Bereich, wie in **Abbildung 49** zu sehen ist.

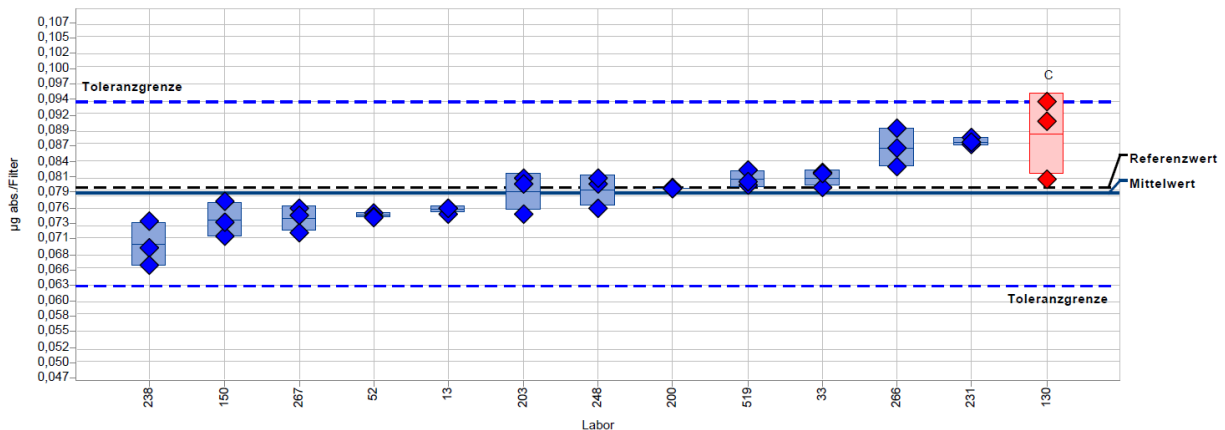


Abbildung 49: Einzeldarstellung der Ergebnisse des Ringversuchs für Indeno[1,2,3-cd]pyren auf Level 2.

Da der Mittelwert bei allen drei EPA-PAK innerhalb des Toleranzbereichs liegt, handelt es sich hierbei um Typ-C-Ausreißer. Die Wahrscheinlichkeit, dass dem Labor auf beiden Konzentrationsniveaus „schlechte“ Filter zugeschickt wurden, ist sehr gering, zumal die Filter für jedes Labor zufällig aus der Gesamtheit der 70 belegten Filter ausgewählt wurden. Labor 130 verwendet als einziger Teilnehmer im Rahmen der Probenaufarbeitung ein Gerät für die Lösemittlextraktion unter erhöhtem Druck. Dieses Gerät stellt eine potenzielle Fehlerquelle dar, sodass evaluiert werden muss, ob die Laborstandardabweichung durch eine Re-Kalibrierung des Extraktionsgeräts oder ggf. durch eine Änderung der Aufarbeitungsmethode reduziert werden kann.

Vergleicht man die Ergebnisse der HPLC-Labore mit denen der GC-MS-Labore, ist kein Trend erkennbar. Auf Level 1 weist die Gruppe der HPLC-Labore bei vier Analyten die geringere Varianz auf, hinsichtlich der Abweichung vom Referenzwert zeigt sie bei drei PAK die besseren Werte. Hingegen ist die RSD der HPLC-Labore auf Level 2 bei sechs Analyten geringer, die Abweichung vom Referenzwert bei zwei Analyten. Somit können keine allgemeingültigen Aussagen darüber getroffen werden, ob eines der beiden Analysensysteme für die Messung des PAK-Gehalts auf den Filtern besser geeignet ist. Die GC-MS-Labore verwenden zumeist einen internen Standard zur Berücksichtigung von Verlusten während der Probenaufarbeitung, während sich die HPLC-Labore auf eine externe Kalibration beziehen. Jedoch ist zu beachten, dass von den 14 Datensätzen nur vier mithilfe einer HPLC-Methode ermittelt wurden.

Zum Schluss soll verglichen werden, ob die Kooperationspartner aus den Testserien bessere Ergebnisse erzielt haben als die anderen Teilnehmenden. Die Hälfte der 14 Datensätze stammt von den Kooperationspartnern, welche zumeist alle zehn Analyten untersucht haben. Hingegen beschränken sich die Ergebnisse der anderen Labor zum Großteil auf die drei EPA-PAK. Daher ist ein Vergleich nur bei den drei EPA-PAK sinnvoll. Dabei wird deutlich, dass die Kooperationspartner sowohl in Bezug auf

die Streuung als auch auf die Abweichung vom Referenzwert die besseren Ergebnisse erzielen. Dies wird auch anhand der durchschnittlichen Z-Scores deutlich; beispielsweise liegt der Z-Score über alle Kooperationspartner für BaP auf dem unteren Konzentrationsniveau bei 0,539, während der Durchschnitt für alle anderen Teilnehmenden mit 1,165 mehr als doppelt so hoch ist. Diese Beobachtung wiederholt sich auch bei den anderen beiden EPA-PAK auf beiden Konzentrationsniveaus. Ähnlich verhält es sich mit der Streuung in Form der RSD, welche bei den Kooperationspartnern zumeist geringer ist (z. B. 6,42 gegen 10,01 % bei BaP, Level 1). Dies zeigt, dass diese Labore bereits durch die Teilnahme an den Testserien ihre Methoden überprüfen und ggf. verbessern oder anpassen konnten. Somit ist zu erwarten, dass sich die Ergebnisse der Labore, die zum ersten Mal am Ringversuch teilgenommen haben, im Laufe weiterer Ringversuche verbessern werden.

Fazit:

Als Schlussfolgerung aus den Ergebnissen des Ringversuchs lässt sich festhalten, dass die in dieser Arbeit etablierte Methode zur Belegung der Filter auch bei den Teilnehmenden zu zufriedenstellenden Ergebnissen führt. Durch die Vergleichbarkeit der Streuung der Daten mit anderen Ringversuchen des IFA wird die Gleichmäßigkeit der Filterbelegung bestätigt. Die Z-Scores zeigen zudem, dass die meisten Teilnehmenden Messwerte nah am Referenzwert ermittelt haben. Dies bestätigt die gute Extraktionseffizienz von den PTFE-Filtern und die Eignung des Referenzmaterials zur Nutzung im Ringversuch.

5 Zusammenfassung

Das erste Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung zweier analytischer Methoden für die Messung höhermolekularer PAK an Arbeitsplätzen. Dazu wurden eine HPLC-FLD-Methode sowie eine GC-MS-Methode entwickelt, optimiert und validiert. Die statistischen Parameter der beiden Methoden wie die Sensitivität und die Linearität wurden miteinander verglichen. Dieser Vergleich ergab, dass die GC-MS-Methode insgesamt eine höhere Sensitivität und einen größeren linearen Messbereich aufweist. Die GC-MS-Methode ist mit einer Analysenzeit von ca. zwei Stunden pro Messung jedoch nur schwierig umsetzbar in die Routine- und Auftragsanalytik. Die HPLC-Methode hingegen erlaubt eine kürzere Analysenzeit und weist insbesondere für die schwerflüchtigen PAK ebenfalls eine gute Sensitivität auf. Allgemein ist die GC-MS-Methode vor allem für leichter flüchtige PAK besser geeignet, die HPLC-Methode eher für schwerflüchtige Analyten. Dies entspricht den Erwartungen, da die schwerflüchtigen PAK hohe Siedepunkte (≥ 400 °C) aufweisen, die die Verdampfung im GC-MS erschweren. Durch die Verwendung eines FLD ist die HPLC-Methode für alle PAK ausreichend empfindlich und erreicht bei den meisten Analyten die Anforderungen des Mindestmessbereichs, der sich an der Akzeptanzkonzentration von BaP als Leitsubstanz orientiert.

Der zweite Teil der Arbeit behandelte die Entwicklung eines Referenzmaterials für höhermolekulare PAK, welches in Ringversuchen verwendet werden soll. Zunächst wurde eine Auswahl an PAK für das Referenzmaterial getroffen. Dabei lag der Fokus auf Analyten, die ein kanzerogenes Potenzial aufweisen. Weitere Kriterien waren die Verfügbarkeit geeigneter Analysenstandards sowie die Relevanz für Arbeitsplätze mit PAK-Belastung. Auf dieser Basis wurden elf PAK ausgewählt, von denen drei zu den EPA-PAK gehören. Die zuvor etablierten analytischen Methoden wurden an diese elf Analyten angepasst, um eine optimale Trennung bei möglichst kurzer Analysenzeit und möglichst hoher Sensitivität zu erreichen.

Anschließend wurde der Produktionsprozess für das Referenzmaterial entwickelt. Dazu wurden verschiedene Geräte und Methoden getestet. Zunächst wurden zwei Geräte verwendet, die auf einer piezoelektrischen Dosierung beruhen und bei wässrigen Lösungen Tropfen im μL - bzw. nL -Bereich herstellen können. Jedoch konnte bei beiden Geräte keine stabile und reproduzierbare Tropfenherstellung erreicht werden, da die PAK-Standards in Acetonitril vorliegen und somit eine zu geringe Viskosität und Oberflächenspannung aufweisen. Auch eine Anreicherung der Dosierlösung mit viskositätssteigernden Substanzen brachte keinen Erfolg. Final wurde sich für die Dosierung der PAK-Lösung mittels Mehrfachdispenser-Pipette entschieden, da so reproduzierbare Tropfen mit $< 1\%$ Streuung dosiert werden konnten.

Der nächste Schritt umfasste die Bestimmung des optimalen Basismaterials für das Referenzmaterial. Zunächst wurden ausschließlich Quarzfaserfilter verwendet, da sich diese bei der Dosierung von Tropfen im nL- und µL-Bereich als besser erwiesen haben gegenüber wasserabweisenden Materialien. Da durch die Dosierung mittels Mehrfachdispenser-Pipette aber das Problem abperlender Tropfen zu beherrschen war, wurden auch PTFE-Filter in Erwägung gezogen und auf ihre Eignung untersucht. Parallel dazu wurden Versuche zur Maximierung der Wiederfindungsraten der PAK von den Filtern durchgeführt. Durch diese Versuche sollte auch untersucht werden, ob bzw. welche Schritte der Probenaufarbeitung einen Einfluss auf die Extraktionseffizienz der Filter haben. In diesem Zusammenhang wurde festgestellt, dass Adsorptionseffekte von PAK an Kunststoff – und zu geringen Anteilen auch an Glasoberflächen – eine Minderung der Extraktionseffizienz verursachen können

Weiterhin konnte festgestellt werden, dass die PTFE-Filter eine geringere Streuung der Messergebnisse aufweisen und die Extraktionseffizienz von Tag zu Tag konsistenter ist als bei den Quarzfaserfiltern. Aufgrund dessen wurden als Basis für das Referenzmaterial unlaminierte PTFE-Filter ohne Polymer-Stützschiicht ausgewählt. Zudem wurde Toluol als Lösemittel mit der besten Extraktionseffizienz für PAK identifiziert, wobei die Unterschiede zur Extraktion mit anderen Lösemitteln wie Acetonitril/Methanol gering sind. Durch die Variation der Extraktionsbedingungen konnte die Wiederfindungsrate von Dibenzo[a,l]pyren bei Dosierung im Mischstandard nicht gesteigert werden. Hingegen wurde festgestellt, dass dieses Problem durch die separate Dosierung auf dem Filter als Einzelstandard umgangen werden kann.

Die einzelnen Anpassungsschritte des Produktionsprozesses wurden sowohl durch interne Messungen als auch durch externe Kontrollen evaluiert. In drei Testserien wurden Filter produziert, im Rahmen der Qualitätskontrolle intern analysiert und zur Validierung der Gleichmäßigkeit des PAK-Gehalts an externe Labore verschickt. Diese haben ihre eigenen Aufarbeitungs- und Analysemethoden verwendet, um den PAK-Gehalt auf den Filtern zu messen, analog zum Vorgehen bei Ringversuchen. Die Ergebnisse der externen Labore spiegelten dabei in den meisten Fällen die Schlussfolgerungen aus der internen Qualitätskontrolle der Testserien wider, beispielsweise dass der unlaminierte Filter eine geringere Streuung der Ergebnisse aufweist als der Filter mit Stützschiicht (s. Kapitel 4.2.6.3). Die sukzessive Verbesserung des Produktionsprozesses führte schließlich zu einer RSD der intern gemessenen Filter von < 2 %.

Diese hohe Reproduzierbarkeit konnte in einem ersten Ringversuch bestätigt werden. Die Streuung der Analyten lag zwischen 5,09 und 13,54 %, die durchschnittliche RSD von 8,92 % entspricht in etwa dem Durchschnitt der Streuung anderer Ringversuche am IFA ohne eigene Probenahme. Dabei wichen die Mittelwerte über alle teilnehmenden Labore maximal 9,74 % vom Referenzwert (der internen Qualitätskontrolle) ab, was die Richtigkeit des PAK-Gehalts bzw. der internen Qualitätskontrolle sowie die Leistungsfähigkeit der teilnehmenden Labore belegt. Aus den Gesamtdatensätzen für die beiden

Konzentrationsniveaus wurden einige Labormittelwerte aufgrund einer hohen Laborstandardabweichung über die drei zugeschickten Filter eliminiert. Bei zwei Teilnehmern ist eine Systematik der Ausreißer erkennbar, welche auf eine fehlerhafte Kalibration hindeutet. Bei den anderen Ausreißern handelt es sich jedoch um Einzelfälle, sodass hier zufällige Fehler während der Probenaufarbeitung als Gründe für die hohe Varianz heranzuziehen sind.

Durch die guten Ergebnisse des Ringversuchs konnte nachgewiesen werden, dass der in dieser Arbeit etablierte Herstellungsprozess zur Belegung der Filter zu einer hohen Gleichmäßigkeit und Reproduzierbarkeit des PAK-Gehalts auf den Filtern führt. Die so hergestellten Filter sind für die Nutzung im Ringversuch geeignet und erfüllen das zuvor genannte Kriterium von Streuungen $< 3 \%$.

6 Ausblick

Bei ausreichend vielen Teilnehmern wird der Ringversuch für höhermolekulare PAK in Zukunft jährlich angeboten, ggf. sogar halbjährlich. Dabei kann die Konzentration jedes einzelnen PAK durch die Anpassung der Dosierlösung bzw. des dosierten Volumens variiert werden. Auch eine Änderung der Zusammensetzung der Dosierlösung ist möglich, sodass einzelne Analyten ausgetauscht werden können. Da der Produktionsprozess bereits etabliert ist, muss bei solchen Änderungen nur noch überprüft werden, wie hoch die Wiederfindungsraten liegen und ob die Analyten auf den Filtern stabil sind. Zudem kann der Produktionsprozess auf andere partikuläre Schadstoffe angewendet werden, die an Arbeitsplätzen relevant sind und für die ein Ringversuch etabliert werden soll.

Die im Ringversuch verwendeten Filter konnten bisher bei der Probenahme an Arbeitsplätzen nicht verwendet werden, da die geringe Porengröße den Luftfluss der Probenahmepumpe behindert. Jedoch wäre ein direkter Vergleich in der Praxis mit Filtern mit Polymer-Stützsicht, wie sie üblicherweise im MGU verwendet werden, interessant, um zu untersuchen, ob die im Labor beobachteten Unterschiede hinsichtlich der Extraktionseffizienz auch in der Praxis auftreten. Dazu müsste also zunächst eine Pumpe entwickelt werden, die trotz des hohen Widerstands des Filters einen stabilen Luftstrom erzeugt. Anschließend kann der Filter in Realprobenahmen getestet und mit dem üblicherweise verwendeten Filter verglichen werden.

Sollte die Herstellung eines Referenzmaterials in Serien mit > 500 Filtern in Erwägung gezogen werden, wäre die Entwicklung eines Geräts zur (semi-)automatisierten Belegung erforderlich. Dazu könnte die Dosierung mittels Pipette oder Spritze ähnlich zu einem Autosampler genutzt werden. Die Entwicklung eines solchen Geräts konnte aus Zeitgründen jedoch nicht mehr im Rahmen dieser Arbeit umgesetzt werden. Ebenso wären weitere Lagerstudien notwendig, da die hier durchgeführte Stabilitätsstudie andeutet, dass bei einzelnen PAK (5-Methylchrysen, BaP und Indeno[1,2,3-cd]pyren) bei Lagerzeiten von mehr als drei Monaten Verluste auftreten können.

7 Literatur

- [1] D.L. Poster *et al.*, Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in environmental samples: a critical review of gas chromatographic (GC) methods. *Anal Bioanal Chem* **2006**, *386*, 859-881.
- [2] H. I. Abdel-Shafy, M. S. M. Mansour, A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egypt J Pet* **2016**, *25*, 107-123.
- [3] S. Orecchio, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in indoor emission from decorative candles. *Atmos Environ* **2011**, *45*, 1888-1895.
- [4] E. Teich, B. Heinrich, *BK-Report 1/2022 Ermittlung der Benzo[a]pyren-Dosis (BaP-Jahre)*, (Ed.: Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung e.V. (DGUV)), Berlin, **2022**.
- [5] H. Louro *et al.*, The Use of Human Biomonitoring to Assess Occupational Exposure to PAHs in Europe: A Comprehensive Review. *Toxics* **2022**, *10*, 480.
- [6] S. Schneider, R. Schulz, *BK-Monitoring Bericht "Berufskrankheiten im Jahr 2021"*, (Ed.: Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung e.V. (DGUV)), Berlin, **2023**.
- [7] L. H. Keith, The Source of U.S. EPA's Sixteen PAH Priority Pollutants. *Polycycl Aromat Comp* **2015**, *35*, 147-160.
- [8] J. T. Andersson, C. Achten, A Critical Look at the 16 EPA PAHs. *Polycycl Aromat Comp* **2015**, *35*, 143-146.
- [9] J. T. Andersson, C. Achten, Time to Say Goodbye to the 16 EPA PAHs? Toward an Up-to-Date Use of PACs for Environmental Purposes. *Polycycl Aromat Comp* **2015**, *35*, 330-354.
- [10] Y. Kameda *et al.*, Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: size distribution, estimation of their risk and their depositions to the human respiratory tract. *Sci Total Environ* **2005**, *340*, 71-80.
- [11] J. M. E. Ahad *et al.*, Polycyclic aromatic compounds (PACs) in the Canadian environment: A review of sampling techniques, strategies and instrumentation. *Environ Pollut* **2020**, *266*, 114988.
- [12] F. C. da Silva Junior *et al.*, A look beyond the priority: A systematic review of the genotoxic, mutagenic, and carcinogenic endpoints of non-priority PAHs. *Environ Pollut* **2021**, *278*, 116838.
- [13] M. Galmiche *et al.*, Environmental analysis of polar and non-polar Polycyclic Aromatic Compounds in airborne particulate matter, settled dust and soot: Part II: Instrumental analysis and occurrence. *TrAC-Trend Anal Chem* **2021**, *134*, 116146.
- [14] R. Luo, W. Schrader, Development of a Non-Targeted Method to Study Petroleum Polyaromatic Hydrocarbons in Soil by Ultrahigh Resolution Mass Spectrometry Using Multiple Ionization Methods. *Polycycl Aromat Comp* **2020**, 1-16.
- [15] V. Samburova, B. Zielinska, A. Khlystov, Do 16 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Represent PAH Air Toxicity? *Toxics* **2017**, *5*.
- [16] C. Achten, J. T. Andersson, Overview of Polycyclic Aromatic Compounds (PAC). *Polycycl Aromat Comp* **2015**, *35*, 177-186.
- [17] C.-E. Boström *et al.*, Cancer risk assessment, indicators, and guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air. *Environ Health Perspect* **2002**, *110 Suppl 3*, 451-488.
- [18] M. Masiol *et al.*, Carcinogenic and mutagenic risk associated to airborne particle-phase polycyclic aromatic hydrocarbons: A source apportionment. *Atmos Environ* **2012**, *60*, 375-382.
- [19] S. E. Manahan, *Environmental Chemistry*, 11 ed., CRC Press, Boca Raton, FL, USA, **2022**.
- [20] S. D. Dubowsky, L. A. Wallace, T. J. Buckley, The contribution of traffic to indoor concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons. *J Expo Anal Environ Epidemiol* **1999**, *9*, 312-321.
- [21] H. Choi *et al.*, Polycyclic aromatic hydrocarbons, in *WHO Guidelines for Indoor Air Quality: Selected Pollutants*, 6 ed. (Ed.: World Health Organization), World Health Organization, Genf, **2010**.
- [22] C. V. Raiyani *et al.*, Assessment of indoor exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons for urban poor using various types of cooking fuels. *Bull Environ Contam Toxicol* **1993**, *50*, 757-763.
- [23] A. Li *et al.*, Polycyclic aromatic hydrocarbons in residential air of ten Chicago area homes: Concentrations and influencing factors. *Atmos Environ* **2005**, *39*, 3491-3501.
- [24] E. Lannerö *et al.*, Exposure to environmental tobacco smoke and sensitisation in children. *Thorax* **2008**, *63*, 172-176.
- [25] P. Graff *et al.*, 101 PAH Exposure During Construction of Railroad Switche with Creosote Impregnated Ties. *Ann Work Expo Health* **2023**, *67*, i26-i26.
- [26] M. H. G. Andersen *et al.*, Association between polycyclic aromatic hydrocarbon exposure and peripheral blood mononuclear cell DNA damage in human volunteers during fire extinction exercises. *Mutagenesis* **2017**, *33*, 105-115.
- [27] S. Koslitz *et al.*, Biomonitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in firefighters at fire training facilities and in employees at respiratory protection and hose workshops. *Front Pub Health* **2023**, *11*.

- [28] J. Laitinen *et al.*, Fire fighting trainers' exposure to carcinogenic agents in smoke diving simulators. *Toxicol Lett* **2010**, *192*, 61-65.
- [29] M. Oliveira *et al.*, Individual and cumulative impacts of fire emissions and tobacco consumption on wildland firefighters' total exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *J Hazard Mater* **2017**, *334*, 10-20.
- [30] Z. Zelinkova, T. Wenzl, The Occurrence of 16 EPA PAHs in Food – A Review. *Polycycl Aromat Comp* **2015**, *35*, 248-284.
- [31] J. Fismes *et al.*, Soil-to-root transfer and translocation of polycyclic aromatic hydrocarbons by vegetables grown on industrial contaminated soils. *J Environ Qual* **2002**, *31*, 1649-1656.
- [32] T. Sommerfeld *et al.*, Development of a certified reference material for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in rubber toy. *Anal Bioanal Chem* **2022**, *414*, 4369-4378.
- [33] D. M. Agudelo-Castañeda, E. C. Teixeira, Seasonal changes, identification and source apportionment of PAH in PM1.0. *Atmos Environ* **2014**, *96*, 186-200.
- [34] I. C. Nisbet, P. K. LaGoy, Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Regul Toxicol Pharmacol* **1992**, *16*, 290-300.
- [35] I. J. Keyte, R. M. Harrison, G. Lammel, Chemical reactivity and long-range transport potential of polycyclic aromatic hydrocarbons – a review. *Chem Soc Rev* **2013**, *42*, 9333-9391.
- [36] M. Krol, P. J. van Leeuwen, J. Lelieveld, Global OH trend inferred from methylchloroform measurements. *J Geophys Res-Atmos* **1998**, *103*, 10697-10711.
- [37] R. Atkinson, Kinetics and mechanisms of the gas-phase reactions of the NO₃ radical with organic compounds. *J Phys Chem Ref Data* **1991**, *20*, 459-507.
- [38] E. S. Kwok *et al.*, Reactions of Gas-Phase Phenanthrene under Simulated Atmospheric Conditions. *Environ Sci Technol* **1994**, *28*, 521-527.
- [39] J. Arey, Atmospheric Reactions of PAHs Including Formation of Nitroarenes, in *PAHs and Related Compounds: Chemistry* (Ed.: Alasdair H. Neilson), Springer, Berlin, Heidelberg, **1998**, pp. 347-385.
- [40] K. Miet, H. Budzinski, E. Villenave, Heterogeneous reactions of OH radicals with particulate-pyrene and 1-nitropyrene of atmospheric interest. *Polycycl Aromat Comp* **2009**, *29*, 267-281.
- [41] B. J. Finlayson-Pitts, J. N. Pitts Jr., *Chemistry of the Upper and Lower Atmosphere: Theory, Experiments, and Applications*, Academic Press, San Diego, CA, USA, **2000**.
- [42] W. Esteve, H. Budzinski, E. Villenave, Relative rate constants for the heterogeneous reactions of OH, NO₂ and NO radicals with polycyclic aromatic hydrocarbons adsorbed on carbonaceous particles. Part 1: PAHs adsorbed on 1–2µm calibrated graphite particles. *Atmos Environ* **2004**, *38*, 6063-6072.
- [43] W. Esteve, H. Budzinski, E. Villenave, Relative rate constants for the heterogeneous reactions of NO₂ and OH radicals with polycyclic aromatic hydrocarbons adsorbed on carbonaceous particles. Part 2: PAHs adsorbed on diesel particulate exhaust SRM 1650a. *Atmos Environ* **2006**, *40*, 201-211.
- [44] M. R. Elie *et al.*, Metabolomic analysis to define and compare the effects of PAHs and oxygenated PAHs in developing zebrafish. *Environ Res* **2015**, *140*, 502-510.
- [45] H. V. Gelboin, Benzo[alpha]pyrene metabolism, activation and carcinogenesis: role and regulation of mixed-function oxidases and related enzymes. *Physiol Rev* **1980**, *60*, 1107-1166.
- [46] T. Shimada, Xenobiotic-metabolizing enzymes involved in activation and detoxification of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Drug Metab Pharmacokinet* **2006**, *21*, 257-276.
- [47] J. Jacob, A. Seidel, Biomonitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in human urine. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **2002**, *778*, 31-47.
- [48] R. Stading *et al.*, Molecular mechanisms of pulmonary carcinogenesis by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): Implications for human lung cancer. *Semin Cancer Biol* **2021**, *76*, 3-16.
- [49] W. Xue, D. Warshawsky, Metabolic activation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage: a review. *Toxicol Appl Pharmacol* **2005**, *206*, 73-93.
- [50] W. M. Baird, L. A. Hooven, B. Mahadevan, Carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts and mechanism of action. *Environ Mol Mutagen* **2005**, *45*, 106-114.
- [51] S. J. Kwack, B. M. Lee, Correlation between DNA or protein adducts and benzo[a]pyrene diol epoxide I-triglyceride adduct detected in vitro and in vivo. *Carcinogenesis* **2000**, *21*, 629-632.
- [52] J. Vondráček *et al.*, Environmental six-ring polycyclic aromatic hydrocarbons are potent inducers of the AhR-dependent signaling in human cells. *Environ Pollut* **2020**, *266*, 115125.
- [53] M. E. Burczynski, H. K. Lin, T. M. Penning, Isoform-specific induction of a human aldo-keto reductase by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), electrophiles, and oxidative stress: implications for the alternative pathway of PAH activation catalyzed by human dihydrodiol dehydrogenase. *Cancer Res* **1999**, *59*, 607-614.
- [54] F. J. Jongeneelen, Methods for routine biological monitoring of carcinogenic PAH-mixtures. *Sci Total Environ* **1997**, *199*, 141-149.

- [55] F. J. Jongeneelen, Benchmark guideline for urinary 1-hydroxypyrene as biomarker of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Ann Occup Hyg* **2001**, *45*, 3-13.
- [56] K. Klotz *et al.*, Validity of different biomonitoring parameters in human urine for the assessment of occupational exposure to naphthalene. *Arch Toxicol* **2019**, *93*, 2185-2195.
- [57] D. H. Phillips, Fifty years of benzo(a)pyrene. *Nature* **1983**, *303*, 468-472.
- [58] Europäische Union, Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 der Kommission vom 19. Dezember 2006 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln, 1881/2006, Brüssel, BEL, **2006**.
- [59] Scientific Committee on Food, Opinion of the Scientific Committee on Food on the risks to human health of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in food, (Ed.: European Commission), Brüssel, **2002**.
- [60] European Food Safety Authority, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food - Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *EFSA J* **2008**, *6*, 724.
- [61] Institut für Arbeitsschutz, GESTIS-Stoffdatenbank, Sankt Augustin, 2023; aufgerufen am 2023/11/15 unter <https://gestis.dguv.de/>.
- [62] International Agency for Research on Cancer, *Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures*, Vol. 92, 1 ed., WHO Press, Lyon, FRA, **2010**.
- [63] Europäische Union, Verordnung (EU) 2023/915 der Kommission vom 25. April 2023 über Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln und zur Aufhebung der Verordnung (EG) Nr. 1881/2006, 2023/915, Brüssel, BEL, **2023**.
- [64] Europäische Union, Verordnung (EU) 2020/2184 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Dezember 2020 über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch, 2020/2184, Brüssel, BEL, **2020**.
- [65] Europäische Union, Verordnung (EG) Nr. 1223/2009 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 30. November 2009 über kosmetische Mittel, 1223/2009, Brüssel, BEL, **2009**.
- [66] Europäische Union, Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 18. Dezember 2006 zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), zur Schaffung einer Europäischen Agentur für chemische Stoffe, zur Änderung der Richtlinie 1999/45/EG und zur Aufhebung der Verordnung (EWG) Nr. 793/93 des Rates, der Verordnung (EG) Nr. 1488/94 der Kommission, der Richtlinie 76/769/EWG des Rates sowie der Richtlinien 91/155/EWG, 93/67/EWG, 93/105/EG und 2000/21/EG der Kommission, 1907/2006, Brüssel, BEL, **2006**.
- [67] Europäische Union, Verordnung (EU) 2021/1199 der Kommission vom 20. Juli 2021 zur Änderung von Anhang XVII der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates in Bezug auf polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) in Granulaten oder Mulchen zur Verwendung als Füllmaterial auf Kunstrasenplätzen oder in loser Form auf Spielplätzen oder im Sportbereich, 2021/1199, Brüssel, BEL, **2021**.
- [68] Europäische Union, Richtlinie 2004/107/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 15. Dezember 2004 über Arsen, Kadmium, Quecksilber, Nickel und polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe in der Luft, 2004/107/EG, Brüssel, BEL, **2004**.
- [69] European Environment Agency, *Europe's air quality status 2023*, (Ed.: European Union), European Environment Agency (EEA), Luxembourg, **2023**.
- [70] GMBI, Technische Regeln für Gefahrstoffe: Arbeitsplatzgrenzwerte (TRGS 900), Ausg. 1/2006, **2006**.
- [71] GMBI, Technische Regeln für Gefahrstoffe: Risikobezogenes Maßnahmenkonzept für Tätigkeiten mit krebserzeugenden Gefahrstoffen (TRGS 910), Ausg. 2/2014, **2014**.
- [72] Umweltbundesamt, Vorläufiger Leitwert für Benzo[a]pyren (B[a]P) in der Innenraumluft. *Bundesgesundheitsbl* **2021**, *64*, 1036-1046.
- [73] K. Peltonen, T. Kuljukka, Air sampling and analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons. *J Chromatogr A* **1995**, *710*, 93-108.
- [74] M. Galmiche *et al.*, Environmental analysis of polar and non-polar Polycyclic Aromatic Compounds in airborne particulate matter, settled dust and soot: Part I: Sampling and sample preparation. *TrAC-Trend Anal Chem* **2021**, *134*, 116099.
- [75] P. Di Filippo *et al.*, Concentrations of PAHs, and nitro- and methyl- derivatives associated with a size-segregated urban aerosol. *Atmos Environ* **2010**, *44*, 2742-2749.
- [76] C. Liaud, M. Millet, S. Le Calvé, An analytical method coupling accelerated solvent extraction and HPLC-fluorescence for the quantification of particle-bound PAHs in indoor air sampled with a 3-stages cascade impactor. *Talanta* **2015**, *131*, 386-394.
- [77] C. Garcia-Jares, R. Barro, M. Llompарт, Indoor Air Sampling, in *Encyclopedia of Analytical Science*, 3 ed. (Eds.: P. Worsfold, C. Poole, A. Townshend, M. Miró), Academic Press, Oxford, **2012**, pp. 76-111.
- [78] J. F. Pankow, J. M. E. Storey, H. Yamasaki, Effects of relative humidity on gas/particle partitioning of semivolatile organic compounds to urban particulate matter. *Environ Sci Technol* **1993**, *27*, 2220-2226.

- [79] A. P. K. Tai, L. J. Mickley, D. J. Jacob, Correlations between fine particulate matter (PM_{2.5}) and meteorological variables in the United States: Implications for the sensitivity of PM_{2.5} to climate change. *Atmos Environ* **2010**, *44*, 3976-3984.
- [80] E. Galarneau, T. F. Bidleman, Modelling the temperature-induced blow-off and blow-on artefacts in filter-sorbent measurements of semivolatile substances. *Atmos Environ* **2006**, *40*, 4258-4268.
- [81] O. O. Alegbeleye, B. O. Opeolu, V. A. Jackson, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: A Critical Review of Environmental Occurrence and Bioremediation. *Environ Manage* **2017**, *60*, 758-783.
- [82] C. Schauer, R. Niessner, U. Pöschl, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Urban Air Particulate Matter: Decadal and Seasonal Trends, Chemical Degradation, and Sampling Artifacts. *Environ Sci Technol* **2003**, *37*, 2861-2868.
- [83] P. Poursafa *et al.*, Association of atmospheric concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons with their urinary metabolites in children and adolescents. *Environ Sci Pollut Res* **2017**, *24*, 17136-17144.
- [84] V. Väänänen *et al.*, Air concentrations and urinary metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons among paving and remixing workers. *J Environ Monit* **2003**, *5*, 739-746.
- [85] A. A. Stec *et al.*, Occupational Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Elevated Cancer Incidence in Firefighters. *Sci Rep-UK* **2018**, *8*, 2476.
- [86] H. Assenmacher-Maiworm, B. Heinrich, D. Breuer, Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK), schwerer flüchtig. *IFA-Arbeitsmappe* **2018**, *01/2018*.
- [87] S. Moldoveanu, V. David, Solid-Phase Extraction, in *Modern Sample Preparation for Chromatography* (Eds.: S. Moldoveanu, V. David), Elsevier, Amsterdam, **2015**, pp. 191-286.
- [88] A. Albinet, S. Tomaz, F. Lestremou, A really quick easy cheap effective rugged and safe (QuEChERS) extraction procedure for the analysis of particle-bound PAHs in ambient air and emission samples. *Sci Total Environ* **2013**, *450-451*, 31-38.
- [89] R. Perestrelo *et al.*, QuEChERS - Fundamentals, relevant improvements, applications and future trends. *Anal Chim Acta* **2019**, *1070*, 1-28.
- [90] S. Kromidas, *Das HPLC-MS-Buch für Anwender*, 1 ed., Wiley-VCH, Weinheim, **2017**.
- [91] C. M. Riley, Modes of Chromatography, in *High Performance Liquid Chromatography: Fundamental Principles and Practice*, 2 ed. (Ed.: W. J. Lough), Springer, Heidelberg, **2013**, pp. 120-125.
- [92] R. L. Grob, Theory of Gas Chromatography, in *Modern Practice of Gas Chromatography*, 4 ed. (Ed.: R. L. Grob), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, **2004**, pp. 28-33.
- [93] E. F. Barry, Columns: Packed and Capillary; Column Selection in Gas Chromatography, in *Modern Practice of Gas Chromatography*, 4 ed. (Ed.: R. L. Grob), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, **2004**, pp. 109-149.
- [94] C. F. Poole, Ionization-based detectors for gas chromatography. *J Chromatogr A* **2015**, *1421*, 137-153.
- [95] X. Ma, Recent Advances in Mass Spectrometry-Based Structural Elucidation Techniques. *Molecules* **2022**, *27*.
- [96] E. de Hoffmann, V. Stroobant, *Mass Spectrometry: Principles and Applications*, 3 ed., John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK, **2007**.
- [97] E. V. S. Maciel *et al.*, Electron ionization mass spectrometry: Quo vadis? *ELECTROPHORESIS* **2022**, *43*, 1587-1600.
- [98] A. Giri *et al.*, Compositional elucidation of heavy petroleum base oil by GC × GC-EI/PI/CI/FI-TOFMS. *J Mass Spectrom* **2019**, *54*, 148-157.
- [99] C. S. Kaddis, J. A. Loo, Native protein MS and ion mobility large flying proteins with ESI. *Anal Chem* **2007**, *79*, 1778-1784.
- [100] C. G. de Koster, P. J. Schoenmakers, History of liquid chromatography—mass spectrometry couplings, in *Hyphenations of Capillary Chromatography with Mass Spectrometry* (Eds.: P. Q. Tranchida, L. Mondello), Elsevier, Amsterdam, **2020**, pp. 279-295.
- [101] S.-S. Cai *et al.*, Ultra Performance Liquid Chromatography–Atmospheric Pressure Photoionization–Tandem Mass Spectrometry for High-Sensitivity and High-Throughput Analysis of U.S. Environmental Protection Agency 16 Priority Pollutants Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. *Anal Chem* **2009**, *81*, 2123-2128.
- [102] J. Thiäner, C. Achten, Analyse von hochmolekularen, polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (6-8 Ring PAK) in diversen Umweltmatrices mittels Flüssigchromatographie – Atmosphärendruck-Laserionisation – Massenspektrometrie (LC-APLI-MS). *Mitt Umweltchem Ökotox* **2017**, *23*, 6-10.
- [103] S. A. Wise, L. C. Sander, M. M. Schantz, Analytical Methods for Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) — A Historical Perspective on the 16 U.S. EPA Priority Pollutant PAHs. *Polycycl Aromat Comp* **2015**, *35*, 187-247.
- [104] F. Gritti, G. Guiochon, Perspectives on the Evolution of the Column Efficiency in Liquid Chromatography. *Anal Chem* **2013**, *85*, 3017-3035.

- [105] V. González-Ruiz, A. I. Olives, M. A. Martín, Core-shell particles lead the way to renewing high-performance liquid chromatography. *TrAC-Trend Anal Chem* **2015**, *64*, 17-28.
- [106] C. Waterlot, A. Goulas, Temperature Effects on Retention and Separation of PAHs in Reversed-Phase Liquid Chromatography Using Columns Packed with Fully Porous and Core-Shell Particles. *J Chem-NY* **2016**, *2016*, 7294105.
- [107] M. Gumustas *et al.*, The History of the Core–Shell Particles and Applications in Active Pharmaceutical Ingredients Via Liquid Chromatography. *Chromatographia* **2019**, *82*, 17-48.
- [108] K. P. Naikwadi, P. P. Wadgaonkar, New naphthalene containing side-chain liquid crystalline polysiloxane stationary phases for high-resolution gas chromatography. *J Chromatogr A* **1998**, *811*, 97-103.
- [109] R. Mametov *et al.*, Evolution and Evaluation of GC Columns. *Crit Rev Anal Chem* **2021**, *51*, 150-173.
- [110] H. Hayen, U. Karst, Strategies for the liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of non-polar compounds. *J Chromatogr A* **2003**, *1000*, 549-565.
- [111] R. Schiewek *et al.*, Ultrasensitive determination of polycyclic aromatic compounds with atmospheric-pressure laser ionization as an interface for GC/MS. *Anal Chem* **2007**, *79*, 4135-4140.
- [112] T. Ghislain, P. Faure, R. Michels, Detection and monitoring of PAH and oxy-PAHs by high resolution mass spectrometry: comparison of ESI, APCI and APPI source detection. *J Am Soc Mass Spectrom* **2012**, *23*, 530-536.
- [113] C. Hutzler, A. Luch, J. G. Filser, Analysis of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in complex environmental mixtures by LC-APPI-MS/MS. *Anal Chim Acta* **2011**, *702*, 218-224.
- [114] J. U. Hahn, H. Assenmacher-Maiworm, Polycyclische Aromatische Kohlenwasserstoffe (PAH) [Air Monitoring Methods in German language, 2003a]. *MAK Collect Occup Health Saf* **2003**, *13*.
- [115] GMBI, Technische Regeln für Gefahrstoffe: Ermitteln und Beurteilen der Gefährdung bei Tätigkeiten mit Gefahrstoffen: Inhalative Exposition (TRGS 402), Nr. 12, **2010**.
- [116] L. C. Sander, S. A. Wise, *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Structure Index*, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA, **2020**.
- [117] H. Budzinski *et al.*, Aerobic biodegradation of alkylated aromatic hydrocarbons by a bacterial community. *Org Geochem* **1998**, *28*, 337-348.
- [118] S. Bobinger, J. T. Andersson, Photooxidation products of polycyclic aromatic compounds containing sulfur. *Environ Sci Technol* **2009**, *43*, 8119-8125.
- [119] DIN Deutsches Institut für Normung e.V., *Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Referenzmaterialherstellern (ISO 17034:2017-04)*, Beuth Verlag GmbH, Berlin, **2017**.
- [120] S. A. Wise, What if using certified reference materials (CRMs) was a requirement to publish in analytical/bioanalytical chemistry journals? *Anal Bioanal Chem* **2022**, *414*, 7015-7022.
- [121] D. Breuer *et al.*, Ringversuch Tetrachlorethen -Qualitätssicherung im Rahmen des Erfahrungsaustausches außerbetrieblicher Meßstellen (I). *Staub - Reinhalt Luft* **1990**, *50*, 203-209.
- [122] Institut für Arbeitsschutz, Ringversuche des IFA, Sankt Augustin, 2023; aufgerufen am 2023/11/28 unter <https://www.dguv.de/ifa/fachinfos/ringversuche/index.jsp>.
- [123] DIN Deutsches Institut für Normung e.V., *Statistische Verfahren für Eignungsprüfungen durch Ringversuche (ISO 13528:2020-09)*, Beuth Verlag GmbH, Berlin, **2020**.
- [124] C. Bosetti, P. Boffetta, C. La Vecchia, Occupational exposures to polycyclic aromatic hydrocarbons, and respiratory and urinary tract cancers: a quantitative review to 2005. *Ann Oncol* **2007**, *18*, 431-446.
- [125] M. Rota *et al.*, Occupational exposures to polycyclic aromatic hydrocarbons and respiratory and urinary tract cancers: an updated systematic review and a meta-analysis to 2014. *Arch Toxicol* **2014**, *88*, 1479-1490.
- [126] D. Breuer, Qualitätssicherung bei der Metallanalytik am Beispiel des Ringversuchs Metallstäube. *IFA-Arbeitsmappe* **1992**, *08/1992*.
- [127] S. Rosenthal *et al.*, Ringversuche mit Probenahme zur Bestimmung von Lösungsmitteln an der neuen Prüfgasstrecke im BGAG. *Gefahrstoffe - Reinhalt Luft* **2003**, *63*, 355-362.
- [128] Deutsche Forschungsgemeinschaft, Teil II: Spezielle Vorbemerkungen, Abschnitt 4: Probenahme und Bestimmung von Aerosolen und deren Inhaltsstoffen, in *Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe: Band 1: Luftanalysen, Vol. 16* (Ed.: Deutsche Forschungsgemeinschaft), Wiley-VCH, Weinheim, **2009**.
- [129] S. Kromidas, Die Validierungsparameter (oder nach ISO 17025: Verfahrensmerkmale), in *Handbuch Validierung in der Analytik*, **2000**, pp. 41-204.
- [130] W. Funk, V. Dammann, G. Donnevert, *Qualitätssicherung in der Analytischen Chemie*, 2 ed., Wiley-VCH, Weinheim, **2005**.

- [131] S. A. Wise *et al.*, Comparison of Liquid Chromatography with Fluorescence Detection and Gas Chromatography/Mass Spectrometry for the Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Environmental Samples. *Polycycl Aromat Comp* **1990**, *1*, 81-98.
- [132] H. Wang *et al.*, High-performance liquid chromatography with fluorescence detection and ultra-performance liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry method for the determination of indoleamine neurotransmitters and their metabolites in sea lamprey plasma. *Anal Chim Acta* **2012**, *721*, 147-153.
- [133] G. M. Titato, F. M. Lanças, Optimization and validation of HPLC-UV-DAD and HPLC-APCI-MS methodologies for the determination of selected PAHs in water samples. *J Chromatogr Sci* **2006**, *44*, 35-40.
- [134] C. H. Marvin *et al.*, Analysis of high-molecular-mass polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples using liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1999**, *863*, 13-24.
- [135] B. M. Kolakowski, J. S. Grossert, L. Ramaley, The importance of both charge exchange and proton transfer in the analysis of polycyclic aromatic compounds using atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom* **2004**, *15*, 301-310.
- [136] B. M. Kolakowski, J. S. Grossert, L. Ramaley, Studies on the positive-ion mass spectra from atmospheric pressure chemical ionization of gases and solvents used in liquid chromatography and direct liquid injection. *J Am Soc Mass Spectrom* **2004**, *15*, 311-324.
- [137] Y. Valadbeigi, T. Causon, Significance of Competitive Reactions in an Atmospheric Pressure Chemical Ionization Ion Source: Effect of Solvent. *J Am Soc Mass Spectrom* **2022**, *33*, 961-973.
- [138] I. Akiyama *et al.*, Ultraviolet photoelectron studies of polycyclic aromatic hydrocarbons. The ground-state electronic structure of aryloxiranes and metabolites of benzo[a]pyrene. *J Phys Chem* **1979**, *83*, 2997-3003.
- [139] K. Colizza *et al.*, Acetonitrile Ion Suppression in Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry. *J Am Soc Mass Spectrom* **2016**, *27*, 1796-1804.
- [140] A. Fausett, Analyse von durch die Europäische Union geregelten polyaromatischen Kohlenwasserstoffen (EU-PAK) mit dem Agilent 8890 GC-System, Santa Clara, CA, USA, 2019; aufgerufen am 19/12/2023 unter <https://www.agilent.com/cs/library/applications/application-polyaromatic-hydrocarbons-eupah-8890-gc-5994-0485en-agilent.pdf>.
- [141] T. Strmeň *et al.*, Atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry at low flow rates: Importance of ion source housing. *Rapid Commun Mass Sp* **2020**, *34*, e8722.
- [142] H. Vistnes *et al.*, The Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) with HPLC-DAD-FLD and GC-MS Techniques in the Dissolved and Particulate Phase of Road-Tunnel Wash Water: A Case Study for Cross-Array Comparisons and Applications. *Toxics* **2022**, *10*, 399.
- [143] L. D. Gratz *et al.*, Interlaboratory comparison of HPLC-fluorescence detection and GC/MS: analysis of PAH compounds present in diesel exhaust. *J Hazard Mater* **2000**, *74*, 37-46.
- [144] N. E. Díaz-Morales *et al.*, A Comparison of the Performance of Two Chromatographic and Three Extraction Techniques for the Analysis of PAHs in Sources of Drinking Water. *J Chromatogr Sci* **2007**, *45*, 57-62.
- [145] C. Escrivá *et al.*, Comparison of four methods for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in airborne particulates. *J Chromatogr A* **1994**, *676*, 375-388.
- [146] Y. Giesen *et al.*, Etablierung eines Mikrodosierverfahrens zur Herstellung von Referenzmaterialien. *Gefahrstoffe - Reinhalt Luft* **2016**, *76*, 26-30.
- [147] F. Nürnberger *et al.*, Ringversuch Anorganische Säuren. *IFA-Arbeitsmappe* **2022**, *01/2022*.
- [148] F. Nürnberger *et al.*, Referenzmaterial für Anorganische Säuren: Probenset RM IFA SP 01 für Schwefelsäure und Phosphorsäure. *IFA-Arbeitsmappe* **2018**, *02/2018*.
- [149] D. S. Viswanath *et al.*, EXPERIMENTAL DATA, in *Viscosity of Liquids: Theory, Estimation, Experiment, and Data* (Eds.: Dabir S. Viswanath, Tushar K. Ghosh, Dasika H. L. Prasad, Nidamarty V. K. Dutt, Kalipatnapu Y. Rani), Springer Netherlands, Dordrecht, **2007**, pp. 443-643.
- [150] J.A. Conesa, Adsorption of PAHs and PCDD/Fs in Microplastics: A Review. *Microplastics* **2022**, *1*, 346-358.
- [151] V. M. León *et al.*, PAHs, pesticides, personal care products and plastic additives in plastic debris from Spanish Mediterranean beaches. *Sci Total Environ* **2019**, *670*, 672-684.
- [152] BioFluidix GmbH, BioSpot Arc Evaluation Kit, Freiburg, 2024; aufgerufen am 2024/02/06 unter https://biofluidix.com/files/data/Downloads%202022/BioSpot%20Arc%20brochure_20220224_HD_.pdf.
- [153] A. A. Koelmans *et al.*, Microplastic as a Vector for Chemicals in the Aquatic Environment: Critical Review and Model-Supported Reinterpretation of Empirical Studies. *Environ Sci Technol* **2016**, *50*, 3315-3326.

- [154] E. Fries, C. Zarfl, Sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) to low and high density polyethylene (PE). *Environ Sci Pollut Res* **2012**, *19*, 1296-1304.
- [155] Y. Qian, T. Posch, T. C. Schmidt, Sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on glass surfaces. *Chemosphere* **2011**, *82*, 859-865.
- [156] A. H. Ackerman, R. J. Hurtubise, The effects of adsorption of solutes on glassware and teflon in the calculation of partition coefficients for solid-phase microextraction with 1PS paper. *Talanta* **2000**, *52*, 853-861.
- [157] C. M. Josefson, J. B. Johnston, R. Trubey, Adsorption of organic compounds from water with porous poly(tetrafluoroethylene). *Anal Chem* **1984**, *56*, 764-768.
- [158] A K Katz, H L Carrell, J P Glusker, Dibenzo[a,l]pyrene (dibenzo[def,p]chrysene): fjord-region distortions. *Carcinogenesis* **1998**, *19*, 1641-1648.
- [159] C. Reichhardt, T. Welton, Appendix A. Properties, Purification, and Use of Organic Solvents, in *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*, 4th ed. (Eds.: C. Reichardt, T. Welton), Wiley-VCH Verlag, Weinheim, **2011**, pp. 549-586.
- [160] Colin S. C., Joseph J. D., Cosolvent Effects of Oxygenated Fuels on PAH Solubility. *J Environ Eng* **1997**, *123*, 354-363.
- [161] C. Bergvall, R. Westerholm, Determination of 252–302 Da and tentative identification of 316–376 Da polycyclic aromatic hydrocarbons in Standard Reference Materials 1649a Urban Dust and 1650b and 2975 Diesel Particulate Matter by accelerated solvent extraction–HPLC-GC-MS. *Anal Bioanal Chem* **2008**, *391*, 2235-2248.
- [162] L. Turrio-Baldassarri, C. L. Battistelli, A. L. Iamiceli, Evaluation of the efficiency of extraction of PAHs from diesel particulate matter with pressurized solvents. *Anal Bioanal Chem* **2003**, *375*, 589-595.

8 Anhang

Anhang 1: Übersicht über die verwendeten Chemikalien und Verbrauchsmaterial

Tabelle 31: Hersteller, Konzentration und Reinheit der GC-MS-Standards.

Substanz	Hersteller	Konzentration [µg/mL]	Lösemittel	Reinheit [%]
1-Methylpyren	Sigma-Aldrich	Feststoff	-	98,9
1-Methylnaphthalin	Acros Organics	Feststoff	-	98,2
2-Methylnaphthalin	Alfa Aesar	Feststoff	-	99,1
1,6-Dimethylnaphthalin	Dr. Ehrenstorfer	Feststoff	-	99,9
2,3-Dimethylnaphthalin	Acros Organics	Feststoff	-	99,0
5-Methylchrysen	Dr. Ehrenstorfer	10,00	Cyclohexan	99,7
Acenaphthen	Dr. Ehrenstorfer	200,0	Dichlormethan	99
Acenaphthylen	Dr. Ehrenstorfer	199,9	Dichlormethan	97,6
Anthanthren	Dr. Ehrenstorfer	10,00	Cyclohexan	99,0
Anthracen	Dr. Ehrenstorfer	199,9	Dichlormethan	99,2
Benzo[a]anthracen	Dr. Ehrenstorfer	199,9	Dichlormethan	98,7
Benzo[b]fluoranthen	Dr. Ehrenstorfer	200,0	Dichlormethan	99,9
Benzo[k]fluoranthen	Dr. Ehrenstorfer	199,9	Dichlormethan	98,9
Benzo[g,h,i]perylen	Dr. Ehrenstorfer	199,9	Dichlormethan	97,3
Benzo[a]pyren	Dr. Ehrenstorfer	200,0	Dichlormethan	98,3
Benzo[e]pyren	Dr. Ehrenstorfer	201,8	Dichlormethan	98,4
Chrysen	Dr. Ehrenstorfer	200,2	Dichlormethan	96
Coronen	Dr. Ehrenstorfer	10,0	Cyclohexan	96,0
Cyclopenta[c,d]pyren	Dr. Ehrenstorfer	10,01	Cyclohexan	99,7
Dibenz[a,h]anthracen	Dr. Ehrenstorfer	200,2	Dichlormethan	98
Dibenzo[a,e]fluoranthen	Community Bureau of Reference	Feststoff	-	99,0
Dibenzo[a,e]pyren	Dr. Ehrenstorfer	200,4	Dichlormethan	98,6
Dibenzo[a,h]pyren	Dr. Ehrenstorfer	200,2	Dichlormethan	97,8
Dibenzo[a,i]pyren	Dr. Ehrenstorfer	199,8	Dichlormethan	98,7
Dibenzo[a,l]pyren	Dr. Ehrenstorfer	199,6	Dichlormethan	99,3
Dibenzo[e,l]pyren	Toronto Research Chemicals	Feststoff	-	-
Fluoranthen	Dr. Ehrenstorfer	200,0	Dichlormethan	98,6
Fluoren	Dr. Ehrenstorfer	199,9	Dichlormethan	99,8
Indeno[1,2,3-cd]fluoranthen	Dr. Ehrenstorfer	10,0	Cyclohexan	99,5
Indeno[1,2,3-cd]pyren	Dr. Ehrenstorfer	200,0	Dichlormethan	98
Naphthalin	Dr. Ehrenstorfer	200,0	Dichlormethan	99,8
Perylen	Dr. Ehrenstorfer	200,9	Dichlormethan	99,0
Phenanthren	Dr. Ehrenstorfer	200,1	Dichlormethan	98,9
Pyren	Dr. Ehrenstorfer	200,0	Dichlormethan	98,5
Naphthalin D8	Dr. Ehrenstorfer	Feststoff	-	98,27
Chrysen D12	Dr. Ehrenstorfer	Feststoff	-	99,27
Benzo[a]pyren D12	Dr. Ehrenstorfer	Feststoff	-	98,08
Benzo[g,h,i]perylen D12	Dr. Ehrenstorfer	Feststoff	-	96,83

Tabelle 32: Hersteller, Konzentration und Reinheit der HPLC-Standards. Alle Standards liegen in Acetonitril vor.

Substanz	Hersteller	Konzentration [µg/mL]	Reinheit [%]
1-Methylpyren	Dr. Ehrenstorfer	10,0	98,9
1-Methylnaphthalin	Dr. Ehrenstorfer	10,0	98,2
2-Methylnaphthalin	Dr. Ehrenstorfer	10,0	99,1
1,6-Dimethylnaphthalin	Dr. Ehrenstorfer	10,0	99,9
2,3-Dimethylnaphthalin	Dr. Ehrenstorfer	10,0	99,0
5-Methylchrysen	Dr. Ehrenstorfer	10,0	99,7
Acenaphthen	Dr. Ehrenstorfer	10,00	99,6
Acenaphthylen	Dr. Ehrenstorfer	9,99	99,2
Anthanthren	Dr. Ehrenstorfer	10,0	99,0
Anthracen	Dr. Ehrenstorfer	9,98	99,5
Benzo[a]anthracen	Dr. Ehrenstorfer	9,99	98,7
Benzo[b]fluoranthren	Dr. Ehrenstorfer	10,01	99,7
Benzo[j]fluoranthren	Dr. Ehrenstorfer	10,0	96,0
Benzo[k]fluoranthren	Dr. Ehrenstorfer	10,02	98,5
Benzo[g,h,i]perylen	Dr. Ehrenstorfer	10,00	94,2
Benzo[a]pyren	LGC Standards	100,00	99,9
Benzo[e]pyren	Dr. Ehrenstorfer	10,02	98,4
Chrysen	Dr. Ehrenstorfer	10,06	99,9
Coronen	Dr. Ehrenstorfer	10,0	96,0
Cyclopenta[c,d]pyren	Dr. Ehrenstorfer	10,1	99,7
Dibenz[a,h]anthracen	Dr. Ehrenstorfer	10,00	98,5
Dibenzo[a,e]fluoranthren	Dr. Ehrenstorfer	10,0	99,0
Dibenzo[a,e]pyren	Dr. Ehrenstorfer	10,0	98,6
Dibenzo[a,h]pyren	Dr. Ehrenstorfer	10,0	97,8
Dibenzo[a,i]pyren	Dr. Ehrenstorfer	10,0	98,7
Dibenzo[a,l]pyren	Dr. Ehrenstorfer	10,0	99,3
Fluoranthren	Dr. Ehrenstorfer	10,01	98,5
Fluoren	Dr. Ehrenstorfer	10,01	99,0
Indeno[1,2,3-cd]fluoranthren	Dr. Ehrenstorfer	10,0	99,5
Indeno[1,2,3-cd]pyren	Dr. Ehrenstorfer	100,02	99,6
Naphthalin	Dr. Ehrenstorfer	10,00	99,4
Perylen	Dr. Ehrenstorfer	9,98	99,0
Phenanthren	Dr. Ehrenstorfer	9,98	99,0
Pyren	Dr. Ehrenstorfer	9,99	98,7

Tabelle 33: Hersteller und Reinheit der verwendeten Lösungsmittel.

Substanz	Hersteller	Reinheit
Aceton	Merck	≥ 99,8 %
Acetonitril	J.T. Baker	≥ 99,95 %
Cyclohexan	Merck	≥ 99,8 %
Dichlormethan	Merck	≥ 99,8 %
Methanol	J.T. Baker	≥ 99,8 %
n-Hexan	Merck	≥ 99,9 %
Toluol	Merck	≥ 99,9 %
Wasser	Milli-Q® Aufbereitungsanlage	

Tabelle 34: Übersicht über das verwendete Laborverbrauchsmaterial.

Artikel	Spezifikation	Hersteller	Artikelnummer
Kleingeräte			
Kreisschüttler	VXR basic Vibrax®, 32 Plätze, bis 2200 rpm	IKA	0002819000
Ultraschallbad	Sonorex Super RK 103 H	Bandelin	326
Analysenwaage	Typ FA-210-4i, 0,0001 bis 210 g	Faust	51011985
Spritzenvorsatzfilter			
Spritzenvorsatzfilter	PTFE (hydrophil), 0,45 µm Porengröße, 13 mm Durchmesser	VWR	514-1276
Spritzenvorsatzfilter	PTFE (hydrophob), 0,45 µm Porengröße, 13 mm Durchmesser	VWR	514-1255
Spritzenvorsatzfilter	PTFE, 0,45 µm Porengröße, 25 mm Durchmesser	VWR	514-1253
Spritzenvorsatzfilter	PTFE, 0,45 µm Porengröße, 13 mm Durchmesser	J.T.Baker über VWR	SF01-20P
Spritzenvorsatzfilter	PTFE, 0,22 µm Porengröße, 13 mm Durchmesser	J.T.Baker über VWR	SF01-16P
Spritzenvorsatzfilter	PTFE, 0,2 µm Porengröße, 13 mm Durchmesser	Pall	4422
Spritzenvorsatzfilter	CHROMAFIL, PTFE, 0,45 µm Porengröße, 13 mm Durchmesser	Macherey-Nagel	729209
Spritzenvorsatzfilter	CHROMAFIL, PTFE, 0,2 µm Porengröße, 13 mm Durchmesser	Macherey-Nagel	729208
Spritzenvorsatzfilter	CHROMAFIL, Cellulose, 0,45 µm Porengröße, 15 mm Durchmesser	Macherey-Nagel	729255
Pipetten und -spitzen			
Mehrfachdispenser-Pipette	Multipette® E3, 1-Kanal, 1 µL-50 mL	eppendorf	4987000371
Pipettenspitzen für Mehrfachdispenser	Combitips® advanced 10 mL Maximalvolumen	eppendorf	0030089464
Pipettenspitzen für Mehrfachdispenser	Combitips® advanced 5 mL Maximalvolumen	eppendorf	0030089456
Pipettenspitzen für Mehrfachdispenser	Combitips® advanced 2,5 mL Maximalvolumen	eppendorf	0030089448
Pipettenspitzen für Mehrfachdispenser	Combitips® advanced 1 mL Maximalvolumen	eppendorf	0030089430

Pipettenspitzen für Mehrfachdispenser	Combitips® advanced 0,5 mL Maximalvolumen	eppendorf	0030089421
Pipettenspitzen für Mehrfachdispenser	Combitips® advanced 0,2 mL Maximalvolumen	eppendorf	0030089413
Pipettenspitzen für Mehrfachdispenser	Combitips® advanced 0,1 mL Maximalvolumen	eppendorf	0030089405
Kolbenhubpipette	Research® plus, 1-Kanal, 100-1000 µL variables Volumen	eppendorf	3123000063
Kolbenhubpipette	Research® plus, 1-Kanal, 0,5-5 mL variables Volumen	eppendorf	3123000071
Pipettenspitzen	epT.I.P.S.® Standard, 50-1000 µL, blau	eppendorf	0030000919
Pipettenspitzen	epT.I.P.S.® Standard, 0,1-5 mL, farblos	eppendorf	0030000978
Einwegpipetten	2,0 mL, unsteril	ratiolab	2600135
Zubehör zum Nanoliter-Dispenser			
PipeJet Pipes	125-S, coated	BioFluidix	PJ-12511
PipeJet Pipes	200-S, coated	BioFluidix	PJ-20011
PipeJet Pipes	200-S, uncoated	BioFluidix	PJ-20010
PipeJet Pipes	500-S, coated	BioFluidix	PJ-50071
PipeJet Pipes	500-S, uncoated	BioFluidix	PJ-50070
Einweg-Reservoir	1000 µL	BioFluidix	VM-20101
Laborschlauch	TYGON®, 1 m	BioFluidix	VM-20053-1m
Laborschlauch	PTFE, 1 m	BioFluidix	VM-20065-1m
Filter			
PTFE-Filter	1 µm Porengröße, 37 mm	SKC	225-3705
PTFE-Filter	2 µm Porengröße, 37 mm	SKC	225-3748
PTFE-Filter	Fluoropore™, 3 µm Porengröße, 37 mm	Merck	FSLW03700
PTFE-Filter	Fluoropore™, 1 µm Porengröße, 37 mm	Merck	FALP03700
PTFE-Filter	Zefluor™, 1 µm Porengröße, 37 mm, mit Support-Pad	Pall	P5PL037
Quarzfaserfilter	QMA-Grade, 37 mm	Whatman	1851-037
Sonstiges			
Sterican®-Kanülen	Gr. 1	B. Braun	4657519
Injekt® Einmalspritze	2 mL, Luer-Ansatz	B. Braun	4606027V
Schraubkappen	Polypropylen, Silikon-Septum, 1 mm Stärke, ND9-Gewinde	VWR	548-0085
Kurzgewindefläschchen	Braunglas, flacher Boden, 1,5 mL Volumen, ND9-Gewinde	VWR	548-0030A
Bördelkappen	N11, Dichtung Naturkautschuk	Macherey-Nagel	702001
Fläschchen mit Bördelhals	N11, flach, Rollrand, 1,5 mL Volumen	Macherey-Nagel	702892
Mikroeinsatz	Für Kurzgewindefläschchen ND9, 0,1 mL Volumen	VWR	548-0310A
Schraubkappen	Polypropylen, ND15 ohne Loch	VWR	548-0861A
Gewindeflaschen	8 mL Volumen, Gewinde 15-425	VWR	548-0821

Tabelle 35: Siedepunkte der PAK, die im Ringversuch verwendet werden.^[16]

Substanz	Siedepunkt	Substanz	Siedepunkt
5-Methylchrysen	411 °C	Dibenzo[a,e]pyren	514 °C
Anthanthren	405 °C	Dibenzo[a,h]pyren	514 °C
Benzo[a]pyren	496 °C	Dibenzo[a,i]pyren	514 °C
Coronen	525 °C	Dibenzo[a,l]pyren	514 °C
Dibenz[a,h]anthracen	524 °C	Indeno[1,2,3-cd]pyren	536 °C

Anhang 2: Rohdaten der Validierung

Tabelle 36: Übersicht über die für die Analyse verwendeten Wellenlängen der einzelnen PAK und ihre Retentionszeiten.

Analyt	Detektor	Wellenlänge	Retentionszeit
Naphthalin	FLD	320 nm	9,10 min
Acenaphthylen	DAD	225 nm	9,46 min
1-Methylnaphthalin	FLD	320 nm	13,36 min
2-Methylnaphthalin	FLD	320 nm	14,20 min
Acenaphthen	FLD	320 nm	14,81 min
Fluoren	FLD	320 nm	15,30 min
Phenanthren	FLD	320 nm	15,65 min
2,3-Dimethylnaphthalin	FLD	320 nm	16,93 min
1,6-Dimethylnaphthalin	FLD	320 nm	17,13 min
Anthracen	FLD	405 nm	18,50 min
Fluoranthren	FLD	452 nm	19,75 min
Pyren	FLD	405 nm	20,64 min
Cyclopenta[c,d]pyren	DAD	225 nm	23,03 min
1-Methylpyren	FLD	405 nm	23,33 min
Benzo[a]anthracen	FLD	405 nm	23,62 min
Chrysen	FLD	405 nm	24,33 min
5-Methylchrysen	FLD	405 nm	24,85 min
Benzo[j]fluoranthren	DAD	225 nm	25,78 min
Benzo[e]pyren	FLD	405 nm	25,96 min
Benzo[b]fluoranthren	FLD	430 nm	26,36 min
Perylen	FLD	430 nm	26,46 min
Benzo[k]fluoranthren	FLD	430 nm	27,35 min
Benzo[a]pyren	FLD	405 nm	28,30 min
Dibenzo[a,l]pyren	FLD	430 nm	29,10 min
Dibenz[a,h]anthracen	FLD	405 nm	29,81 min
Benzo[ghi]perylen	FLD	430 nm	30,83 min
Dibenzo[a,e]fluoranthren	FLD	320 nm	31,58 min
Indeno[1,2,3-cd]pyren	FLD	320 nm	31,76 min
Indeno[1,2,3-cd]fluoranthren	FLD	405 nm	32,74 min
Dibenzo[a,e]pyren	DAD	225 nm	32,89 min
Anthanthren	FLD	430 nm	33,84 min
Coronen	FLD	452 nm	35,20 min
Dibenzo[a,i]pyren	FLD	452 nm	38,07 min
Dibenzo[a,h]pyren	FLD	452 nm	40,85 min

Tabelle 37: Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (NWG und BG) der GC-MS- und HPLC-Methoden in ng/mL.

	GC-MS		HPLC	
	NWG	BG	NWG	BG
Naphthalin	≤ 0,1	0,1	6	8
2-Methylnaphthalin	0,1	0,2	1	2
1-Methylnaphthalin	0,1	0,2	8	10
1,6-Dimethylnaphthalin	0,2	2	10	20
2,3-Dimethylnaphthalin	0,3	2	10	20
Acenaphthylen	0,1	0,2	8	10
Acenaphthen	0,1	0,3	2	3
Fluoren	0,1	0,3	0,1	0,2
Phenanthren	0,1	0,3	-	-
Anthracen	0,1	0,3	0,1	0,2
Fluoranthren	≤ 0,1	0,1	1	2
Pyren	≤ 0,1	0,1	0,2	0,3
1-Methylpyren	0,1	0,4	1	2
Benzo[a]anthracen	0,2	0,6	0,9	1
Chrysen	0,2	0,4	≤ 0,1	0,1
Cyclopenta[c,d]pyren	10	20	10	20
5-Methylchrysen	0,3	0,9	0,1	0,2
Benzo[b]fluoranthren	0,1	0,3	0,3	0,4
Benzo[k]fluoranthren	0,1	0,3	≤ 0,1	0,1
Benzo[e]pyren	0,1	0,3	≤ 0,1	0,1
Benzo[a]pyren	0,2	0,4	0,1	0,2
Benzo[j]fluoranthren	-	-	9	10
Perylen	0,1	0,4	0,3	0,4
Indeno[1,2,3-cd]fluoranthren	0,2	0,5	-	-
Dibenz[a,h]anthracen	0,3	0,9	0,9	1
Indeno[1,2,3-cd]pyren	1	2	0,9	1
Benzo[g,h,i]perylene	0,1	0,4	0,3	0,4
Anthanthren	0,3	0,8	0,3	0,5
Dibenzo[a,e]fluoranthren	0,4	2	10	20
Dibenzo[a,l]pyren	0,6	2	0,2	0,3
Dibenzo[a,e]pyren	0,7	4	10	20
Coronen	0,5	3	3	8
Dibenzo[e,l]pyren	5	30	-	-
Dibenzo[a,i]pyren	2	9	1	2
Dibenzo[a,h]pyren	2	9	0,6	0,9

Tabelle 38: Linearität der GC-MS-Methode für die einzelnen untersuchten Messbereiche anhand des Bestimmtheitsmaßes R^2 .

	0,1-1 ng/mL	1-10 ng/mL	10-100 ng/mL	90-900 ng/mL
Naphthalin	0,97276	0,9887	0,97123	0,99146
2-Methylnaphthalin	0,97262	0,98827	0,97432	0,99144
1-Methylnaphthalin	0,98927	0,98779	0,97396	0,9914
1,6-Dimethylnaphthalin	-	0,98534	0,97521	0,99123
2,3-Dimethylnaphthalin	-	0,98437	0,976	0,99088
Acenaphthylen	0,98841	0,9555	0,98003	0,99479
Acenaphthen	0,98698	0,95166	0,98192	0,99479
Fluoren	0,98272	0,95162	0,9823	0,99434
Phenanthren	0,98881	0,95732	0,9714	0,99414
Anthracen	0,99291	0,96442	0,98351	0,99357
Fluoranthren	0,99187	0,97595	0,97879	0,99392
Pyren	0,99226	0,97454	0,97836	0,9937
1-Methylpyren	0,98411	0,98918	0,97753	0,99434
Benzo[a]anthracen	-	0,99118	0,97442	0,99482
Chrysen	0,9775	0,991	0,97564	0,99447
Cyclopenta[c,d]pyren	-	0,92089	0,97193	0,99455
5-Methylchrysen	-	0,99189	0,9758	0,99449
Benzo[b]fluoranthren	0,9894	0,98711	0,97489	0,99495
Benzo[k]fluoranthren	0,97225	0,98708	0,97518	0,99516
Benzo[e]pyren	0,98612	0,97917	0,97617	0,9945
Benzo[a]pyren	0,97898	0,98538	0,97481	0,99538
Perylen	0,99249	0,99017	0,97421	0,99499
Indeno[1,2,3-cd]fluoranthren	0,99261	0,99083	0,97119	0,99563
Dibenz[a,h]anthracen	-	0,98404	0,97003	0,9954
Indeno[1,2,3-cd]pyren	0,93614	0,98689	0,96938	0,99547
Benzo[g,h,i]perylene	0,96001	0,98985	0,974	0,99525
Anthanthren	-	0,98432	0,96964	0,99485
Dibenzo[a,e]fluoranthren	-	0,97628	0,97034	0,99509
Dibenzo[a,l]pyren	-	0,99297	0,97243	0,99492
Dibenzo[a,e]pyren	-	0,98129	0,96629	0,99439
Coronen	-	0,98807	0,97048	0,99507
Dibenzo[e,l]pyren	-	-	0,9463	0,98531
Dibenzo[a,i]pyren	-	-	0,96459	0,99433
Dibenzo[a,h]pyren	-	-	0,95292	0,99461

Tabelle 39: Linearität der HPLC-Methode für die einzelnen untersuchten Messbereiche.

	0,1-1 ng/mL	1-10 ng/mL	10-100 ng/mL	90-900 ng/mL
Naphthalin	-	-	0,99003	0,91613
2-Methylnaphthalin	-	0,96632	0,99468	0,93412
1-Methylnaphthalin	-	-	0,99052	0,91925
1,6-Dimethylnaphthalin	-	-	-	0,90658
2,3-Dimethylnaphthalin	-	-	-	0,98127
Acenaphthylen	-	-	0,98600	0,91846
Acenaphthen	-	0,99209	0,98481	0,92995
Fluoren	0,98971	0,97004	0,99034	0,83690
Phenanthren	-	0,96136	-	-
Anthracen	0,98967	0,97210	0,99347	0,89140
Fluoranthren	-	0,97043	0,99132	0,84635
Pyren	0,98948	0,97006	0,99195	0,85124
1-Methylpyren	-	0,95925	0,99119	0,94535
Benzo[a]anthracen	-	0,98066	0,99044	0,96859
Chrysen	0,98246	0,97339	0,99209	0,87677
Cyclopenta[c,d]pyren	-	-	0,98476	0,90074
5-Methylchrysen	0,96264	0,97006	0,99160	0,88662
Benzo[b]fluoranthren	0,98422	0,97260	0,98534	0,77494
Benzo[k]fluoranthren	0,99691	0,97023	0,96807	0,77258
Benzo[e]pyren	0,96756	0,97252	0,99505	0,89167
Benzo[a]pyren	0,98609	0,96736	0,96498	0,90982
Benzo[j]fluoranthren	-	-	0,99191	0,99113
Perylen	0,97101	0,97348	0,98909	0,77494
Dibenz[a,h]anthracen	-	0,97169	0,99368	0,96059
Indeno[1,2,3-cd]pyren	-	0,96161	0,99576	0,95305
Benzo[g,h,i]perylen	0,98994	0,97102	0,99421	0,87713
Anthanthren	0,95596	0,96656	0,99385	0,87938
Dibenzo[a,e]fluoranthren	-	-	0,99153	0,94809
Dibenzo[a,l]pyren	0,96336	0,96298	0,99405	0,78538
Dibenzo[a,e]pyren	-	-	0,98161	0,94773
Coronen	-	-	0,99078	0,93890
Dibenzo[a,i]pyren	-	0,98620	0,99471	0,95052
Dibenzo[a,h]pyren	-	0,96132	0,99534	0,94656

Anhang 3: Stabilitätsstudien der Filter

Tabelle 40: Ergebnisse der Stabilitätsstudie der Quarzfaserfilter mittels Pipette über vier Monate, gekühlte Lagerung in Lösung, Angabe der Verluste relativ zum Tag der Belegung (Tag 0); Angabe für Tag 0 als Konzentration der Extraktionslösung.

	Tag 0 [ng/mL]	Tag 3	Tag 7	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 6	Woche 8	Monat 3	Monat 4
Cyclopenta[c,d]pyren	9,26	20,71 %	11,37 %	16,26 %	7,41 %	10,31 %	5,90 %	11,62 %	10,18 %	0,65 %
5-Methylchrysen	49,29	3,16 %	1,23 %	2,28 %	1,42 %	2,32 %	3,36 %	4,50 %	3,41 %	-9,74 %
BaP	37,23	13,96 %	11,48 %	14,30 %	4,94 %	10,69 %	8,64 %	9,80 %	5,13 %	13,33 %
Dibenzo[a,l]pyren	27,34	11,02 %	7,89 %	9,64 %	5,34 %	7,11 %	6,05 %	8,33 %	5,84 %	6,68 %
Dibenz[a,h]anthracen	51,59	1,06 %	-0,68 %	1,45 %	3,41 %	1,49 %	4,71 %	4,61 %	3,85 %	-12,33 %
Indeno[1,2,3-cd]pyren	49,83	-2,69 %	-3,03 %	-0,57 %	0,03 %	0,05 %	2,98 %	2,19 %	1,27 %	-19,38 %
Dibenzo[a,e]pyren	49,70	0,93 %	-1,19 %	2,65 %	0,95 %	1,01 %	3,08 %	2,60 %	3,18 %	-9,97 %
Anthanthren	30,53	11,00 %	10,52 %	8,85 %	2,91 %	3,95 %	0,26 %	-3,57 %	-3,18 %	-15,72 %
Coronen	53,93	-5,13 %	-12,17 %	-1,67 %	-7,79 %	-7,42 %	-7,53 %	-12,10 %	-0,45 %	-55,11 %
Dibenzo[a,i]pyren	43,44	-3,70 %	6,00 %	3,54 %	6,91 %	-2,49 %	2,71 %	-6,16 %	-3,78 %	-10,82 %
Dibenzo[a,h]pyren	39,93	-6,25 %	-11,18 %	0,86 %	1,22 %	-12,62 %	-14,66 %	-25,01 %	-20,29 %	-23,45 %

Tabelle 41: Ergebnisse der Stabilitätsstudie der Quarzfaserfilter mittels Pipette über vier Monate, gekühlte Lagerung der reinen Filter, Angabe der Verluste relativ zum Tag der Belegung (Tag 0); Angabe für Tag 0 als Konzentration der Extraktionslösung.

	Tag 0 [ng/ml]	Tag 3	Tag 7	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 6	Woche 8	Monat 3	Monat 4
Cyclopenta[c,d]pyren	9,26	-52,14 %	-56,73 %	-14,75 %	-19,38 %	-17,63 %	-69,34 %	-47,61 %	-57,07 %	-71,10 %
5-Methylchrysen	49,29	-13,02 %	-14,91 %	-1,80 %	-2,20 %	-2,69 %	-5,13 %	-5,11 %	-5,69 %	-19,86 %
BaP	37,23	-33,88 %	-36,50 %	4,25 %	0,48 %	-2,33 %	-14,60 %	-16,74 %	-18,04 %	-18,68 %
Dibenzo[a,l]pyren	27,34	-35,48 %	-39,19 %	3,72 %	1,48 %	-1,13 %	-11,84 %	-12,81 %	-16,18 %	-19,42 %
Dibenz[a,h]anthracen	51,59	-6,04 %	-10,52 %	-0,79 %	-2,29 %	-1,98 %	-1,58 %	-3,73 %	-2,86 %	-22,47 %
Indeno[1,2,3-cd]pyren	49,83	-8,86 %	-12,89 %	-3,09 %	-3,41 %	-3,24 %	-3,71 %	-6,27 %	-4,87 %	-28,54 %
Dibenzo[a,e]pyren	49,70	-14,24 %	-17,57 %	-1,36 %	-2,67 %	-3,99 %	-5,95 %	-8,83 %	-5,54 %	-18,56 %
Anthanthren	30,53	-29,79 %	-37,61 %	0,19 %	-7,99 %	-4,78 %	-18,00 %	-30,32 %	-27,84 %	-43,47 %
Coronen	53,93	-10,94 %	-14,76 %	-3,61 %	-6,94 %	-10,66 %	-6,90 %	-18,57 %	-2,16 %	-59,86 %
Dibenzo[a,i]pyren	43,44	-22,24 %	-35,85 %	-7,04 %	-14,13 %	-4,18 %	-9,08 %	-27,30 %	-10,71 %	-32,96 %
Dibenzo[a,h]pyren	39,93	-36,12 %	-38,63 %	-14,12 %	-23,43 %	-6,14 %	-16,93 %	-43,16 %	-32,90 %	-50,73 %

Tabelle 42: Ergebnisse der Stabilitätsstudie der PTFE-Filter mit Stützschicht mittels Pipette über vier Monate, gekühlte Lagerung, Angabe der Verluste relativ zum Tag der Belegung (Tag 0); Angabe für Tag 0 als Konzentration der Extraktionslösung.

	Tag 0 [ng/mL]	Tag 3	Tag 7	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 6	Woche 8	Monat 3	Monat 4
5-Methylchrysen	33,55	-4,82 %	-4,33 %	-5,67 %	-4,88 %	-1,83 %	-6,66 %	-26,27 %	-24,63 %	-29,09 %
BaP	33,03	-7,07 %	-6,52 %	-8,59 %	-7,71 %	-2,35 %	-9,26 %	-17,38 %	-15,31 %	-18,62 %
Dibenzo[a,i]pyren	30,85	-10,54 %	-8,59 %	-10,11 %	-9,69 %	-6,10 %	-14,26 %	-16,30 %	-18,67 %	-18,75 %
Dibenz[a,h]anthracen	32,55	-8,44 %	-9,62 %	-12,09 %	-11,03 %	-8,34 %	-15,76 %	-35,36 %	-37,56 %	-38,17 %
Indeno[1,2,3-cd]pyren	30,53	-10,48 %	-12,12 %	-14,90 %	-13,77 %	-9,73 %	-20,11 %	-37,67 %	-41,11 %	-41,14 %
Dibenzo[a,e]pyren	30,89	-12,50 %	-13,67 %	-17,20 %	-16,18 %	-9,49 %	-22,81 %	-32,52 %	-35,82 %	-35,16 %
Anthanthren	30,57	-12,80 %	-15,98 %	-31,14 %	-17,30 %	-12,47 %	-26,75 %	-39,72 %	-44,63 %	-32,17 %
Coronen	29,87	-10,59 %	-12,22 %	-20,16 %	-18,33 %	-3,99 %	-19,26 %	-62,83 %	-65,29 %	-65,30 %
Dibenzo[a,i]pyren	27,35	-14,73 %	-4,66 %	-24,87 %	1,76 %	-10,47 %	-20,56 %	-30,17 %	-26,36 %	-34,83 %
Dibenzo[a,h]pyren	26,86	-7,86 %	-8,63 %	-24,17 %	4,16 %	-13,17 %	-22,21 %	-37,37 %	-40,73 %	-33,90 %

Tabelle 43: Ergebnisse der Stabilitätsstudie der unlaminierten PTFE-Filter mittels Pipette über drei Monate, ungekühlte Lagerung, Angabe der Verluste relativ zum Tag der Belegung (Tag 0); Angabe für Tag 0 als Konzentration der Extraktionslösung.

	Tag 0 [ng/mL]	Tag 3	Tag 7	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 6	Woche 8	Monat 3
5-Methylchrysen	28,37	-13,55 %	-21,59 %	-27,41 %	-30,12 %	-31,48 %	-34,76 %	-38,33 %	-39,74 %
BaP	32,01	-5,46 %	-11,19 %	-14,76 %	-16,72 %	-16,72 %	-18,20 %	-20,58 %	-21,85 %
Dibenzo[a,l]pyren	27,06	-6,11 %	-9,57 %	-10,57 %	-11,58 %	-12,58 %	-10,42 %	-9,72 %	-9,50 %
Dibenz[a,h]anthracen	28,82	-2,14 %	0,06 %	-1,82 %	-1,98 %	-2,25 %	-2,09 %	-1,99 %	-1,90 %
Indeno[1,2,3-cd]pyren	27,75	-2,10 %	-3,91 %	-7,76 %	-9,26 %	-9,66 %	-10,32 %	-10,53 %	-11,96 %
Dibenzo[a,e]pyren	27,04	-1,19 %	1,48 %	-0,08 %	2,31 %	2,51 %	2,46 %	2,04 %	1,81 %
Anthanthren	25,06	-2,27 %	-2,01 %	-0,04 %	-1,96 %	0,03 %	-0,97 %	-0,78 %	-1,29 %
Coronen	27,95	-2,05 %	4,22 %	-1,71 %	-0,53 %	-1,88 %	-0,36 %	-1,66 %	-1,79 %
Dibenzo[a,i]pyren	26,68	-2,03 %	0,56 %	-1,39 %	-0,92 %	-0,44 %	-0,27 %	-2,80 %	-1,30 %
Dibenzo[a,h]pyren	23,00	-3,13 %	-4,18 %	-0,80 %	-1,78 %	-0,96 %	-0,50 %	-4,05 %	-0,71 %

Tabelle 44: Ergebnisse der Stabilitätsstudie der unlaminierten PTFE-Filter mittels Pipette über drei Monate, gekühlte Lagerung, Angabe der Verluste relativ zum Tag der Belegung (Tag 0); Angabe für Tag 0 als Konzentration der Extraktionslösung.

	Tag 0 [ng/mL]	Tag 3	Tag 7	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 6	Woche 8	Monat 3
5-Methylchrysen	28,37	-6,47 %	-12,04 %	-15,02 %	-15,77 %	-15,37 %	-16,50 %	-19,09 %	-21,96 %
BaP	32,01	-2,78 %	-3,81 %	-5,72 %	-7,38 %	-8,48 %	-8,88 %	-9,49 %	-10,97 %
Dibenzo[a,i]pyren	27,06	-3,50 %	-0,95 %	-5,47 %	-3,90 %	-6,51 %	-3,07 %	-3,41 %	-3,22 %
Dibenz[a,h]anthracen	28,82	-2,36 %	-2,06 %	2,74 %	-2,41 %	-4,55 %	-4,59 %	-3,81 %	-4,22 %
Indeno[1,2,3-cd]pyren	27,75	-0,00 %	-0,28 %	-0,72 %	-1,99 %	-2,26 %	-2,27 %	-2,94 %	-2,98 %
Dibenzo[a,e]pyren	27,04	-1,51 %	1,27 %	0,23 %	-0,86 %	-0,71 %	-0,90 %	-0,42 %	-1,31 %
Anthanthren	25,06	-2,03 %	1,74 %	0,44 %	1,33 %	2,36 %	2,20 %	2,10 %	1,16 %
Coronen	27,95	-0,09 %	1,44 %	-2,41 %	-2,36 %	0,53 %	0,12 %	-2,13 %	-1,79 %
Dibenzo[a,i]pyren	26,68	-1,74 %	0,58 %	-1,43 %	-0,43 %	-0,23 %	0,30 %	-2,49 %	-1,49 %
Dibenzo[a,h]pyren	23,00	-1,33 %	-0,74 %	-3,59 %	-2,34 %	-1,03 %	-2,71 %	-1,92 %	0,56 %

Anhang 4: Ergebnisse der externen Labore in den Testserien

Tabelle 45: Ergebnisse der ersten Testserie in μg pro Filter, Mittelwert aus der Doppelbestimmung der drei Filter pro Labor; CcdP: Cyclopenta[c,d]pyren.

		CcdP	SMC	BaP	DBaIP	DBahA	IndP	Anth	Cor	DBaiP	DBahP
Labor 2	1	0,0089	0,0393	0,0843	0,0371	0,0530	0,0508	0,0289	0,0640	0,0688	0,0080
	2	0,0050	0,0421	0,0610	0,0181	0,0523	0,0548	0,0162	0,0685	0,0595	0,0050
	3	0,0076	0,0448	0,0938	0,0405	0,0568	0,0583	0,0288	0,0723	0,0740	0,0079
Labor 3	1	0,011	0,049	0,062	0,045	0,051	0,059	0,020	0,090	0,068	0,008
	2	0,010	0,053	0,081	0,056	0,056	0,063	0,035	0,097	0,090	0,010
	3	0,022	0,060	0,120	0,074	0,063	0,071	0,047	0,110	0,110	0,012
Labor 6	1	0,0022	0,0451	0,0656	0,0305	0,0553	0,0579	0,0177	0,0806	0,0563	0,0040
	2	0,0025	0,0416	0,0619	0,0213	0,0547	0,0556	0,0237	0,0747	0,0582	0,0040
	3	0,0086	0,0497	0,0891	0,0353	0,0615	0,0638	0,0310	0,0863	0,0728	0,0057
Labor 7	1	0,0582	0,0307	0,0554	0,0413	0,0431	0,0401	0,0163	0,0351		
	2	0,0814	0,0366	0,0922	0,0616	0,0504	0,0474	0,0195	0,0363		
	3	0,0731	0,0352	0,0863	0,0580	0,0493	0,0463	0,0181	0,0406		
Labor 8	1			0,0966		0,0542	0,0888				
	2			0,1213		0,0665	0,0972				
	3			0,1246		0,0658	0,0964				
Labor 9	1			0,0831		0,0567	0,0608				
	2			0,0957		0,0526	0,0557				
	3			0,0757		0,0442	0,0463				

SMC: 5-Methylchrysen; DBaIP: Dibenzo[a,l]pyren; DBahA: Dibenz[a,h]anthracen; IndP: Indeno[1,2,3-cd]pyren; Anth: Anthanthren; Cor: Coronen; DBaiP: Dibenzo[a,i]pyren; DBahP: Dibenzo[a,h]pyren

Tabelle 46: Ergebnisse für Level 1 der zweiten Testserie in µg pro Filter, Mittelwert aus der Doppelbestimmung der drei Filter pro Labor.

	CcdP	5MC	BaP	DBaIP	DBaHA	IndP	DBaEP	Anth	Cor	DBaIP	DBaHP
Labor 1	1	0,061	0,057	0,068	0,072	0,068	0,080	0,048	0,055	0,067	0,055
	2	0,060	0,054	0,066	0,073	0,068	0,081	0,048	0,053	0,067	0,057
	3	0,060	0,052	0,064	0,070	0,066	0,080	0,045	0,051	0,065	0,054
Labor 3	1	0,020	0,064	0,074	0,074	0,084	0,089	0,100	0,090	0,098	0,081
	2	0,014	0,056	0,066	0,073	0,084	0,087	0,089	0,087	0,093	0,074
	3	0,013	0,077	0,065	0,073	0,083	0,087	0,095	0,087	0,096	0,077
Labor 4	1	0,0803	0,0658	0,0729	0,0814	0,0770	0,0921	0,0906	0,0906	0,0754	
	2	0,0764	0,0604	0,0653	0,0761	0,0741	0,0854	0,0862	0,0862	0,0670	
	3	0,0751	0,0561	0,0633	0,0778	0,0741	0,0863	0,0899	0,0899	0,0679	
Labor 5	1	0,0210	0,1149	0,0642	0,0739	0,0773	0,0905	0,0451	0,0885	0,1078	0,0521
	2	0,0146	0,1082	0,0516	0,0725	0,0575	0,0884	0,0397	0,0847	0,1056	0,0504
	3	0,0145	0,1133	0,0495	0,0672	0,0594	0,0891	0,0383	0,0889	0,1013	0,0502
Labor 6	1	0,0036	0,0610	0,0449	0,0329	0,0830	0,0961	0,0325	0,0899	0,0641	0,0390
	2	0,0026	0,0571	0,0371	0,0232	0,0800	0,0997	0,0269	0,1005	0,0612	0,0321
	3	0,0029	0,0635	0,0373	0,0199	0,0828	0,0852	0,0287	0,1009	0,0630	0,0310
Labor 7	1	0,0431	0,0302	0,0327	0,0381	0,0163	0,0327	0,0317	0,0301	0,0349	
	2	0,0339	0,0291	0,0291	0,0344	0,0157	0,0325	0,0284	0,0301	0,0384	
	3	0,0383	0,0268	0,0258	0,0313	0,0159	0,0318	0,0260	0,0285	0,0515	
Labor 8	1		0,0513	0,0661	0,0800	0,0843				0,1174	0,0401
	2		0,0450	0,0517	0,0750	0,0777				0,1087	0,0341
	3		0,0418	0,0529	0,0768	0,0797				0,1081	0,0313
Labor 9	1		0,0611		0,0796	0,0791					
	2		0,0534		0,0737	0,0763					
	3		0,0520		0,0732	0,0762					

CcdP: Cyclopenta[c,d]pyren; 5MC: 5-Methylchrysen; DBaIP: Dibenzo[a,i]pyren; DBaHA: Dibenzo[a,h]anthracen; IndP: Indeno[1,2,3-cd]pyren; DBaEP: Dibenzo[a,e]pyren; Anth: Anthanthren; Cor: Coronen; DBaIP: Dibenzo[a,i]pyren; DBaHP: Dibenzo[a,h]pyren

Tabelle 47: Ergebnisse für Level 2 der zweiten Testserie in µg pro Filter, Mittelwert aus der Doppelbestimmung der drei Filter pro Labor.

	CcdP	5MC	BaP	DBaIP	DBahA	IndP	DBaEP	Anth	Cor	DBaIP	DBaHP
Labor 1	1	0,029	0,027	0,033	0,035	0,033	0,039	0,020	0,025	0,031	0,023
	2	0,027	0,022	0,030	0,034	0,032	0,038	0,019	0,024	0,029	0,023
	3	0,027	0,023	0,029	0,034	0,032	0,038	0,018	0,024	0,029	0,021
Labor 3	1	0,005	0,028	0,034	0,036	0,040	0,043	0,048	0,043	0,047	0,040
	2	0,006	0,027	0,033	0,036	0,041	0,043	0,048	0,043	0,047	0,039
	3	0,005	0,025	0,031	0,035	0,040	0,042	0,045	0,043	0,045	0,037
Labor 4	1	0,0363	0,0265	0,0323	0,0390	0,0369	0,0423	0,0417	0,0417	0,0308	
	2	0,0375	0,0267	0,0315	0,0379	0,0368	0,0415	0,0442	0,0442	0,0298	
	3	0,0333	0,0209	0,0275	0,0364	0,0348	0,0386	0,0416	0,0416	0,0262	
Labor 5	1	0,0081	0,0254	0,0311	0,0371	0,0314	0,0386	0,0191	0,0411	0,0427	0,0219
	2	0,0058	0,0465	0,0314	0,0376	0,0288	0,0451	0,0178	0,0465	0,0494	0,0229
	3	0,0053	0,0441	0,0311	0,0369	0,0281	0,0442	0,0169	0,0459	0,0488	0,0237
Labor 6	1	0,0033	0,0195	0,0151	0,0419	0,0431	0,0509	0,0151	0,0521	0,0300	0,0183
	2	0,0026	0,0286	0,0210	0,0409	0,0416	0,0500	0,0159	0,0496	0,0331	0,0183
	3	0,0017	0,0275	0,0170	0,0399	0,0402	0,0485	0,0137	0,0494	0,0284	0,0172
Labor 7	1	0,0304	0,0134	0,0125	0,0167	0,0078	0,0159	0,0130	0,0174	0,0179	
	2	0,0376	0,0131	0,0116	0,0158	0,0179	0,0155	0,0127	0,0189	0,0294	
	3	0,0328	0,0129	0,0106	0,0148	0,0175	0,0078	0,0156	0,0173	0,0144	
Labor 8	1		0,0198	0,0244	0,0449	0,0433				0,0616	0,0172
	2		0,0194	0,0224	0,0376	0,0381				0,0528	0,0138
	3		0,0195	0,0194	0,0360	0,0369				0,0483	0,0108
Labor 9	1		0,0246		0,0368	0,0315					
	2		0,0256		0,0377	0,0383					
	3		0,0172		0,0290	0,0288					

CcdP: Cyclopenta[c,d]pyren; 5MC: 5-Methylchrysen; DBaIP: Dibenzo[a,i]pyren; DBahA: Dibenzo[a,h]anthracen; IndP: Indeno[1,2,3-cd]pyren; DBaEP: Dibenzo[a,e]pyren; Anth: Anthanthren; Cor: Coronen; DBaIP: Dibenzo[a,i]pyren; DBaHP: Dibenzo[a,h]pyren

Tabelle 48: Ergebnisse für den Filter mit Stützschiicht der dritten Testserie in µg pro Filter, Mittelwert aus der Doppelbestimmung der drei Filter pro Labor.

		5MC	BaP	DBaIP	DBahA	IndP	DBaeP	Anth	Cor	DBaiP	DBahP
Labor 1	1	0,042	0,083	0,048	0,078	0,047	0,053	0,040	0,049	0,036	0,040
	2	0,051	0,083	0,049	0,078	0,046	0,052	0,040	0,048	0,036	0,038
	3	0,042	0,085	0,048	0,077	0,047	0,052	0,039	0,048	0,036	0,038
Labor 2	1	0,0468	0,0453	0,0317	0,0445	0,0488	0,0406	0,0404	0,0510	0,0447	0,0512
	2	0,0458	0,0453	0,0297	0,0425	0,0438	0,0405	0,0395	0,0489	0,0442	0,0499
	3	0,0458	0,0487	0,0269	0,0449	0,0459	0,0418	0,0411	0,0499	0,0452	0,0508
Labor 3	1	0,047	0,045	0,043	0,039	0,046	0,046	0,022	0,044	0,037	0,018
	2	0,048	0,045	0,043	0,040	0,047	0,046	0,025	0,045	0,038	0,017
	3	0,048	0,045	0,043	0,040	0,048	0,047	0,025	0,045	0,039	0,019
Labor 4	1	0,0563	0,0506	0,0438	0,0388	0,0452	0,0488	0,0396	0,0480	0,0411	0,0389
	2	0,0563	0,0506	0,0435	0,0392	0,0458	0,0486	0,0387	0,0484	0,0402	0,0379
	3	0,0561	0,0502	0,0433	0,0388	0,0450	0,0480	0,0382	0,0485	0,0398	0,0382
Labor 5	1	0,0830	0,0578	0,0408	0,0500	0,0639	0,0502	0,0410	0,0434	0,0462	0,0426
	2	0,0834	0,0578	0,0390	0,0499	0,0640	0,0506	0,0420	0,0437	0,0479	0,0426
	3	0,0840	0,0592	0,0398	0,0489	0,0622	0,0495	0,0431	0,0418	0,0485	0,0409
Labor 6	1	0,0387	0,0391	0,0252	0,0358	0,0400	0,0307	0,0338	0,0343	0,0289	0,0310
	2	0,0392	0,0378	0,0280	0,0340	0,0392	0,0303	0,0352	0,0323	0,0277	0,0306
	3	0,0395	0,0398	0,0248	0,0368	0,0410	0,0323	0,0353	0,0330	0,0277	0,0314
Labor 7	1	0,0452	0,0497	0,0410	0,0454	0,0426	0,0404	0,0379	0,0411	0,0346	0,0344
	2	0,0448	0,0492	0,0399	0,0460	0,0421	0,0408	0,0379	0,0416	0,0352	0,0340
	3	0,0446	0,0490	0,0398	0,0462	0,0421	0,0414	0,0375	0,0410	0,0352	0,0336

5MC: 5-Methylchrysen; DBaIP: Dibenzo[a,i]pyren; DBahA: Dibenz[a,h]anthracen; IndP: Indeno[1,2,3-cd]pyren; DBaeP: Dibenzo[a,e]pyren; Anth: Anthanthren; Cor: Coronen; DBaiP: Dibenzo[a,i]pyren; DBahP: Dibenzo[a,h]pyren

Tabelle 49: Ergebnisse für den unlaminierten Filter der dritten Testserie in µg pro Filter, Mittelwert aus der Doppelbestimmung der drei Filter pro Labor.

		5MC	BaP	DBaIP	DBahA	IndP	DBaeP	Anth	Cor	DBaiP	DBahP
Labor 1	1	0,047	0,098	0,045	0,075	0,048	0,053	0,045	0,050	0,049	0,046
	2	0,048	0,099	0,047	0,078	0,049	0,052	0,047	0,051	0,050	0,046
	3	0,050	0,105	0,049	0,082	0,051	0,056	0,052	0,053	0,053	0,049
Labor 2	1	0,0466	0,0457	0,0376	0,0422	0,0485	0,0442	0,0380	0,0474	0,0416	0,0490
	2	0,0467	0,0477	0,0340	0,0431	0,0488	0,0431	0,0390	0,0459	0,0414	0,0468
	3	0,0460	0,0477	0,0294	0,0431	0,0478	0,0435	0,0396	0,0466	0,0404	0,0469
Labor 3	1	0,048	0,047	0,043	0,041	0,053	0,051	0,030	0,051	0,049	0,024
	2	0,048	0,047	0,045	0,042	0,054	0,051	0,031	0,051	0,050	0,025
	3	0,047	0,046	0,043	0,041	0,054	0,051	0,028	0,050	0,049	0,024
Labor 4	1	0,0545	0,0500	0,0438	0,0423	0,0463	0,0492	0,0408	0,0488	0,0428	0,0423
	2	0,0561	0,0509	0,0438	0,0404	0,0463	0,0488	0,0406	0,0512	0,0436	0,0420
	3	0,0537	0,0491	0,0437	0,0401	0,0457	0,0485	0,0405	0,0488	0,0420	0,0419
Labor 5	1	0,0642	0,0526	0,0389	0,0458	0,0480	0,0455	0,0404	0,0434	0,0405	0,0371
	2	0,0597	0,0532	0,0401	0,0453	0,0503	0,0485	0,0441	0,0458	0,0435	0,0399
	3	0,0629	0,0521	0,0398	0,0443	0,0491	0,0466	0,0420	0,0452	0,0434	0,0392
Labor 6	1	0,0365	0,0393	0,0279	0,0361	0,0406	0,0306	0,0323	0,0351	0,0325	0,0326
	2	0,0357	0,0395	0,0315	0,0368	0,0414	0,0312	0,0323	0,0418	0,0369	0,0331
	3	0,0336	0,0383	0,0299	0,0360	0,0403	0,0310	0,0314	0,0407	0,0367	0,0335
Labor 7	1	0,0444	0,0501	0,0430	0,0465	0,0427	0,0406	0,0427	0,0437	0,0414	0,0410
	2	0,0453	0,0514	0,0411	0,0478	0,0439	0,0420	0,0445	0,0441	0,0427	0,0420
	3	0,0458	0,0513	0,0405	0,0481	0,0436	0,0424	0,0443	0,0444	0,0424	0,0411

5MC: 5-Methylchrysen; DBaIP: Dibenzo[a,i]pyren; DBahA: Dibenz[a,h]anthracen; IndP: Indeno[1,2,3-cd]pyren; DBaeP: Dibenzo[a,e]pyren; Anth: Anthanthren; Cor: Coronen; DBaiP: Dibenzo[a,i]pyren; DBahP: Dibenzo[a,h]pyren

Tabelle 50: Ergebnisse der Teilnehmenden des Ringversuchs für Level 1 in µg pro Filter, Mittelwert über alle drei Filter, Ausreißer sind farblich hervorgehoben.

Labor-Nr.	SMC	BaP	DBaIP	DBaHA	IndP	DBaEP	Anth	Cor	DBaIP	DBaHP
1	0,0457			0,0327				0,0473		
13	0,0327	0,0400	0,0337	0,0367	0,0363	0,0367	0,0327	0,0350	0,0320	0,0327
33	0,0365	0,0423	0,0317	0,0381	0,0408	0,0409	0,0346	0,0374	0,0363	0,0322
52		0,0452		0,0409	0,0417					
130		0,0288		0,0301	0,0324					
150	0,0471	0,0446	0,0340	0,0365	0,0383	0,0390	0,0398	0,0324	0,0385	0,0441
200	0,0370	0,0399	0,0378	0,0380	0,0386	0,0385	0,0328	0,0374	0,0336	0,0398
203	0,0360	0,0380	0,0377	0,0330	0,0393	0,0400	0,0197	0,0400	0,0357	0,0147
231	0,0376	0,0436	0,0349	0,0412	0,0403	0,0384	0,0560	0,0406	0,0403	0,0372
238		0,0380		0,0386	0,0393					
248		0,0353		0,0347	0,0373					
266		0,0384	0,0422	0,0437	0,0431					
267		0,0398		0,0339	0,0369					
519	0,0419	0,0440	0,0374	0,0383	0,0398	0,0430	0,0402	0,0415	0,0384	0,0380

SMC: 5-Methylchrysen; DBaIP: Dibenzo[a,i]pyren; DBaHA: Dibenz[a,h]anthracen; IndP: Indeno[1,2,3-cd]pyren; DBaEP: Dibenzo[a,e]pyren; Anth: Anthanthren; Cor: Coronen; DBaIP: Dibenzo[a,i]pyren; DBaHP: Dibenzo[a,h]pyren

Tabelle 51: Ergebnisse der Teilnehmenden des Ringversuchs für Level 2 in µg pro Filter, Mittelwert über alle drei Filter, Ausreißer sind farblich hervorgehoben.

Labor-Nr.	SMC	BaP	DBaIP	DBaHA	IndP	DBaEP	Anth	Cor	DBaIP	DBaHP
1	0,0900					0,0653		0,0863		
13	0,0677	0,0827	0,0677	0,0750	0,0757	0,0757	0,0647	0,0703	0,0677	0,0750
33	0,0731	0,0851	0,0749	0,0771	0,0811	0,0848	0,0695	0,0828	0,0765	0,0695
52		0,0876		0,0744	0,0747					
130		0,0919		0,0864	0,0885					
150	0,0917	0,0872	0,0686	0,0772	0,0740	0,0749	0,0731	0,0639	0,0739	0,0863
200	0,0778	0,0813	0,0805	0,0770	0,0793	0,0815	0,0663	0,0755	0,0681	0,0849
203	0,0727	0,0747	0,0733	0,0657	0,0787	0,0790	0,0353	0,0783	0,0697	0,0260
231	0,0771	0,0910	0,0733	0,0894	0,0872	0,0851	0,1093	0,0849	0,0837	0,0792
238		0,0742		0,0724	0,0698					
248		0,0720		0,0697	0,0790					
266		0,0746	0,0737	0,0886	0,0862					
267		0,0828		0,0702	0,0741					
519	0,0880	0,0887	0,0758	0,0800	0,0809	0,0866	0,0853	0,0802	0,0801	0,0781

SMC: 5-Methylchrysen; DBaIP: Dibenzo[a,i]pyren; DBaHA: Dibenz[a,h]anthracen; IndP: Indeno[1,2,3-cd]pyren; DBaEP: Dibenzo[a,e]pyren; Anth: Anthanthren; Cor: Coronen; DBaIP: Dibenzo[a,i]pyren; DBaHP: Dibenzo[a,h]pyren