

**Bestimmung von polyzyklischen aromatischen
Kohlenwasserstoffen in Bedarfsgegenständen
und Verbraucherprodukten
– Optimierung der Probenvorbereitung,
der Aufreinigung und der Analyse mittels
GC-MS und GCxGC-MS –**

vom Fachbereich C (Mathematik und Naturwissenschaften)
der Bergischen Universität Wuppertal
genehmigte Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
- Doktor der Naturwissenschaften -
(Dr. rer. nat.)



vorgelegt von
Nicole Elisabeth Wydra
(staatlich geprüfte Lebensmittelchemikerin)

aus Bochum

Wuppertal, Juli 2012

Die Dissertation kann wie folgt zitiert werden:

urn:nbn:de:hbz:468-20130108-155028-8

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=urn%3Anbn%3Ade%3Ahbz%3A468-20130108-155028-8>]

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit
von Juli 2008 bis Juli 2012

auf Anregung und unter der Leitung von

Herrn Prof. Dr. Lothar Dunemann

im Hygiene-Institut des Ruhrgebiets,

Institut für Umwelthygiene und Toxikologie,

und im Arbeitskreis Analytische Chemie

der Bergischen Universität Wuppertal

unter Leitung von

Herrn Prof. Dr. Oliver J. Schmitz

Ich versichere, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig im Hygiene-Institut des Ruhrgebiets, Institut für Umwelthygiene und Toxikologie und im Arbeitskreis Analytische Chemie der Bergischen Universität Wuppertal unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. O.J. Schmitz und Herrn Prof. Dr. L. Dunemann durchgeführt und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Wuppertal, 23. Juli 2012

(Nicole Wydra)

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn **Prof. Dr. Oliver J. Schmitz** für die Aufnahme in die Arbeitsgruppe der Analytischen Chemie, für die Betreuung, seine Unterstützung und für die Möglichkeit, einige praktische Arbeiten im Arbeitsbereich der Analytischen Chemie durchführen zu können.

Herrn **Prof. Dr. Lothar Dunemann** möchte ich meinen besonderen Dank für die mir gegebene Möglichkeit zur Durchführung der Doktorarbeit am Hygiene-Institut des Ruhrgebiets, seine stete Diskussionsbereitschaft und fachlichen Ratschlägen aussprechen.

Dem **Hygiene-Institut des Ruhrgebiets** gilt mein Dank für die Bereitstellung der verwendeten Chemikalien und Geräte sowie der Arbeitszeit der Mitarbeiter.

Bei Frau **Dr. Jutta Begerow** bedanke ich mich für die Bereitstellung des interessanten Themas in ihrer Abteilung und die Freiräume dessen Gestaltung.

Herrn **Karl-Norbert Wolters** danke ich für die technische Unterstützung und die vielen fachlichen Gespräche.

Frau **Mahpareh Rezai** und Frau **Agnieszka Braun** danke ich für die angenehme Zusammenarbeit, ihre Unterstützung und ihr Verständnis während der Durchführung der Doktorarbeit am Hygiene-Institut des Ruhrgebiets.

Für die Hilfe bei der Probenzerkleinerung möchte ich recht herzlich Herrn **Mario Ruiz-Gomes** und Herrn **Andreas Blex** aus der Abteilung der Probenvorbereitung danken.

Der **Firma Retsch** danke ich für Probenzerkleinerungen und -vermahlungen und für die Bereitstellung der Abbildungen zur Erläuterung des Zerkleinerungsprozesses.

Herrn **Markus Schneberger** möchte ich für sein Engagement bei der Durchführung seiner Diplomarbeit und die dadurch beigetragenen Ergebnisse danken.

Bei Herrn **Roman Dück**, Frau **Ilka Lehmann**, Frau **Alexandra von Trotha**, Herrn **Nils Wienand** und Frau **Anne-Kathrin Thom** möchte ich mich herzlich für die Unterstützung während der GCxGC-Analysen bedanken.

Zudem bedanke ich mich bei allen **Kolleginnen und Kollegen der Analytischen Chemie** für die freundschaftliche Aufnahme in den Arbeitskreis, die angenehme Zeit und besonders den Kollegen für die stetige Hilfe beim Wechsel der Gasflaschen.

Herrn **Walter Turner** danke ich für das Korrekturlesen der englischsprachigen Zusammenfassung.

Herrn **Dr. Andreas Koch**, allen **Kolleginnen und Kollegen der Abteilung für wasserhygienische Materialprüfungen** des Hygiene-Instituts des Ruhrgebiets und Frau **Susanne Reinhardt-Benitez** danke ich für ihr Verständnis und ihre stets offenen Ohren.

Bei allen **externen Kooperationspartnern** bedanke ich mich für die Bereitstellung von Materialien zur Probenvorbereitung und -aufreinigung, für den bereitwilligen Informationsaustausch und für die Bereitstellung von Literatur(nachdrucken).

Bei Herrn **Ralph Schumann** bedanke ich mich für das Korrekturlesen und seine kritische Durchsicht dieser Arbeit.

Mein herzlicher Dank gilt auch meiner **Familie**, der **Familie meines Partners** und meinen **Freunden**, besonders Frau **Simone Burau**, die in der ganzen Zeit den Glauben an mich nicht verloren haben.

Meinen **Eltern** gilt besonderer Dank für die unentwegte Unterstützung während des Studiums, der weiteren Ausbildung und dieser gesamten Arbeit.

Ich danke Herrn **Sebastian Krüger** von ganzem Herzen für seinen unermüdlichen Beistand, für sein Verständnis und seiner mir entgegengebrachten Geduld während der Erstellung dieser Arbeit.

Für Sebastian

Abkürzungsverzeichnis

Σ	Summe
(TOF)MS	time-of-flight- mass spectrometry (Flugzeit-Massenspektrometrie)
μ ECD	Mikro-Elektronen-Einfang-Detektor
μ L	Mikroliter
μ m	Mikrometer
¹ D	erste Dimension
¹ d _c	Innendurchmesser der ersten Trennsäule in einem comprehensive zweidimensionalen System
¹ d _f	Filmdicke der ersten Trennsäule in einem comprehensive zweidimensionalen System
¹ t _R	Retentionszeit eines Signals in der ersten Dimension in einem comprehensive zweidimensionalen System
² D	zweite Dimension
2D	zweidimensional
² d _c	Innendurchmesser der zweiten Trennsäule in einem comprehensive zweidimensionalen System
² d _f	Filmdicke der zweiten Trennsäule in einem comprehensive zweidimensionalen System
² t _R	Retentionszeit eines Signals in der zweiten Dimension in einem comprehensive zweidimensionalen System
3D	dreidimensional
Abb.	Abbildung
ABS	Acrylnitril-Butadien-Styrol-Polymer
AED	Atomemissionsdetektor
ALARA	as low as reasonably achievable (so niedrig wie vernünftigerweise erreichbar)
amu	atomare Masseneinheit
AP	atmospheric pressure (Atmosphärendruck)
APLI	atmospheric pressure laser ionization (Laserionisation unter Atmosphärendruck)
AtAV	Ausschuss für technische Arbeitsmittel und Verbraucherprodukte
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BG	Bestimmungsgrenze

Bundesgesundhbl.	Bundesgesundheitsblatt
bzw.	beziehungsweise
c	Konzentration
ca.	circa
CAS	Chemical Abstracts Service
cm	Zentimeter
Da	Dalton
DIN	Deutsches Institut für Normung
DNA	Desoxyribonukleinsäure
d _f	Filmdicke
EG	Europäische Gemeinschaft
EG	Erfassungsgrenze
EI	Elektronenstoßionisation
EIC	extracted ion chromatogramm
EPA	United States Environmental Protection Agency (US amerikanische Umweltbehörde)
EPA-PAK	von der EPA bewertete polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe
etc.	et cetera
EU	Europäische Union
eV	Elektronenvolt
EWG	Europäische Wirtschaftsgemeinschaft
FID	Flammenionisationsdetektor
g	Gramm
GC	Gaschromatographie
GC-GC	zweidimensionale Gaschromatographie
GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
GCxGC	comprehensive zweidimensionale Gaschromatographie
GHS	globally harmonized system of classification, labelling and packaging of chemicals (global harmonisiertes System zur Einstufung und Kennzeichnung von Chemikalien)
GLC	gas liquid chromatography (Gas-Flüssigkeits- Chromatographie)
GPSG	Gesetz über technische Arbeitsmittel und Verbraucherprodukte
GS	geprüfte Sicherheit

h	Stunde
Hz	Hertz
IARC	International Agency for Research on Cancer (internationale Agentur für Krebsforschung)
ID	Innendurchmesser
IS	interner Standard
Kap.	Kapitel
Kat.	Kategorie
kg	Kilogramm
L	Liter
LFGB	Lebensmittel-, Futtermittel- und Bedarfsgegenständegesetzbuch
LMCS	longitudinal modulating cryogenic system
m	Meter
m/z	Masse/Ladungsverhältnis
max.	maximal
MDGC	multidimensionale Gaschromatographie
mg	Milligramm
min	Minute
Mio.	Millionen
mL	Milliliter
mm	Millimeter
mol	Mol
ms	Millisekunde
MS	Massenspektrometrie
NCD	Stickstoff-Chemolumineszenz-Detektoren
ng	Nanogramm
NG	Nachweisgrenze
nm	Nanometer
Nr.	Nummer
PAH	polycyclic aromatic hydrocarbons
PAK	polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe
ppm	parts per million (Teile pro Million)
ProdSG	Produktsicherheitsgesetz

qMS	Quadrupol- Massenspektrometer
R^2	quadratischer Korrelationskoeffizient
REACH	registration, evaluation, authorisation and restriction of chemicals (Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung von Chemikalien)
rel. Vstdabw.	relative Verfahrensstandardabweichung
REMPI	resonance enhanced multiphoton ionization (resonanzverstärkte Multiphotonen-Ionisation)
Rf	Responsefaktor
RL	Richtlinie
s	Sekunde
s.	siehe
S_1	1. angeregter Zustand
S_2	2. angeregter Zustand
SCD	Schwefel-Chemolumineszenz-Detektor
SIC	single ion chromatogram
SIM	single ion monitoring
SPE	solid phase extraction (Festphasenextraktion)
Stdabw.	Standardabweichung
TIC	total ion chromatogram
TOF	time-of-flight (Flugzeit)
t_r	Retentionszeit
U	Peakflächeneinheit
u.a.	unter anderem
U/min	Umdrehungen die Minute
V	Volumen
V	Volt
VO	Verordnung
WHO	World Health Organization (Weltgesundheitsbehörde)
z.B.	zum Beispiel
ZEK	zentraler Erfahrungskreis der ZLS
ZLS	Zentralstelle der Länder für Sicherheitstechnik
μg	Mikrogramm

Inhaltsverzeichnis

Abstract

1	Einleitung.....	1
1.1	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK).....	1
1.2	Eintrag von PAK in Kunststoffe und Elastomere	5
1.2.1	Weichmacheröle	5
1.2.2	Ruß und Carbon Black.....	6
1.3	Rechtlicher Rahmen.....	8
1.4	Auswirkungen und zeitliche Entwicklung.....	11
1.4.1	PAK-Höchstgehalte	11
1.4.2	Untersuchungsergebnisse	12
1.4.3	Methode ZEK 01.2-08 des zentralen Erfahrungsaustauschkreises.....	12
1.5	Gaschromatographie.....	17
1.5.1	Eindimensionale Gaschromatographie	18
1.5.2	Multidimensionale Gaschromatographie	20
1.5.3	Comprehensive zweidimensionale Gaschromatographie	22
1.5.3.1	Geräteaufbau	22
1.5.3.2	Modulatoren	23
1.5.3.3	Wrap-around.....	27
1.5.3.4	Orthogonalität	27
1.5.3.5	Detektoren und Software	28
2	Problemstellung und Zielsetzung	30
3	Ergebnisse und Diskussion	32
3.1	Eindimensionale Gaschromatographie.....	32
3.1.1	Einführung der Methode.....	33
3.1.2	Validierung	36
3.1.3	Extraktion und deren Anpassung für die Analyse im linearen Bereich	42
3.1.4	Aufreinigung der Probenextrakte.....	44
3.1.4.1	Optisch unauffällige Extrakte und deren Abdampfrückstand.....	45
3.1.5	Kieselgel als Sorbens zur Aufreinigung der Probenextrakte	46
3.1.5.1	Aufreinigung über manuell befüllte Glassäulen.....	46
3.1.5.2	Matrixprobleme	49
3.1.5.3	Fraktionierte Elution	51

3.1.5.4	Aufreinigung über industriell gepackte Kieselgel-Kartuschen	53
3.1.5.5	Modifizierte Kieselgele (Florisil und Cyanophasen)	58
3.1.5.6	Polymersorbentien (hypercrosslinked Polyvinylstyrol)	61
3.1.6	Probenzerkleinerung	62
3.1.7	Abhängigkeit der Matrixprobleme von der Polymerbeschaffenheit	66
3.1.8	Diskussion der Ergebnisse.....	67
3.2	Comprehensive zweidimensionale Gaschromatographie.....	69
3.2.1	Shimadzu-System	71
3.2.1.1	Einführung der Methode und Analyse von Standardlösungen	71
3.2.1.2	Analyse von Kunststoffextrakten.....	74
3.2.1.3	Eindimensionale Analyse von Kunststoffextrakten.....	75
3.2.1.4	GCxGC-Analyse von Kunststoffextrakten	76
3.2.1.5	Diskussion der Ergebnisse.....	79
3.2.2	LECO-System	81
3.2.2.1	Einführung der Methode und Analyse von Standardlösungen	81
3.2.2.2	Analyse des schwarzen Kunststoffextraktes	84
3.2.2.3	Analyse von geruchsauffälligen Realproben aus einem Baumarkt und dem Einzelhandel	87
3.2.2.4	Diskussion der Ergebnisse.....	94
3.3	Ausblick: Einsatz der APLI-Ionisierungstechnik zur sensitiven und selektiven Bestimmung von polyzyklischen aromatischen Verbindungen ..	95
4	Zusammenfassung	98
5	Experimenteller Teil	100
5.1	Kalibrierungen	100
5.2	Kontrollstandard	101
5.3	Probenvorbereitung gemäß Methode ZEK-1.02-8	102
5.4	Probenaufreinigung gemäß Methode ZEK-1.02-8.....	103
5.5	Optimierte Probenvorbereitung	104
5.6	Optimierte Probenaufreinigung	105
5.7	Fraktionierte Elution	105
5.8	Bestimmung der Wiederfindungen	106
5.9	Probenaufreinigung über CN/SiOH-Kartuschen.....	106
5.10	Probenaufreinigung über Florisil®-Kartuschen.....	106
5.11	Probenaufreinigung über Polymer-Kartuschen	107

5.12	Chemikalien	107
5.12.1	Lösungsmittel	107
5.12.2	Standard-Lösungen.....	108
5.12.3	Weitere Chemikalien	108
5.13	Materialien.....	108
5.13.1	Materialien zur Probenvorbereitung und Analytik.....	108
5.13.2	Materialien zur Probenaufarbeitung	110
5.13.3	Geräte	110
5.13.4	PC-Systeme und Software	111
5.14	GCxGC-qMS-System	111
5.14.1	Optimierte Methode für die Bestimmung der EPA-PAK	112
5.15	GCxGC-(TOF)MS-System	113
5.15.1	Optimierte Methode für die Bestimmung der EPA-PAK	114
5.16	GC- Ion Trap MS-System	115
5.16.1	Optimierte Methoden für die Bestimmung der EPA-PAK	115
6	Anhang.....	120
6.1	Abbildungsverzeichnis.....	122
6.2	Tabellenverzeichnis.....	125
7	Literaturverzeichnis	127

Abstract

The gas chromatographic determination described in the document ZEK 01.2-08: "Testing and Validation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) in the course of GS-Mark Certification" was introduced into an analytical laboratory and validated. Individual steps of the method were optimized systematically with respect to easier handling and increased efficiency during sample preparation and clean-up.

Sample grinding was automated by the use of a cutting mill, which made quick and homogeneous size reduction possible for very hard and large-sized products, as well as elastic and soft materials. The device's robustness allowed the crushing of elastomers and rubber products previously made brittle by immersion in liquid nitrogen.

The time-consuming sample clean-up over glass columns manually packed with silica gel was improved by the use of industrially made, more densely packed silica gel cartridges. This limits laborious preparation of sorbent and glassware prior to analysis. The optimized clean-up also saves time and amount of solvent and achieves more effective purification of the sample extracts.

The majority of consumer goods and plastic products analysed in the various categories showed either no detectable level or only low levels of polycyclic aromatic hydrocarbon content. The concentrations determined are significantly below the maximum levels set in the document ZEK 01.2-08 for the three categories of materials expected to come into contact with the human skin. The results illustrate that materials can be produced according to good manufacturing practice by the use of appropriate and pure raw materials.

During chromatographic analysis of the toluene extracts – especially from soft materials, elastomers and rubbers – interferences arose that were due to additional substances extracted from the sample. These dissolved matrix components have vapour pressures similar to those of the analytes under investigation and interfere with the qualitative and quantitative determination of the aromatics. Not even clean-up with modified sorbents or polymeric-phase cartridges could facilitate successful separation of these substances, which were especially problematic when they occurred in the molecular mass range between m/z 178 and 228 Da. Neither the method according to the ZEK document nor the optimized clean-up procedure presented in this work allowed the total separation of interfering matrix components.

Fractional elution of an exemplary sample extract, performed on manually filled silica gel glass columns, demonstrates that these interfering substances have not only similar vapour pressure but similar polar properties, as well, as they do not interact with the solid phase. They can therefore only with difficulty be separated from the aromatic compounds under investigation.

In a second focus, the separation efficiency of two-dimensional comprehensive gas chromatography was demonstrated for the analysis of complex matrices.

With this highly efficient separation, complex matrices of extracts from plastic products are analysed not only in terms of their composition but also for an instrumental separation of interfering matrix components from the analytes to be determined. Investigation of some extracts contaminated with matrix components showed successful separation. By means of mass spectrometric detection, both identification and quantification were achieved with this technique.

The efficiency of this two-dimensional system could be demonstrated in further studies of selected consumer products purchased in local stores. In agreement with the strong aromatic odour of the samples, high amounts of PAH could be determined by the method presented here. As a result of the different and independent separation mechanisms – separation according to the analytes' vapour pressure in the first dimension of the system followed by separation through their interaction with the stationary phase in the second dimension – clusters and groups of similar substances occurred within the two-dimensional plot. In addition to the 16 EPA-PAH, many isomers and congeners of polycyclic aromatic hydrocarbons could be identified.

1 Einleitung

Die Untersuchung von Bedarfsgegenständen im Sinne des Lebensmittel-, Futtermittel- und Bedarfsgegenständegesetzbuches (LFGB) [1] hinsichtlich ihres Gehaltes an Schadstoffen hat in den letzten Jahren immer mehr an Bedeutung gewonnen. Neben diversen Veröffentlichungen von Untersuchungsergebnissen, beispielsweise zu Bisphenol A [2 – 4] oder dem Gehalt an Weichmachern in Spielzeug [5, 6], haben auch die Analysenergebnisse von Polymer- und Gummimaterialien hinsichtlich ihres Gehaltes an polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK; englisch: polycyclic aromatic hydrocarbons, PAH) einiges an Aufsehen erregt [7, 8].

Untersuchungen durch z.B. Stiftung Warentest von diversen Gegenständen aus dem täglichen Gebrauch, Spielwaren und Materialien im direkten Kontakt mit der Haut des Menschen ergaben in mehreren Fällen sehr hohe Konzentrationen der zum Teil kanzerogen wirkenden Substanzen [9, 10]. Neben den bereits bekannten Expositionswegen muss somit nun auch eine Aufnahme dieser Verbindungen über den alltäglichen Kontakt mit diversen Gummi- und Kunststoffmaterialien in Betracht gezogen werden.

1.1 Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK)

Die Gruppe der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe umfasst eine Vielzahl an Substanzen, deren Grundstruktur über mehrfach kondensierte Benzolringe definiert wird. Die kleinste unsubstituierte Verbindung ist Naphthalin, es besteht aus nur zwei aromatischen Ringen. PAK entstehen in einem pyrolytischen Prozess, wenn kohlenstoffhaltige Substanzen unter Luftausschluss unvollständig verbrannt oder bei hohen Temperaturen erhitzt werden. Sie kommen mittlerweile fast ubiquitär vor [11 – 14].

Viele der Expositionswegen sind bekannt. Neben der berufsbedingten inhalativen Aufnahme an spezifischen Arbeitsplätzen, beispielsweise von Straßenbauarbeitern oder in Kokereien, werden PAK auch partikelgebunden an stark befahrenen Straßen, über Autoabgase oder Reifenabrieb eingeatmet. In der Umwelt können diese Substanzen auch bei Bränden oder im Innenraum (durch Kaminöfen, Kerzen und

besonders Tabakrauch) über die Atemwege in den Körper gelangen. Orale Aufnahmen erfolgen über Trinkwasser und durch Verzehr von zu stark erhitzten Lebensmitteln, dabei vermehrt über geräucherte und gegrillte Speisen [11, 12].

Untersuchungen an Arbeitern mit direktem Hautkontakt zu PAK-haltigen Materialien wie Teer oder Ruß, unter anderem bei Schornsteinfegern, haben über Biomarker auch eine dermale Aufnahme nach Hautkontakt bewiesen [11, 15 – 23].

Aus der Vielzahl der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe wurden 16 der am häufigsten in Umweltproben nachgewiesenen, unsubstituierten Verbindungen von der amerikanischen Umweltbehörde (United States Environmental Protection Agency, EPA) aufgelistet. In nachfolgender Abbildung 1 sind diese so genannten 16 EPA-PAK dargestellt [13, 14]:

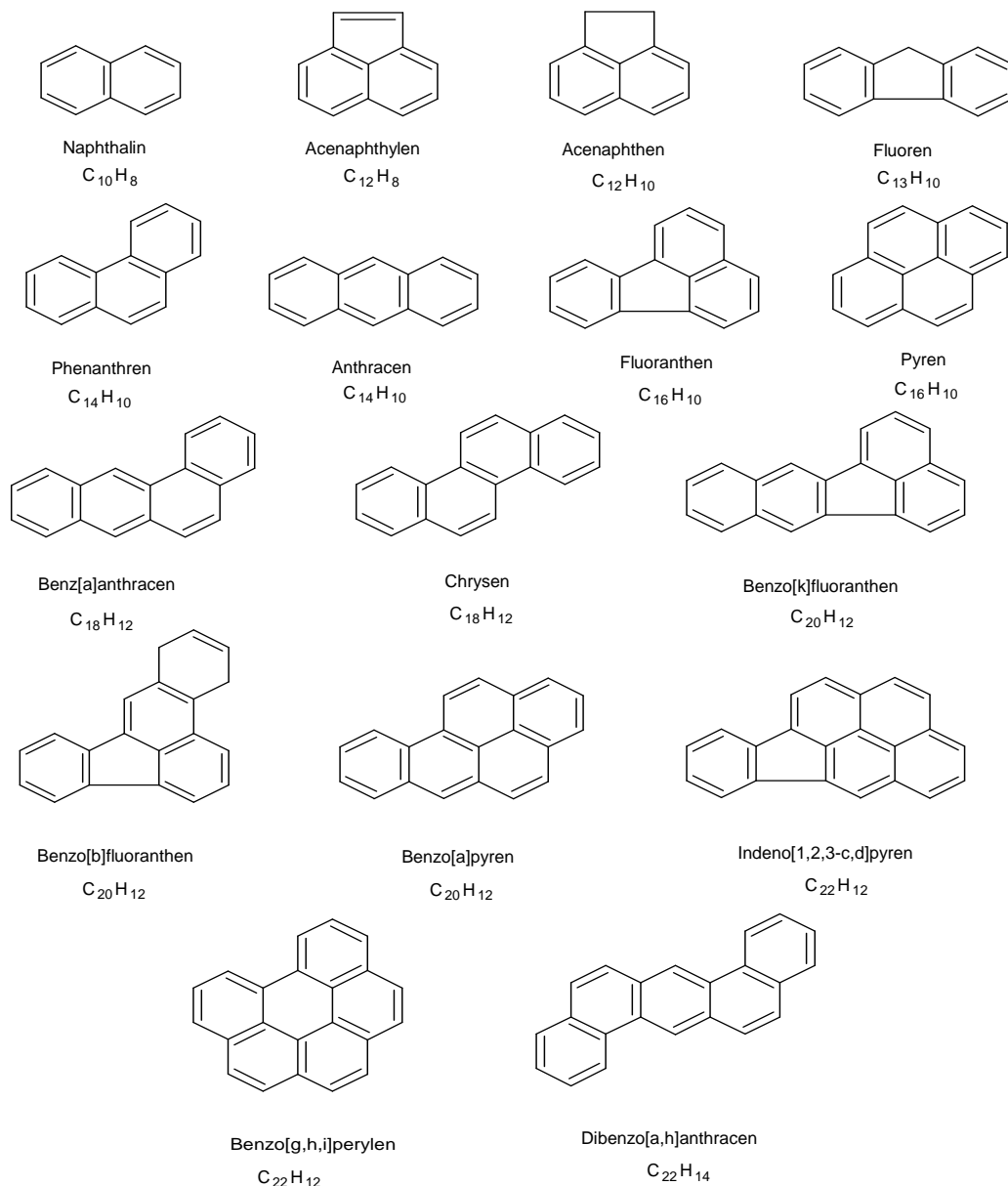


Abbildung 1: Strukturen und Summenformeln der 16 EPA-PAK [13, 14]

Diverse *in vivo* und *in vitro* Experimente haben gezeigt, dass einige der Verbindungen aus der Gruppe mutagene und/oder kanzerogene Wirkung besitzen [15 – 17]. Dabei sind die einzelnen Substanzen selbst nicht toxisch. Erst nach Metabolisierung im Organismus entwickeln die Verbindungen ihre schädigende Wirkung. Es werden dabei drei Metabolisierungswege beschrieben [12, 18, 24 – 30]:

- Über Cytochrom P450 Monooxygenasen in Kombination mit Epoxidhydrolasen werden über Diol-Verbindungen Diol-Epoxide gebildet, die kovalent an die DNA binden und so zu Mutationen führen.
- Aldo-Keto-Reduktasen bilden reaktive und redox-aktive Quinone, welche wiederum reaktive Sauerstoffspezies bilden; diese schädigen oxidativ die DNA oder induzieren Lipid-Hydroperoxid-Schädigungen.
- Cytochrom P450 Peroxidasen bilden Radikal-Kationen, die an die DNA binden; eine fehlerhafte DNA-Reparatur bzw. Synthese führt zu Mutationen.

Sieben der für diese Arbeit betrachteten 16 EPA-PAK werden offiziell gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen (GHS-Verordnung) [31] bzw. der Gefahrstoffrichtlinie 67/548/EWG kategorisiert [32]:

PAK	Kategorie nach	
	VO (EG) 1272/2008	RL 67/548/EWG
Benzo[a]anthracen	Karzinogen 1B	Karzinogen 2
Benzo[a]pyren	Karzinogen 1B Mutagen 1B Reproduktionstoxisch 1B Sensibilisierend (Haut) 1	Karzinogen 2 Mutagen 2 Reproduktionstoxisch 2
Benzo[b]fluoranthen	Karzinogen 1B	Karzinogen 2
Benzo[k]fluoranthen	Karzinogen 1B	Karzinogen 2
Chrysen	Karzinogen 1B Mutagen 2	Karzinogen 2 Mutagen 3
Dibenzo[a,h]anthracen	Karzinogen 1B	Karzinogen 2
Naphthalin	Karzinogen 2 akute Toxizität 4	Karzinogen 3

Tabelle 1: Einteilung von 7 EPA-PAK gemäß VO (EG) 1272/2008 und RL 67/548/EWG [31, 32]

Die internationale Agentur für Krebsforschung (International Agency for Research on Cancer, IARC) hat folgende Klassifizierung der 16 EPA-PAK vorgenommen [33]:

PAK	CAS- Nummer	Molmasse [g/mol]	Klasse nach IARC
Naphthalin	91-20-3	128,17	2B
Acenaphthen	83-32-9	154,21	3
Acenaphthylen	208-96-8	152,19	-
Fluoren	86-73-7	166,22	3
Phenanthren	85-01-8	178,23	3
Anthracen	120-12-7	178,23	3
Fluoranthen	206-44-0	202,26	3
Pyren	129-00-0	202,26	3
Benzo[a]anthracen	56-55-3	228,29	2B
Chrysen	218-01-9	228,29	2B
Benzo[b]fluoranthen	205-99-2	252,32	2B
Benzo[k]fluoranthen	207-08-9	252,32	2B
Benzo[a]pyren	50-32-8	252,32	1
Indeno[1,2,3-c,d]pyren	193-39-5	276,34	2B
Benzo[g,h,i]perylen	191-24-2	276,34	3
Dibenzo[a,h]anthracen	53-70-3	278,35	2A

Tabelle 2: Klassifizierung der 16 EPA-PAK nach IARC [33]

- 1** = krebserzeugend beim Menschen
- 2A** = wahrscheinlich krebserzeugend beim Menschen
- 2B** = möglicherweise krebserzeugend beim Menschen
- 3** = nicht klassifizierbar
- = nicht gelistet nach IARC

Auch wenn nicht alle Verbindungen aus der Gruppe der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe als eindeutig kanzerogen ausgewiesen werden, können diese dennoch begünstigend auf die Metabolitbildung der anderen eingestuft Substanzen wirken [18]. Da keine Konzentration angegeben werden kann, oberhalb derer ein Stoff seine kanzerogene Wirkung entfaltet, gilt ein Minimierungsgebot [7].

1.2 Eintrag von PAK in Kunststoffe und Elastomere

Durch Zugabe von Weichmacherölen auf Basis von Mineralölen, aus der Verarbeitung von Kohle, durch Wiederverarbeitung von alten Gummiprodukten (wie beispielsweise Reifen) oder dem Einsatz von Ruß bzw. Carbon Black können PAK in den Kunststoff bzw. in das Elastomer eingebracht werden [7, 8, 35, 36].

1.2.1 Weichmacheröle

Weichmacheröle erhöhen die Verformbarkeit und Flexibilität eines Polymerwerkstoffes. Die in Gummimaterialien eingesetzten Weichmacher sind meistens Mineralöle aus der Erdöl-Produktion. Sowohl im Rohöl als auch beispielsweise im unvollständig aufgereinigten Öl sind PAK nachweisbar [37 – 39]. Die polyzyklischen Verbindungen kommen sowohl in unbehandelten als auch in behandelten Ölen als Nebenprodukte vor. Bei deren Verarbeitung und zu starker Erhitzung kann es weiterhin zu einer nachträglichen Bildung von PAK aus den anderen, noch im Öl befindlichen Substanzen kommen [37]. Untersuchungen haben gezeigt, dass die diversen Mineralölklassen, behandelt oder auch unbehandelt, kanzerogen wirken können [37 – 39].

Durch umfangreiche Biomonitoring-Analysen bei beruflich exponierten Arbeitern konnte eine Korrelation zwischen deren Krebserkrankung und den gebildeten Tumoren zu der jeweiligen Exposition gegenüber den verschiedenen Mineralölen festgestellt werden [40 – 43].

Mineralöle und deren kanzerogene Wirkung wurden ebenfalls von der IARC untersucht. Dabei ergab sich die in Tabelle 3 zusammengestellte Einteilung der diversen Öle nach Untersuchung am Versuchstier [37]:

Art des Öles	Kanzerogenität
Vakuumdestillat	erwiesen
säurebehandeltes Öl	
aromatische Öle	
hochsiedende Fraktionen aus katalytisch gekrackten Ölen	
Extrakte aus lösungsmittelbehandelten Destillaten	
leicht lösungsmittelbehandelte Öle	
leicht hydrierte Öle	
gebrauchte Benzinmotoröle	
Kühl- und Schneidöle	
Weißöle	nicht erwiesen (außer bei direkter Injektion in die Bauchhöhle)
stark lösungsmittelbehandelte Öle	nicht erwiesen
stark hydrierte Öle	keine ausreichende Datenlage

Tabelle 3: Kanzerogenität der diversen Ölarten nach [37]

Auch die GHS-Verordnung weist den diversen Mineralölen kanzerogene Wirkung zu [31].

1.2.2 Ruß und Carbon Black

Ruß und Carbon Black (beide CAS-Nr.: 1333-86-4) werden zum Teil als schwarze Farbpigmente eingesetzt. Daneben werden sie auch als Füllstoffe in Elastomeren wie Kautschuk und Gummi verwendet. Dabei dienen sie zur Verstärkung und zur Erhöhung u.a. der Reiß- und der Abriebfestigkeit des jeweiligen Produktes [35, 36, 44, 45].

Hochtechnisches Carbon Black ist ein Industrieprodukt. Dieser nahezu pure elementare Kohlenstoff (≥ 95 % amorpher Kohlenstoff) wird in Form von kolloidalen

Partikeln mit einer Größe von wenigen Nanometern zu etwa 8 Mio. Tonnen hergestellt. Davon entfallen 90 % auf die Gummiindustrie als Verstärkungsmittel für (Gummi-) Reifen bzw. als Füllstoff in Elastomeren, 9 % werden als Farbpigmente und die restlichen ca. 1 % in diversen anderen Anwendungen verwendet [46].

Die Herstellung von Carbon Black kann nach verschiedenen Verfahren erfolgen. Diese unterscheiden sich in technischen Details und/oder in den eingesetzten Rohstoffen. Man differenziert folgende Verfahren [46 – 48]:

- Lamp-black-Verfahren (Verbrennung von Öl bei geringer Sauerstoffzufuhr; veraltet)
- Channel-Ruß-Verfahren (Verbrennung von Erdgas bei hohem Sauerstoffgehalt)
- Furnace-Ruß-Verfahren (Verbrennung eines Öl/Gas-Gemisches)
- Acetylen-Verfahren (thermische Zersetzung von Acetylen-Gas)
- Thermal-Verfahren (thermische Zersetzung von Erdgas)

Grundsätzlich handelt es sich bei allen Herstellungsprozessen um eine gezielte thermische Zersetzung und/oder kontrollierte, unvollständige Verbrennung von Kohlenwasserstoffen.

Das hochtechnische Carbon Black enthält nur geringe Mengen an organischen Kontaminanten wie PAK. Der Gehalt hängt von der Prozessführung ab. Moderne Produktionsverfahren und Qualitätssicherungsprozesse führen zu extrahierbaren PAK-Gehalten $< 0,1 \%$ (< 1000 ppm) [46, 48].

Hochtechnisches Carbon Black darf nicht verwechselt werden mit Ruß, der aus der unvollständigen Verbrennung von kohlenstoffhaltigen Materialien wie Papier, Kohle, Gummi, Kunststoffen oder anderen Abfällen erhalten wird. Dieser Ruß enthält noch eine große Menge an mit Dichlormethan oder Toluol extrahierbaren Substanzen und kann einen Aschegehalt von bis zu 50 % aufweisen [46]. Wird dieser Ruß aus unkontrollierten Verbrennungsprozessen von nicht geeigneten Rohmaterialien bei

der Herstellung der diversen Produkte eingesetzt, erfolgt ein Eintrag von den darin enthaltenen PAK als Kontaminanten in unbekanntem Ausmaß [35, 36].

Die IARC hat Carbon Black aufgrund diverser Studien als 2B (möglicherweise krebserzeugend beim Menschen) klassifiziert [49 – 52].

1.3 Rechtlicher Rahmen

Im Rahmen dieser Arbeit wurden diverse Bedarfsgegenstände und Verbraucherprodukte untersucht.

Gemäß den Begriffsbestimmungen nach § 2 (6) LFGB werden Bedarfsgegenstände unter anderem als bestimmungsgemäße, aktive und intelligente Lebensmittelkontaktmaterialien, Gegenstände in Berührung mit der Mundschleimhaut, Gegenstände für die Körperpflege, Spielwaren, Scherzartikel und Materialien mit längerem Kontakt mit dem menschlichen Körper definiert [1, 53].

Auch Verpackungsmaterialien in Kontakt mit kosmetischen Mitteln, Reinigungs- und Pflegemittel für den häuslichen Bedarf, Imprägnierungsmittel und sonstige Ausrüstungsmittel im häuslichen Gebrauch, sowie Mittel und Gegenstände zur Geruchsverbesserung in Räumen zum menschlichen Aufenthalt zählen zu den Bedarfsgegenständen [1], wurden aber für die vorliegende Arbeit nicht weiter betrachtet.

Diverse Beschränkungen für den Gehalt einiger Verbindungen aus der Gruppe der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe oder auch für deren Summe gibt es z.B. für Trinkwasser [54], Abwasser [55], Luft [56] und Lebensmittel [57]. Für Bedarfsgegenstände gelten bislang keine konkreten, bindenden Höchstmengenbeschränkungen.

Gemäß § 30 Nr. 1 und Nr. 2 LFGB ist es verboten, diese Materialien „für andere derart herzustellen oder zu behandeln, dass sie bei bestimmungsgemäßem oder vorauszusehendem Gebrauch geeignet sind, die Gesundheit durch ihre stoffliche Zusammensetzung, insbesondere durch toxikologisch wirksame Stoffe oder durch Verunreinigungen, zu schädigen“ und „Gegenstände oder Mittel, die bei bestimmungsgemäßem oder vorauszusehendem Gebrauch geeignet sind, die Gesundheit durch ihre stoffliche Zusammensetzung, insbesondere durch

toxikologisch wirksame Stoffe oder durch Verunreinigungen, zu schädigen, als Bedarfsgegenstände in den Verkehr zu bringen“ [1].

Für Verbraucherprodukte und Arbeitsmittel, die nicht unter die Begriffsbestimmungen des § 2 (6) LFGB fallen, konnte vor dem 8. November 2011 das Gesetz über technische Arbeitsmittel und Verbraucherprodukte (GPSG) [58] herangezogen werden, das auch die Vergabe des GS-Zeichens (GS = geprüfte Sicherheit) regelte. Nach § 4 (1) GPSG mussten die unter dem Gesetz erfassten Produkte die vorgesehenen Anforderungen an Sicherheit und Gesundheit erfüllen und durften die Gesundheit von Verwendern oder Dritten bei bestimmungsgemäßer Verwendung oder vorhersehbarer Fehlanwendung nicht gefährden, wenn sie in den Verkehr gebracht wurden [58]. Das GPSG wurde nunmehr durch das Produktsicherheitsgesetz (ProdSG) abgelöst [59].

Für Spielzeug gelten ebenfalls Einschränkungen nach der Verordnung für Spielzeug (Spielzeugverordnung 2011) [60]. Gemäß den allgemeinen Grundsätzen nach § 3 (1) Spielzeugverordnung darf bei dessen bestimmungsgemäßer oder vorhersehbarer Verwendung und unter Berücksichtigung des Verhaltens von Kindern, die Sicherheit oder Gesundheit der Benutzer oder Dritter nicht gefährdet werden. Dies gilt einschließlich der im Spielzeug enthaltenen chemischen Stoffe [60].

Auch wenn es bislang noch keine konkreten und verbindlichen Grenzwerte für PAK in Bedarfsgegenständen und Verbraucherprodukten gibt, bestehen dennoch einige Einschränkungen für Substanzen, die für die Herstellung jener Produkte verwendet werden.

So darf z.B. gemäß der Verordnung (EU) Nr. 10/2011 der Kommission über Materialien und Gegenstände aus Kunststoff (VO (EU) 10/2011), die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen, „Kohlenstoffschwarz“ bis zu maximal 2,5 Gewichtsprozent den Polymeren zugesetzt werden. Als Spezifikation wird dabei ein Gehalt von max. 0,25 mg Benzo[a]pyren je kg „Kohlenstoffschwarz“ angegeben [61].

Gemäß der Definition für einen Kunststoff nach VO (EU) 10/2011 sind Materialien u.a. aus Gummi von den Regelungen ausgenommen. Für Materialien auf Basis von Natur- und Synthetikgummi können die Empfehlungen des Bundesinstituts für Risikobewertung (BfR) herangezogen werden. Mehrere Empfehlungen schränken die Verwendung von Ruß ein und nennen Spezifikationen. In Tabelle 4 werden einige dieser Empfehlungen tabellarisch aufgelistet. Die in der jeweiligen Empfehlung

genannte Spezifikation ist für alle gleich und bezieht sich auf eine Mitteilung aus dem Bundesgesundheitsblatt aus dem Jahr 1972 [62]. Es werden darin jedoch keine spezifischen Grenzwerte für PAK genannt.

Empfehlung	Spezifikation	Beschränkung
BfR Empfehlung LII. für Füllstoffe [63]	82. Mitteilung zur Untersuchung von Kunststoffen [Bundesgesundhbl. 15 (1972) 268] [62]	<ul style="list-style-type: none"> • mit Toluol extrahierbarer Anteil darf 0,15 % nicht überschreiten • Extinktion des Filtrates einer Aufschlämmung von 1,0 g Ruß in 100 mL Cyclohexan darf nach 24stündigem Stehen bei Raumtemperatur in einer 5 cm Küvette (bei 386 nm gemessen) 0,1 nicht überschreiten
BfR Empfehlung IX. für Farbmittel zum Einfärben von Kunststoffen und anderen Polymeren für Bedarfsgegenstände [64]		
BfR Empfehlung XXI. für Bedarfsgegenstände auf Basis von Natur- und Synthetikgummi [65]		

Tabelle 4: Spezifikationen für Ruß in diversen Empfehlungen des BfR

Der Einsatz von Weichmacherölen auf Basis von Mineral- oder Erdöl unterliegt bislang nur den in der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH) genannten Spezifikationen [66]. Erfasst werden insgesamt 8 der polzyklischen Verbindungen in Weichmacherölen für die Herstellung von Reifen: Benzo[a]pyren, Benzo[e]pyren, Benzo[a]anthracen, Chrysen, Benzo[b]fluoranthren, Benzo[j]fluoranthren, Benzo[k]fluoranthren und Dibenzo[a,h]anthracen. Seit dem 1. Januar 2010 darf der Gehalt an Benzo[a]pyren in diesen Weichmacherölen 1 mg/kg, und die Summe der acht genannten Verbindungen 10 mg/kg nicht überschreiten [66].

Im Juni 2010 hat die Bundesrepublik Deutschland der Europäischen Kommission ein Beschränkungsossier übergeben, mit der Empfehlung, den Gehalt an PAK in Verbraucherprodukten auf maximal 0,2 mg/kg zu beschränken und ein beschleunigtes Verfahren einzuleiten [67 – 70].

1.4 Auswirkungen und zeitliche Entwicklung

1.4.1 PAK-Höchstgehalte

Nach der wiederholten Berichterstattung über erhöhte PAK-Gehalte in diversen Verbraucherprodukten wurde eine Ad-hoc-Arbeitsgruppe des BfR gegründet, zu der mehrere Mitglieder aus Industrie, Forschung und auch der einzelnen regulativen Bereiche angehören. Im Rahmen der Sitzungen wurden die Ursachen für das Vorkommen der Verbindungen in den einzelnen Matrices, deren Minimierungsmöglichkeiten und deren Analytik für eine übergreifende, vergleichbare Methode festgelegt [35, 36].

Seit dem Beschluss des Ausschusses für technische Arbeitsmittel und Verbraucherprodukte (AtAV) am 27.11.2007 ist der Einbezug der Prüfung auf PAK im Rahmen der GS-Zeichenvergabe verbindlich. Die Prüfung wurde davor auf freiwilliger Basis durchgeführt [71].

Nachfolgend sind in Tabelle 5 die für diese Arbeit betrachteten, empfohlenen PAK-Höchstgehalte für Materialien, die auf Grund der Ergebnisse der Gefährdungsbeurteilung zu kategorisieren sind, aufgeführt [71]:

Parameter	Kategorie 1	Kategorie 2	Kategorie 3
	Materialien, die dazu bestimmt sind, in den Mund genommen zu werden, oder Materialien von Spielzeug für Kinder < 36 Monaten mit bestimmungsgemäßigem Hautkontakt	Materialien, die nicht in Kat. 1 fallen, mit vorhersehbarem Hautkontakt länger als 30 s (längerfristiger Hautkontakt)	Materialien, die nicht in Kat. 1 oder 2 fallen, mit vorhersehbarem Hautkontakt bis zu 30 s (kurzfristiger Hautkontakt)
Benzo[a]pyren [mg/kg]	nicht nachweisbar (< 0,2)	1	20
Σ 16 EPA-PAK [mg/kg]	nicht nachweisbar (< 0,2)	10	200

Tabelle 5: Empfohlene PAK-Höchstgehalte [71]

1.4.2 Untersuchungsergebnisse

Der TÜV Rheinland, die Stiftung Warentest, Öko-Test und die Untersuchungsämter der Länder haben über die Jahre immer wieder neue Untersuchungsergebnisse über den Gehalt an PAK in Verbraucherprodukten und Bedarfsgegenständen publiziert. Für das eingereichte Beschränkungsossier der Bundesrepublik wurden Ergebnisse von ca. 5300 Produktanalysen durch die einzelnen Einrichtungen ausgewertet. Die Analysenergebnisse wurden in einem Zeitraum zwischen 2006 – 2009 gesammelt. Für die Diskussion wurden insgesamt acht Produktgruppen formuliert (elektrische Geräte, Griffe, Sportausrüstungen und Verbraucherprodukte mit Hautkontaktflächen, Spielzeug, Materialien und Produkte mit Körper- und Hautkontakt, Reifen und Rollen, sonstige Produkte) [67, 69].

Zusammengefasst war Benzo[a]pyren in 91,9 % und die Summe der EPA-PAK bei einem Anteil von 22 % der untersuchten Produkte nicht nachweisbar. Ermittelte Gehalte an Benzo[a]pyren lagen zwischen 65,9 mg/kg für ein Spielzeug bis hin zu 1200 mg/kg in einem Produkt aus der Kategorie der Reifen und Rollen. Die Summe der 16 EPA-PAK lag zwischen 1503 mg/kg in einem Material im engen Körperkontakt und 25400 mg/kg für ein Produkt aus der Reifen- und Rollenkategorie [67, 69].

Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigen, dass grundsätzlich eine Einhaltung geringer Gehalte an PAK durch Auswahl geeigneter Rohmaterialien möglich ist und somit dem ALARA-Prinzip (englisch: As Low As Reasonably Achievable, deutsch = so niedrig wie vernünftigerweise erreichbar) entsprochen wird. Die erhöhten Gehalte weisen aber auch darauf hin, dass diese Rohstoffe nicht von allen Herstellern verwendet werden und somit zum Schutz für den Verbraucher eine Festlegung von Grenzwerten für die schädigenden Verbindungen erfolgen muss.

1.4.3 Methode ZEK 01.2-08 des zentralen Erfahrungsaustauschkreises

Mit dem Dokument ZEK 01.2-08: „Prüfung und Bewertung von Polycyclischen Aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) bei der GS-Zeichen-Zuerkennung“ [71] wurden die Anforderungen und Höchstmengen sowie eine Prüfmethode für die Bewertung durch GS-Stellen von der Zentralstelle der Länder für Sicherheitstechnik

harmonisiert. Diese dritte überarbeitete Version (ZEK 01.2-08) wurde am 03.12.2008 veröffentlicht und stellt die Grundlage für den Bezug in der vorliegenden Arbeit dar.*

Das Dokument gilt für alle Materialien, die unter das Geräte- und Produktsicherheits-Gesetz (GPSG) fallen; ausgenommen sind jedoch Produkte, denen andere Rechtsgrundlagen zugeordnet werden können [71].

Die harmonisierte Methode beschreibt ein gaschromatographisches Verfahren zur Bestimmung von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) in Kunststoffproben nach Extraktion mit Toluol und einer gegebenenfalls vorzunehmenden Aufreinigung.

Die für die Prüfung zu untersuchende Probe wird mittels diverser Handwerkzeuge wie Zange, Schere etc. in Partikel mit einer Größe von maximal 2 – 3 mm zerkleinert. Die Ausbeute für die Einwaage sollte mindestens 500 mg betragen. Sollten mehrere Teile aus demselben Material vorliegen, dürfen die einzelnen Teilmengen vereinigt werden. Beträgt die Ausbeute zwischen 50 – 500 mg, wird das Toluolvolumen für die Extraktion proportional umgerechnet. Probenmengen unter 50 mg werden nicht untersucht [71].

Die Probenextraktion wird in Bördelgläsern vorgenommen, die ins Ultraschallbad hineingestellt oder -gehangen werden. Ein Korb soll nicht verwendet werden [71].

Die Auswertung der 16 EPA-PAK erfolgt unter Bezugnahme auf mindestens drei ausgewählte deuterierte PAK als interne Standards (IS), die bereits dem Extraktionslösemittel hinzugefügt wurden, über die einzelnen Hauptmassen der Analyten (englisch: single ion monitoring, SIM) [71].

Die Auswahl der internen Standards und deren Bezugnahme werden in der Methode vorgegeben und sind in der folgenden Tabelle 6 dargestellt [71]:

* Bis zum Zeitpunkt der Fertigstellung dieser Arbeit wurde die Methode erneut überarbeitet. Das momentan gültige Dokument ist die Version ZEK 01.4-08 vom 29. November 2011 [72, 73]. Es wurden die Analyten Benzo[e]pyren und Benzo[j]fluoranthen zu den 16 zu bestimmenden EPA-PAK hinzugefügt. Die Summengrenzwerte der PAK für die einzelnen Kategorien sind nun auf insgesamt 18 PAK zu beziehen. Die vorliegende Arbeit bezieht sich auf das zu der Zeit noch gültige Dokument ZEK 01.2-08.

PAK	Bezug zu internem Standard
Naphthalin	Naphthalin-D8
Acenaphthylen Acenaphthen Fluoren Phenanthren Anthracen Fluoranthen Pyren Benzo[a]anthracen Chrysen	Pyren-D10 oder Anthracen-D10 oder Phenanthren-D10
Benzo[b]fluoranthen Benzo[k]fluoranthen Benzo[a]pyren Indeno[1,2,3-c,d]pyren Dibenzo[a,h]anthracen Benzo[g,h,i]perylen	Benzo[a]pyren-D12 oder Perylen-D12 oder Triphenylbenzol

Tabelle 6: Vorgegebene Auswahl und Bezugnahme der internen Standards [71]

Das in Abbildung 2 folgende Fließschema beschreibt zusammenfassend den Vorgang für die Bestimmung gemäß ZEK 01.2-08 [71]:

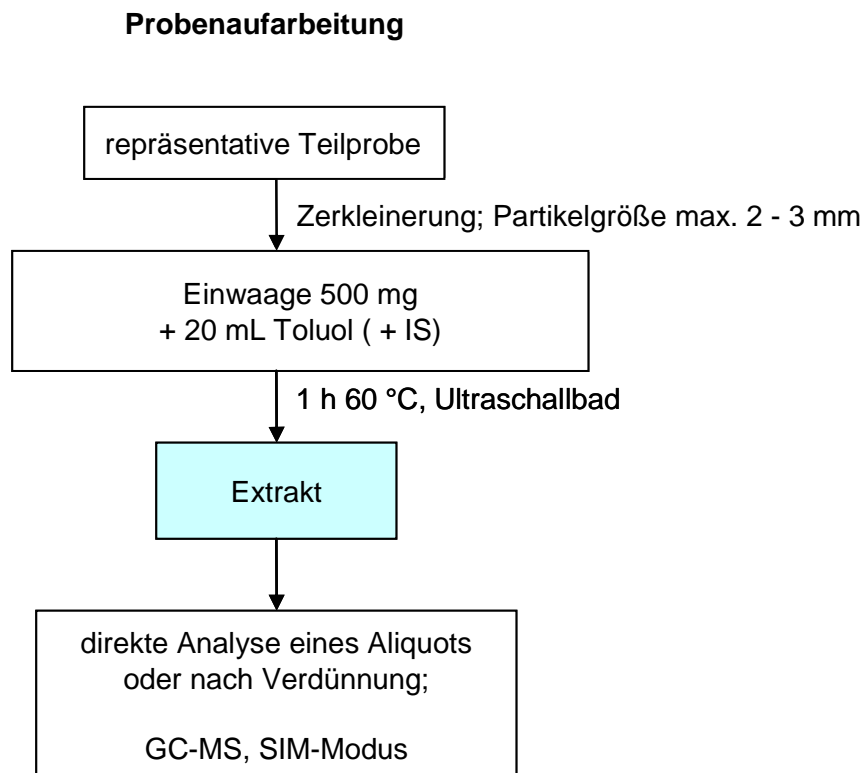


Abbildung 2: Fließschema für die Probenvorbereitung gemäß ZEK 01.2-08 [71]

Besonders bei Kunststoff- bzw. Gummiprodukten, die sich bei der Extraktion mit Toluol vollständig auflösen, sollte eine Aufreinigung vor der Analyse erfolgen. Nachfolgendes Fließschema in Abbildung 3 beschreibt die Vorgehensweise für dieses clean-up nach Abkühlen des Probenextraktes auf Raumtemperatur [71]:

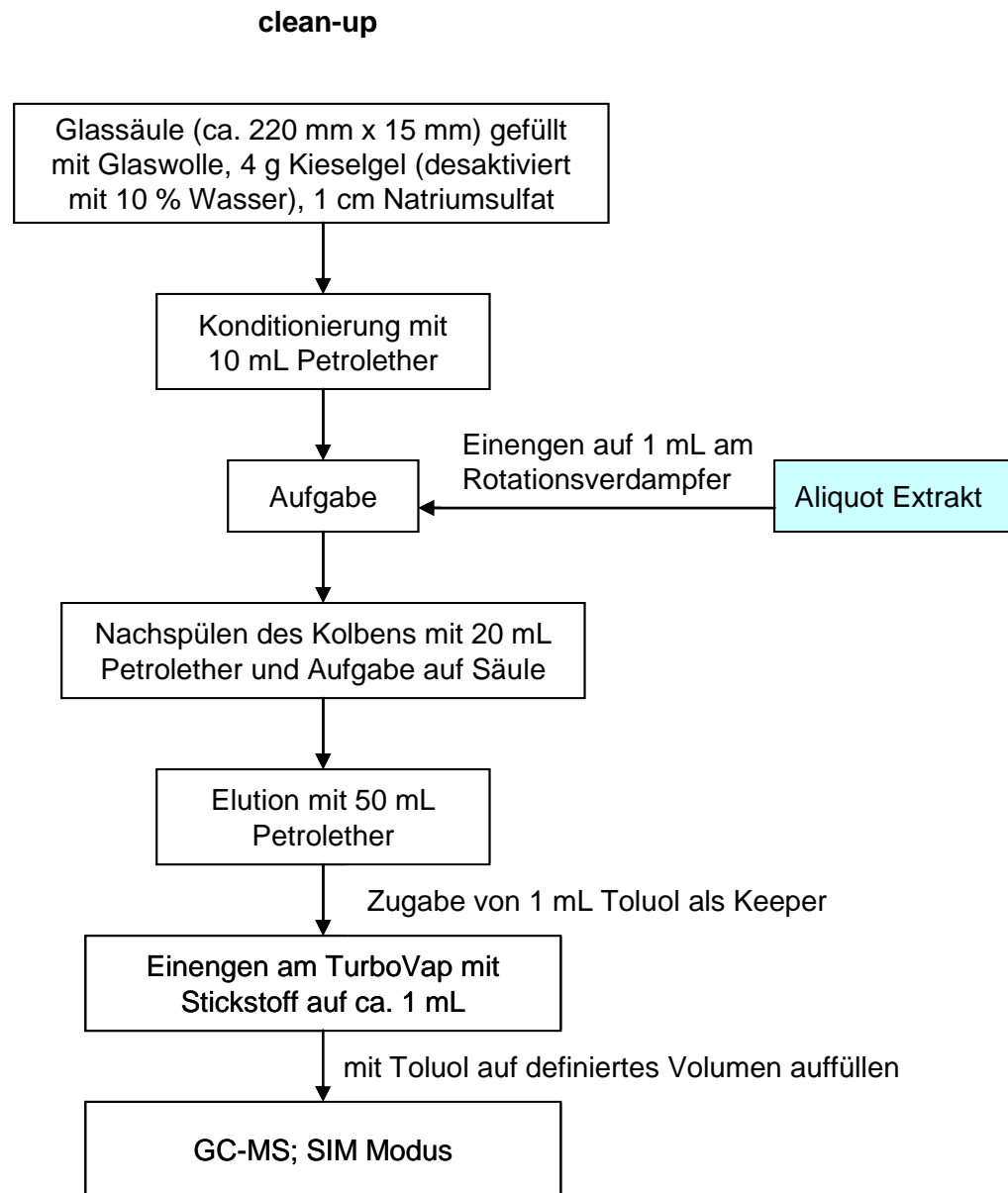


Abbildung 3: Fließschema für das clean-up gemäß ZEK 01.2-08 [71]

Die Kalibrierung mit den Kalibrierlösungen soll mit einer 3-Punktkalibrierung einen Arbeitsbereich von 2,5 ng/mL bis 250 ng/mL abdecken. Bezogen auf die Aufarbeitung sollte dies einem Gehalt in den Proben von 0,1 mg/kg bis 10 mg/kg entsprechen. Sollten die ermittelten Gehalte außerhalb der Kalibrierreihe liegen, kann der Extrakt nach Verdünnung analysiert werden. Die Bestimmungsgrenze des Verfahrens liegt, bezogen auf den Kunststoff, bei 0,2 mg/kg für jede einzelne der Verbindungen [71].

Auf die besondere Bewertung von Naphthalin mit einer relativen Flüchtigkeit wird hingewiesen. Es sind Verflüchtigungen aus den Materialien und auch Kreuzkontaminationen von Naphthalin bekannt [71].

Informativ wird im Anhang des Dokumentes auf mögliche gaschromatographische Messbedingungen hingewiesen, die in nachfolgender Tabelle 7 zusammengefasst werden [71]:

Parameter	Auswahl
Injektionsvolumen	1 μ L
Injektion	pulsed splitless
Säule	HT8 25 m x 0,22 mm ID x 0,25 μ m d_f
Injektortemperatur	280 °C
Transferlinietemperatur	260 °C
Temperaturprogramm Ofen	50 °C – 2 min 11 °/min – 320 °C 320 °C – 8 min

Tabelle 7: Gaschromatographische Messbedingungen gemäß ZEK 01.2-08 [71]

1.5 Gaschromatographie

Der Begriff „Chromatographie“ umfasst eine Vielzahl von analytischen Trennmethoden. Allen gemeinsam ist dabei die Auftrennung eines Stoffgemisches in seine Einzelsubstanzen aufgrund ihrer Verteilung zwischen einer stationären und einer mobilen Phase [74 – 76].

Im Bereich der Umweltanalytik ergeben sich eine Vielzahl an Untersuchungsmethoden und auch eine Vielzahl an Matrices, in denen die polyzyklischen aromatischen Substanzen den verschiedensten Regelungen unterliegen. Neben den diversen Wassermatrices werden hier auch Boden-, Öl- und Lebensmittelmatrices auf Ihren Gehalt an den aromatischen Verbindungen untersucht [54 – 57].

Durch die Vielzahl an unterschiedlichen Matrices, wie Lebensmittel, Umweltmaterialien und Polymere, ist die Analyse der teilweise als kanzerogen eingestuft Substanzen nicht immer einfach. In den letzten Jahren wurden die unterschiedlichsten instrumentellen Analysemöglichkeiten zur Analytik von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen vorgestellt. In den meisten Fällen wird dabei die Untersuchung mittels Gaschromatographie nach entsprechender Probenvorbereitung herangezogen [77].

In der Gaschromatographie (GC) werden als stationäre Phasen auf die Innenseite z.B. einer Kapillarsäule aufgebrachte dünne und divers modifizierte Polymerfilme verwendet. Als mobile Phase dienen inerte Gase wie Helium oder Stickstoff, sowie in einer gesonderten Stellung auch Wasserstoff, die die zu analysierenden unpolaren bis mittelpolaren Substanzen nach deren Überführung in die Dampfphase durch die temperierbare Kapillarsäule tragen. Nicht flüchtige oder sich bei Verflüchtigung zersetzende Verbindungen können je nach chemischer Natur, mittels Derivatisierung in flüchtige, stabile Verbindungen überführt und somit gaschromatographisch bestimmbar gemacht werden. Die im Idealfall Basislinien getrennten Substanzen können nach Elution von der Säule mit Hilfe diverser Detektoren registriert, mittels spezifischer Software dargestellt und hinsichtlich unterschiedlicher Aspekte, wie Retentionszeit, Signalfäche oder Signalhöhe, ausgewertet werden [74 – 76].

1.5.1 Eindimensionale Gaschromatographie

Seitdem im Jahr 1941 von Martin und Synge [78] die Möglichkeit der Gas-Flüssigkeits-Chromatographie (GLC) im Biochemical Journal beschrieben wurde und seit der Veröffentlichung der Ergebnisse einer ersten gaschromatographischen Trennung von flüchtigen, niederen Fettsäuren durch James und Martin 1952 [79], hat sich die Gaschromatographie stetig weiterentwickelt [80].

Bereits 1958 wurde durch Golay [81] von den ersten Kapillarsäulen berichtet und 1979 setzten Dandeneau und Zerener Quarzkapillarsäulen für gaschromatographische Messungen ein [82 – 84].

In der heutigen modernen, überwiegend als GLC ausgeführten Gaschromatographie, werden diese fused-silica-Kapillaren in Dimensionen von 10 – 60 m Länge und einem Innendurchmesser von 0,1 – 0,53 mm mit einer unpolaren stationären

Polysiloxan-Phase mit organischen Seitengruppen (wie z.B. Dimethylseitenketten) für die Analytik von aromatischen Verbindungen und gesättigten Kohlenwasserstoffen eingesetzt [74 – 76].

Je nach zu untersuchender Substanz und eingesetzter stationärer Phase finden während des Transportes unterschiedliche Wechselwirkungsprozesse, induziert durch London-, Kessan-, Debeye- und chemischen Bindungskräften, statt. Mit zunehmender Summe aller Kräfte nimmt auch die Retentionszeit des betreffenden Analyten in der Kapillarsäule zu [74 – 76].

Ein typischer Aufbau der eindimensionalen Gaschromatographie ist in Abbildung 4 dargestellt [anlehnend an 75]:

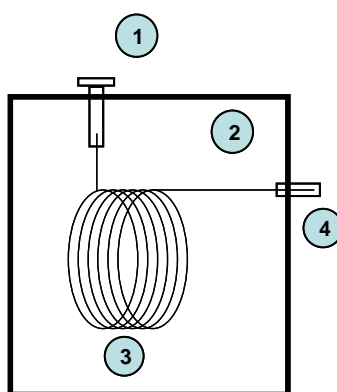


Abbildung 4: Schematische Darstellung der eindimensionalen Gaschromatographie [anlehnend an 75]

- 1 Injektor
- 2 Säulenofen
- 3 Trennsäule
- 4 Detektor

In der Gaschromatographie wird die Trennleistung nicht nur über das mittels Van-Deemter-Gleichung dargestellte Trennstufenmodell beschrieben, sondern auch über den Dampfdruck der Analyten und deren Grad der Wechselwirkung mit der eingesetzten stationären Phase, was über die Herrington-Gleichung wiedergegeben wird. Aus ihr geht hervor, dass das Verhältnis der Retentionszeiten zweier Analyten proportional zu deren Dampfdrücken und den Aktivitätskoeffizienten ist. Zwei Analyten weisen nur unterschiedliche Retentionszeiten auf, werden also

gaschromatographisch getrennt, wenn sie sich in ihren Dampfdrücken und/oder in ihren Aktivitätskoeffizienten unterscheiden [74 – 76].

Durch die nur geringen Trägergasflüsse in Kapillarsäulen ist eine direkte Kopplung mit einem Massenspektrometer möglich, da das Aufrechterhalten des Hochvakuums im massenspektrometrischen Detektor durch die kleine Flussmenge nicht beeinflusst wird. Durch Einsatz von MS-Detektoren wurde die Identifizierungs- und Strukturanalyse unbekannter Verbindungen in den unterschiedlichsten Gemischen deutlich verbessert [74 – 76].

Allerdings ist bei komplexen Matrices auch durch optimierte Auswahl aller Analysenparameter und Equipment nicht immer eine Trennung, insbesondere bei Verbindungen mit ähnlichen chemischen Eigenschaften, möglich.

1.5.2 Multidimensionale Gaschromatographie

Durch Kopplung zweier oder mehrerer Kapillarsäulen unterschiedlicher Belegung in Serie wird das gaschromatographische System als zwei- bzw. multidimensional (GC-GC bzw. MDGC) bezeichnet [75]. Durch Ausschneiden interessanter Teilbereiche eines Chromatogrammes aus der eindimensionalen Analyse eines komplexen Gemisches und Überführen dieser Fraktion nach Fokussierung auf die zweite Säule wird ein zweifacher Informationssatz für die betreffenden Verbindungen erhalten. Die Identifizierung dieser Verbindungen in komplexen Gemischen wird somit vereinfacht [75]. Dieses beschriebene „Heart-cutting“ wurde zuerst 1968 durch Deans [85] unter Verwendung von regulierbaren Gasflüssen, anstatt der bis dato verwendeten mechanischen Ventilschaltungen, beschrieben.

Der Geräteaufbau ist gegenüber der eindimensionalen Gaschromatographie deutlich erweitert (s. Abb. 5). Es wird mit mehreren Detektoren gearbeitet, einem für das Monitoring der Trennung auf der ersten Trennkapillare (¹D, 30 – 60 m lang) und einem für die Erfassung der Eluenten von der zweiten Säule (²D, meist etwas kürzer als die Erste, z.B. 10 – 20 m lang) [75, 86, 87]. Durch Einsatz einer vor der zweiten Trennkapillare vorgeschalteten Kühlfalle wird durch Fokussierung der eluierenden Banden aus der ersten Säule das Signal-Rausch-Verhältnis und die Signalintensität deutlich verbessert [86 – 90].

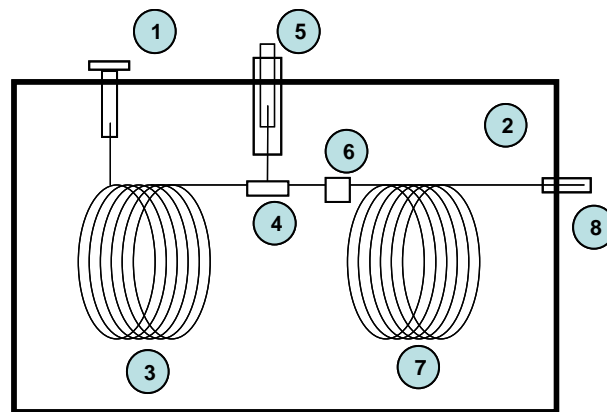


Abbildung 5: Schematische Darstellung der zweidimensionalen Gaschromatographie [anlehnend an 75]

- 1 Injektor
- 2 Säulenofen
- 3 Trennsäule ¹D
- 4 Heart-cutting-Interface
- 5 Monitordetektor
- 6 Kryofalle
- 7 Trennsäule ²D
- 8 Detektor

Mit Hilfe dieser Serienschaltung wird die Trennleistung eines gaschromatographischen Systems verbessert, wobei sich die maximale theoretische Peakkapazität n_c der Kopplung aus der Addition der Kapazitäten der ersten (1n_c) und zweiten Trennsäule (2n_c) ergibt (Gleichung 1) [90, anlehnend an die Nomenklatur nach 91 und 92]:

$$(1) \quad n_c = {}^1n_c + {}^2n_c$$

Nachteilig wirkt sich allerdings der erhöhte Zeitaufwand aus. Für eine Analyse eines komplexen Gemisches beim Heart-cutting müssen zunächst die Retentionszeiten der interessierenden Substanzen identifiziert werden, bevor eine Umleitung dieser Bande festgelegt werden kann. Anschließend kommt noch additiv die Analysenzeit auf der zweiten Säule hinzu. Da mittels Heart-cutting auch nur einzelne, separate Bereiche untersucht werden können, ist eine komplette Analyse des gesamten Laufes nicht zu

bewerkstelligen bzw. beansprucht viel Zeit. Weiterhin ist durch den doppelten Informationssatz die Auswertung deutlich anspruchsvoller und ebenfalls zeitaufwendig. Demnach ist diese Technik gut geeignet hinsichtlich der Untersuchung einzelner Komponenten in komplexen Matrices, für die die Trennleistung eindimensionaler gaschromatographischer Systeme nicht ausreicht. Sie ist allerdings nicht anwendbar auf hoch komplexe Mischungen, in denen mehrere Verbindungen untersucht werden sollen. Auch kann eine mögliche Antrennung in der 1D , selbst ohne Kryofokussierung, in der 2D nicht zwangsläufig aufrechterhalten werden [86].

1.5.3 Comprehensive zweidimensionale Gaschromatographie

Durch verbesserte Detektionsmethoden, gesteigerte Trennkapazitäten der Kapillarsäulen und deren verbesserte Belegung hat sich besonders in der Lebensmittel-, Aroma-, Umweltproben- und petrochemischen Analyse gezeigt, dass viele Gemische noch komplexer sind als zuvor gedacht [93 – 96].

In den letzten 20 Jahren erfolgten weitere Entwicklungen im Bereich der Kopplungsmethoden. Dabei entstanden Systeme, die eine vollständige Analyse eines gesamten komplexen Gemisches in einem Lauf mit kurzen Analysenzeiten gewährleisten. Zuerst vorgestellt wurde diese so genannte comprehensive zweidimensionale Gaschromatographie (GCxGC) von Liu und Phillips im Jahre 1991 [97].

1.5.3.1 Geräteaufbau

Die erste Trennsäule (1D) in der GCxGC ist üblicherweise 15 – 30 m lang, mit einem Innendurchmesser (1d_c) von 0,25 – 0,53 mm und einer unpolaren stationären Phase mit einer Filmdicke (1d_f) von 0,1 – 1 μm . Die zweiten Säulen (2D) sind deutlich kürzer, nur 1 – 2 m lang mit 0,1 mm 2d_c und 0,1 – 0,25 μm 2d_f . Sie werden meist mit einer deutlich polareren stationären Phase gewählt [75, 86, 87, 91, 92].

Gegenüber der GC-GC bzw. MDGC ist mit der comprehensive zweidimensionalen Technik keine allzu große Laufzeitverlängerung zu erwarten, da die Analysenzeit in der ²D nur 3 – 10 s beträgt [75, 86, 87].

Der schematische Aufbau eines GCxGC-Systems ist in Abbildung 6 dargestellt [anlehnend an 75]:

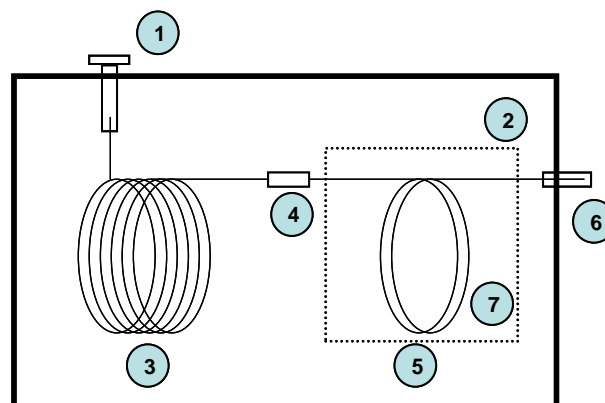


Abbildung 6: Schematische Darstellung der comprehensive zweidimensionalen Gaschromatographie (GCxGC) [anlehnend an 75]

- 1 Injektor
- 2 Säulenofen
- 3 Trennsäule ¹D
- 4 Modulator
- 5 Trennsäule ²D
- 6 Detektor
- 7 2. Säulenofen (optional)

1.5.3.2 Modulatoren

Der wichtigste Teil eines GCxGC-Systems ist der Modulator, das Interface zwischen den beiden Trennsäulen. Er ist verantwortlich für die Fraktionierung der aus der ersten Kapillarsäule eluierenden Banden, deren Fokussierung und separaten Injektion in die zweite Trennsäule, wobei die Trennung aus der ¹D erhalten bleibt [90, 98 – 103].

In den letzten 20 Jahren wurden stetig neue Modulatoren entwickelt, wobei man diese unterschiedlichen Modelle in Abhängigkeit ihrer Arbeitsweise in vier Kategorien einteilen kann: Thermo-, Ventil-, Fluss- oder Kryo-Modulatoren [101, 103].

Aus Phillips erstem elektrisch geheizten Einstufen- (später auch Zweistufen-) Thermodesorptions-Modulator [101, 103] ging nach einiger Überarbeitung mit Hilfe von Ledford der bekannteste, rotierende Thermo-Modulator, der Thermo-sweeper, hervor [101, 103]. Der Betrieb dieses Modulators basiert auf mechanischen Bewegungen, ist somit wartungsintensiver und anfälliger für Fehler [101, 103].

Auch Ventil-Modulatoren arbeiten rein mechanisch, zeigten zunächst aber das Problem, dass nicht der komplette Eluent aus der ¹D auf die zweite Trennsäule überführt wird. Für eine verlustfreie Überführung wird ein etwas erweiterter System-Aufbau benötigt [100].

Fluss-Modulatoren wurden in den letzten Jahren verstärkt untersucht; diese Art von Modulatoren arbeitet ohne Kryo-Einsatz und Ventilen und ist somit nicht so anfällig für Dysfunktionen [101, 103].

Das *longitudinally modulated cryogenic system* (LMCS) von Mariott und Kinghorn [101, 103] war der erste Kryo-Modulator. Dabei wird die eluierende Fraktion aus der ¹D bei einer deutlich geringeren Temperatur als die des Säulenofens fokussiert. Die Kühlung erfolgt durch Expansion von flüssigem Kohlendioxid. Die Remobilisierung erfolgt beim LMCS durch die wandernde Kühlschlitzenstellung auf einem Übergangsstück zwischen den Dimensionen. Die moderneren Kryo-Modulatoren arbeiten mittlerweile mit flüssigem und gasförmigem Stickstoff in kühlenden 2- oder 4-Jet-Modulatoren, die auch in der vorliegenden Arbeit verwendet wurden [101, 103]. Ein für diese Arbeit verwendetes System (Firma Shimadzu) stellt eine Kopplung eines GCxGC-Systems mit nur einem Heizofen, in dem beide Dimensionen eingebracht sind, mit einem Quadrupol-MS dar. Die Modulation erfolgt mittels 2-Jet-Modulator in einer so genannten „cooled-loop“-Anordnung (deutsch: gekühlte Schleife). Der cold-Jet (deutsch: Kühldüse) und der hot-Jet (deutsch: Heizdüse) stehen bei diesem System in einem 90°-Winkel zueinander. Der cold-Jet wird durchgehend betrieben, während der hot-Jet gepulst eingesetzt wird und den cold-Jet kurzzeitig verdrängt. Die fokussierten Analyten werden durch diese Erwärmung wieder remobilisiert und in die ²D überführt. Durch eine überlappende Anordnung der in Schleife gelegten zweiten Trennkapillare bilden sich zwei Teilbereiche, die durch

die senkrechte Anordnung der Düsen wie ein 4-Jet-Modulator wirken. Es bilden sich quasi zwei Kühlpunkte, obwohl nur eine Kühldüse betrieben wird [104].

Die nachfolgenden Abbildungen 7 a bis 7 c zeigen den Aufbau für den Modulator im Shimadzu-System [104]:

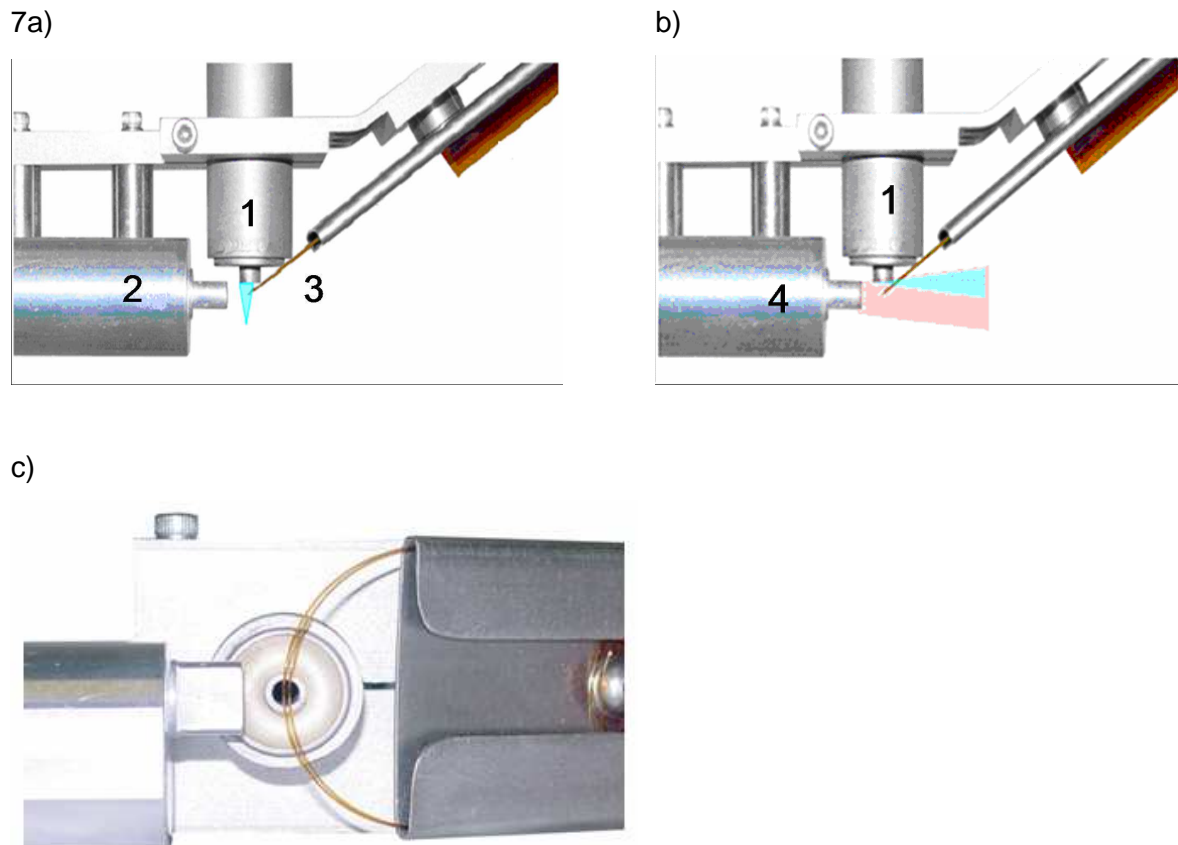


Abbildung 7: Loop Modulator der Firma ZOEX [104]

- a) Fokussierung
- b) Remobilisierung
- c) in Schleife gelegte Trennkapillare der ²D, Sicht von unten
- 1 cold-Jet, eingeschaltet
- 2 hot-Jet, ausgeschaltet
- 3 in Schleifen gelegte Trennkapillare der ²D
- 4 hot-Jet, eingeschaltet; Verdrängung des cold-Jets und Erwärmung der Trennkapillare der ²D zur Remobilisierung

Ein anderes System stellt die GCxGC-Kopplung der Firma LECO dar. Hierbei werden die beiden Dimensionen in zwei unabhängig steuerbaren Säulenöfen temperiert. Der verwendete Modulator ist ein 4-Jet-Modulator [105].

Sein Aufbau und das Modulationsprinzip werden in den nachfolgenden Abbildung 8 a und 8 b dargestellt:

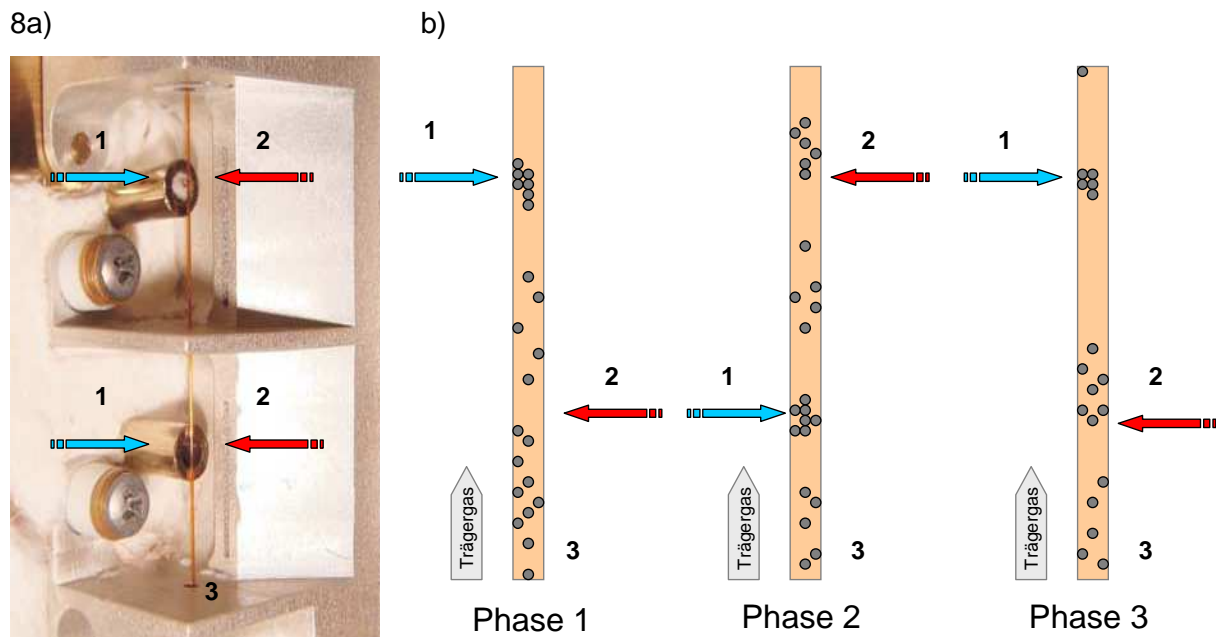


Abbildung 8: Quad-Jet-Modulator LN₂ der Firma LECO [105]

- a) **Einsicht in den Thermal-Modulator**
- b) **Ausschnitt einer Modulation in 3 Phasen**
 - 1 **cold-jet**
 - 2 **hot-jet**
 - 3 **Trennsäule ²D**

Die cold-Jets (1) und die hot-Jets (2) sind jeweils gegenüberliegend angeordnet. Das Kühlen bzw. das Erhitzen durch die vier Düsen erfolgt alternierend. In der ersten Phase werden die Analyten in einem bestimmten Bereich der Trennkapillare immobilisiert. Durch die Wechselschaltung erfolgt in der zweiten Phase die Remobilisierung dieser durch den gegenüber angeordneten hot-Jet. In der dritten Phase des Modulationszyklus erfolgt die Injektion in die ²D während gleichzeitig wiederholt die Immobilisierung später eluierender Analyten erfolgt.

Mit den Thermo- und Kryo-Modulatorarten wird durch die Fokussierung eine Sensitivitätssteigerung um einen Faktor 5 – 10 erreicht [96].

Eluierende Peaks aus der ersten Trennkapillare besitzen üblicherweise Peakbreiten zwischen 5 – 30 s. Der Modulator fokussiert diese und injiziert je Zyklus nur noch

schmale, zwischen 25 – 60 ms große Impulse auf die zweite Säule, bevor der Modulationszyklus wiederholt wird. Bei Peakbreiten von z.B. 15 s der ¹D und einem Modulationszyklus von 3 s ergeben sich je Peak 5 Fraktionen mit Einzelpeakbreiten von 200 – 600 ms [87].

1.5.3.3 Wrap-around

Wenn Verbindungen nicht während eines Modulationszyklus von der zweiten Trennkapillare eluieren, findet ein so genannter wrap-around [91, 92] statt, d.h. die betreffenden Substanzen erscheinen erst im nachfolgenden highspeed-Chromatogramm des folgenden Modulationszyklus. Dies geschieht, wenn die Verbindungen stark retardiert werden und somit die erste Fraktion die Säule noch nicht verlassen hat, bevor die nächste Fraktion injiziert wird. Man kann einem wrap-around durch einen zweiten separaten Säulenofen, der sich im Hauptsäulenofen befindet, entgegenwirken. Durch das separat steuerbare Aufheizen kann eine Elution stärker retardierender Substanzen beschleunigt werden. Auch die bei einem wrap-around zu beobachtenden Signalverbreiterungen und der damit verbundenen Verringerung der Peakkapazität kann so entgegengewirkt werden, sodass eine Identifizierung der Substanzen nicht erschwert wird [93].

Sollte ein wrap-around keinen Einfluss auf eine Co-Elution mit nachfolgenden Fraktionen haben, müssen keine weiteren Optimierungsschritte unternommen werden, da dadurch kein weiterer Nachteil entsteht.

1.5.3.4 Orthogonalität

Werden in einem GCxGC-System zwei Trennkapillaren unterschiedlicher Belegungen eingesetzt, finden bei der Trennung der Substanzen zwei voneinander mehr oder weniger unabhängige Wechselwirkungen mit der stationären Phase statt. Auf der unpolaren ersten Trennkapillare werden die Substanzen nach ihrem Dampfdruck getrennt. Auf der zweiten, etwas polarer belegten Trennsäule, erfolgt die Retention aufgrund der spezifischen Wechselwirkung mit der stationären Phase. Bei einer Modulationszeit zwischen 3 – 10 s und der langsamen Heizrate von nicht mehr

als 5 ° in der Minute, erfolgt die Trennung auf der zweiten Säule nahezu isotherm. Die Wechselwirkung der Analyten mit der stationären Phase wird somit von der Einwirkung der Temperatur entkoppelt. Man spricht dabei von der Orthogonalität des Systems und einer theoretisch effizienteren Auftrennung der Substanzen [90 – 92].

Durch die Entkopplung vom Einfluss der Dampfdrücke auf die Trennung können, bedingt durch die Wechselwirkung der Analyten mit der stationären Phase der zweiten Trennkapillare, in der zweidimensionalen Darstellung auch Substanzgruppen mit ähnlichen Strukturen als geordnete Banden oder Cluster identifiziert werden [96].

In einem orthogonalen System wird das chemische Rauschen gesenkt. Die theoretische Peakkapazität $n_{c,2D}$ für die comprehensive zweidimensionale Gaschromatographie wird gesteigert, da hier die einzelnen Peakkapazitäten der gewählten Trennsäulen (1n_c , 2n_c) gegenüber der multidimensionalen Gaschromatographie multipliziert werden können (Gleichung 2) [91, 92]:

$$(2) \quad n_{c,2D} = {}^1n_c \times {}^2n_c$$

1.5.3.5 Detektoren und Software

Durch die schnellen Analysezeiten und den typischen Peakbreiten von kleiner 200 – 600 ms in der 2D , stellt ein GCxGC-System gegenüber der eindimensionalen Gaschromatographie erhöhte Anforderungen an den zu verwendenden Detektor. Es wird ein Detektor mit kurzer Ansprechzeit und kleinem inneren Volumen benötigt, der die scharfen, nur sehr kurz eluierenden Banden nach der 2D detektiert. Neben dem Flammenionisationsdetektor (FID) werden auch Mikro-Elektronen-Einfang-Detektoren (μ ECD), Atomemissionsdetektoren (AED), Stickstoff- und Schwefel-Chemolumineszenz-Detektoren (NCD und SCD), Stickstoff-Phosphordetektoren und Massenspektrometer eingesetzt [100].

Für die Untersuchung von komplexen Matrices mit unbekanntem Verbindungen ist unabhängig vom System-Aufbau ein Massenspektrometer der Detektor der Wahl.

Für die comprehensive zweidimensionale Anwendung wird besonders das Flugzeitmassenspektrometer (englisch: time-of-flight mass spectrometre, TOF) aufgrund seiner hohen Datenaufnahme von mittlerweile 100 – 500 Massenspektren

je Sekunde bevorzugt. Es ist sehr selektiv, lässt eine verlässliche Deconvolution überlappender Peaks zu und ist in der Lage, einen weiten Massenbereich zu scannen [96, 100].

Neben einem geeigneten Detektor muss auch eine entsprechende Software zur Auswertung der einzelnen erzeugten highspeed-Chromatogramme gewählt werden. Üblicherweise werden die aufgenommenen Daten über diverse Algorithmen ausgewertet und als 2D-Plot, mittlerweile auch als 3D-Darstellung, angezeigt. Trotz der weiter entwickelten Datenverarbeitung birgt die Prozessierung und anschließende Auswertung den größten Zeitaufwand [100].

Nachfolgend wird in Abbildung 9 der Prozess der Auswertung [vereinfacht nach 87] dargestellt:

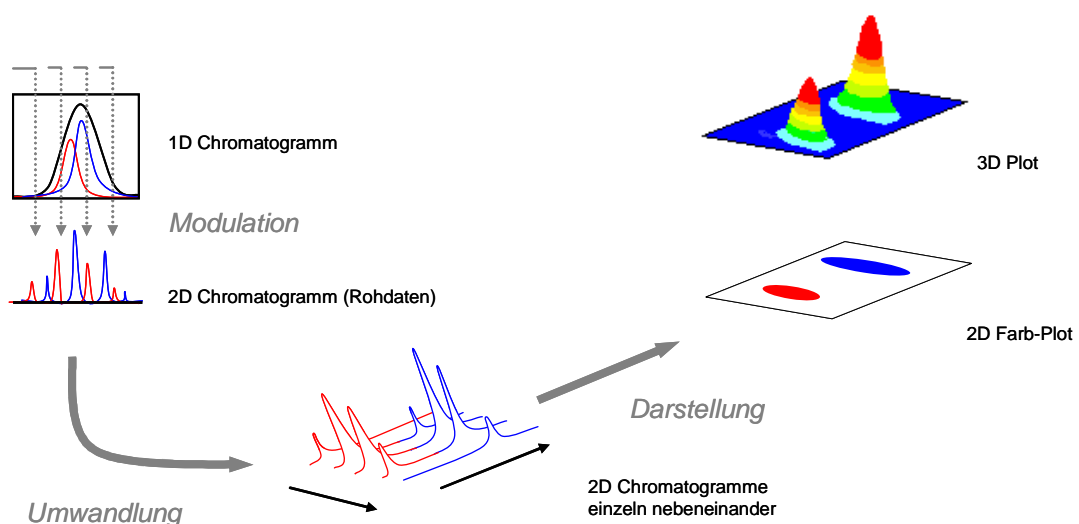


Abbildung 9: Datenverarbeitungsprinzip in der GCxGC [vereinfacht nach 87]

Die x-Achse der Chromatogramme stellt dabei die Retentionszeit der Analyten in der ¹D (¹t_R), die y-Achse die Retentionszeit in der ²D (²t_R) dar [91, 92]. In einem 3D-Chromatogramm werden die beiden Retentionszeiten noch um die Darstellung der Intensität entlang der z-Achse erweitert. Die Intensität wird dadurch über eine Farbskala wiedergegeben (hier im Beispiel in einem Bereich von blau als geringste Intensität bis nach rot für eine hohe Intensität).

2 Problemstellung und Zielsetzung

Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe können als Kontaminanten bei der Herstellung und Einfärbung von Kunststoffen und Gummi-Materialien durch verunreinigte Rohstoffe letztendlich in die Verbraucherprodukte, Bedarfsgegenstände und Spielzeuge eingetragen werden. Da eine Gesundheitsgefährdung durch einige der Substanzen erwiesen ist, sind – im Rahmen für eine GS-Zeichen Zuerkennung – Materialien im Kontakt mit der Haut und der Mundschleimhaut des Menschen auf deren Gehalte an PAK zu untersuchen. Für diese Untersuchung wurde zum Zeitpunkt der praktischen Arbeiten das Dokument ZEK 01.2-08 herangezogen, welches die Anforderungen und Höchstmengen, sowie eine Prüfmethodik für die Bewertung durch die GS-Stellen von der Zentralstelle der Länder für Sicherheitstechnik harmonisiert.

Für die Überprüfung der festgelegten Höchstmengen wird in dem Dokument die Bestimmungsmethode eingehend beschrieben. Dabei handelt es sich im Einzelnen um die Beschreibung der vorzunehmenden Materialauswahl, dessen Zerkleinerung und Extraktion. Proben mit komplexen Matrices, bei denen Interferenzen bei der Analyse beobachtet werden, können gemäß der in den Dokument erläuterten Aufreinigungsmethode für die gaschromatographische Analyse mit massenselektiver Detektion vorbereitet werden.

Diese vorgestellte Methodik soll in einem Routine-Labor eingeführt und validiert werden. Die einzelnen Schritte der Probenvorbereitung und Aufarbeitung sollen bei einem erhöhten Probenaufkommen hinsichtlich des Arbeitsaufwandes und einer Minimierung des Chemikalienverbrauchs optimiert und standardisiert werden.

Der Aspekt der Probenaufreinigung soll während der durchgeführten Arbeiten näher betrachtet werden, da die Methode die Analyse vieler Materialtypen mit sehr unterschiedlichen chemischen und physikalischen Eigenschaften umfasst. Die in der ZEK-Methode beschriebene Aufreinigung erfolgt über selbstgepackte Festphasensäulen. Eine Vielzahl von Methoden beschreiben bereits die Aufreinigung und Aufkonzentrierung von Analyten über industriell hergestellte Festphasen-Kartuschen. Deren Einsatz soll im Rahmen dieser Arbeit untersucht werden.

Durch die stetige Weiterentwicklung der instrumentellen Analytik soll die anzuwendende Methode dem aktuellen Stand der Technik angepasst werden.

Der Fokus in der vorliegenden Arbeit liegt dabei auf der Anwendung von multidimensionalen Kopplungsmethoden zur Trennleistungssteigerung und Aufklärung der komplexen Kunststoffextrakte. Mit zwei zur Verfügung stehenden GCxGC-MS-Systemen soll deren Eignung und Effizienz für die Analyse der 16 EPA-PAK in den komplexen Extrakten überprüft werden.

3 Ergebnisse und Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden Kunststoffe im Kontakt mit Lebensmitteln, mit der Haut und den Schleimhäuten des Menschen hinsichtlich ihres Gehaltes an polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen untersucht. Die zum Zeitpunkt der angefertigten Arbeit angewandte Methode zu deren Bestimmung war die so genannte ZEK 01.2-08-Methode, in der sowohl die Probenvorbereitung und die Aufarbeitung der Polymermaterialien, als auch die Bestimmung und die Auswertung der Analyten beschrieben werden.

Zu Beginn dieses Kapitels wird unter Bezugnahme dieser Methode die Einführung der einzelnen Untersuchungsparameter, deren Anwendung und Optimierung für den Gebrauch in einem Routine-Labor beschrieben. Die während der vorgenommenen Analysen für einige der diversen Matrices beobachteten Probleme werden im Anschluss näher erläutert und diskutiert.

Im zweiten Teil des Kapitels wird auf die Erweiterung der angewendeten instrumentellen Analytik zur Untersuchung der Materialprobenextrakte eingegangen. Als mögliches Analysensystem (im Sinne einer Optimierung der instrumentellen Parameter) wird die comprehensive zweidimensionale Gaschromatographie vorgestellt. Dabei wird deren Trennstärke mittels zweier unterschiedlicher, für diese Arbeit verwendeten Gerätesysteme näher erläutert. Die erhaltenen Untersuchungsergebnisse und Schlussfolgerungen werden zum Abschluss des zweiten Teiles diskutiert, bevor das Kapitel mit einem Ausblick geschlossen wird.

3.1 Eindimensionale Gaschromatographie

Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe werden sowohl mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (z.B. in Matrices wie Trinkwasser oder Eluaten diverser Lebensmittelproben) als auch gaschromatographisch (z.B. in Boden- oder Abfallproben) bestimmt [77]. Die für diese Arbeit herangezogene Methode beschreibt die Quantifizierung der 16 EPA-PAK mittels Gaschromatographie und massenselektiver Detektion (GC-MS) im SIM-Modus [71].

Im Detail werden in der genannten Bezugsmethode jedoch keine konkreten Bestimmungsparameter wie Temperatur, die einzusetzenden Säulen oder

Massenspuren genannt. Sie sind von den Laboren selbst festzulegen. Im Anhang der Methode befindet sich allerdings als Beispiel ein Chromatogramm einer Analyse von 21 PAK mit Angabe der dazu gewählten Analysenparameter [71].

Für die Bestimmung der einzelnen Verbindungen ist für jeden einzelnen Analyt wenigstens eine externe 3-Punkt-Kalibrierung vorzunehmen. Unter Bezugnahme von mindestens drei internen Standards (s. Zuordnung in Tab. 6, Kap. 1.4.3) soll ein Arbeitsbereich von 0,1 – 10 mg/kg Material (entspricht nach der in dem Dokument beschriebenen Aufarbeitung einer Konzentration jedes Analyten von 2,5 µg/L bis 250 µg/L im Materialextrakt) abgedeckt werden, wobei die Bestimmungsgrenze bei 0,2 mg je kg Materialprobe liegen soll. Liegen die Konzentrationen einiger Analyten oberhalb des kalibrierten Bereiches kann der Probenextrakt zur Bestimmung verdünnt werden [71].

3.1.1 Einführung der Methode

Ausgehend von den bereits zuvor genannten Analysenparametern (s. Tab. 7, Kap. 1.4.3) wurden schrittweise die gaschromatographischen und massenspektrometrischen Parameter eingeführt. Dabei wurde ein Gaschromatograph TRACE-GC-ULTRA® der Firma Thermo Scientific mit einem AI/AS 3000 Autosampler verwendet. Der Gaschromatograph ist mit einer Ionenfalle, dem Polaris Q®, gekoppelt. Die bereits für die Bestimmung von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen in anderen Matrices, wie z.B. Bodenproben, verwendete Trennsäule war von mittelpolarer Art (OPTIMA®-35-MS-0,25 µm, Macherey-Nagel).

Eine Trennung der Analyten und deren Detektion konnte letztendlich nach Optimierung der einzelnen gaschromatographischen und massenspektrometrischen Parameter [106] z.B. mit folgenden Einstellungen (Tab. 8) erreicht werden (s. auch Kap. 5.16):

Parameter	Auswahl
Injektion	1 µL, splitless, 280 °C
Säule	OPTIMA®-35-MS-0,25 µm 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm
Trägergas	Helium, 1,1 mL/min (konstant)
Temperaturprogramm Ofen	70 °C – 2 min, 8 °/min – 220 °C, 4 °/min – 300 °C, 300 °C – 10 min
Massenbereich	SIM

Tabelle 8: Beispielhafte gaschromatographische Messbedingungen für die Analyse

Abbildung 10 zeigt das über die Analyse mit den in Tabelle 8 gelisteten Parametern erhaltene Chromatogramm für die 16 EPA-PAK (nachfolgend werden die Chromatogramme mit SIC, single ion chromatogramm, bezeichnet, da sie nur die einzelnen, ausgewählten Massen der zu untersuchenden PAK wiedergeben, s. Kap 5.16.1).

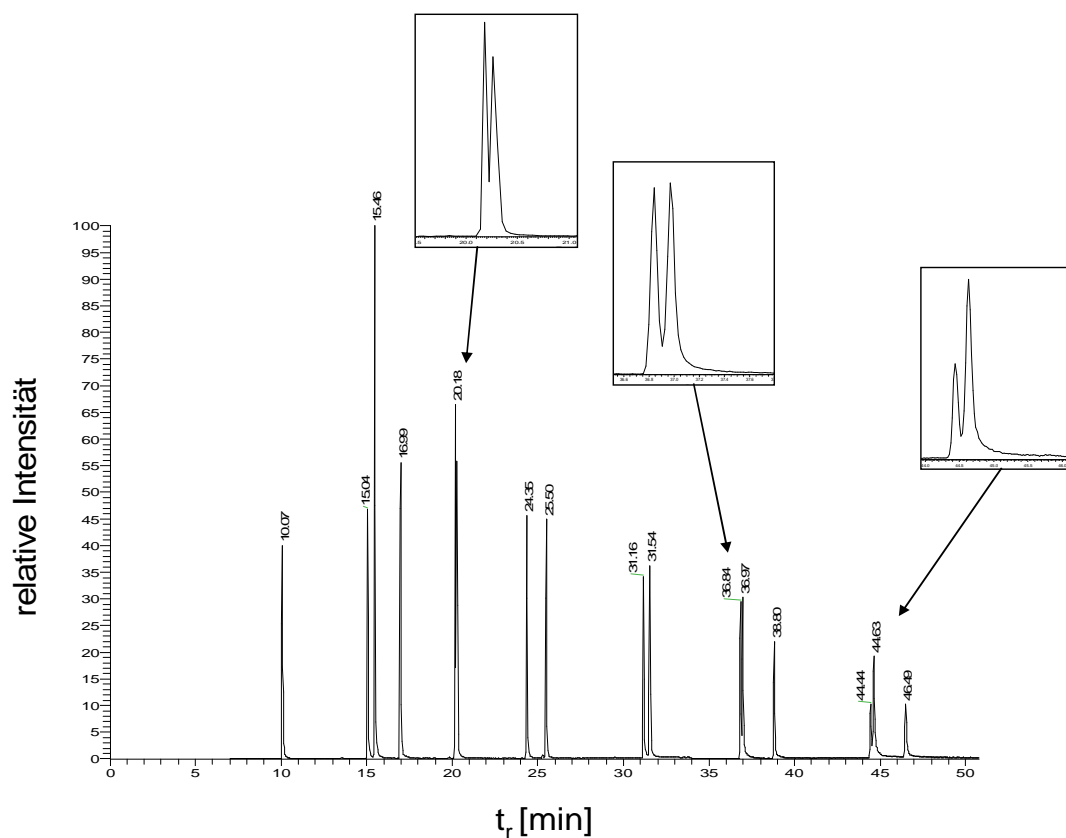


Abbildung 10: GC-MS-Analyse (SIC) der 16 EPA-PAK, Thermo-System

PAK	t _r [min]	Molmasse [g/mol]
Naphthalin	10,07	128
Acenaphthylen	15,04	152
Acenaphthen	15,46	153
Fluoren	16,99	166
Phenanthren	20,18	178
Anthracen	20,26	178
Fluoranthren	24,35	202
Pyren	25,50	202
Benzo[a]anthracen	31,16	228
Chrysen	31,54	228
Benzo[b]fluoranthren	36,84	252
Benzo[k]fluoranthren	36,97	252
Benzo[a]pyren	38,80	252
Indeno[1,2,3-c,d]pyren	44,44	276
Dibenzo[a,h]anthracen	44,63	278
Benzo[g,h,i]perylen	46,49	276

Tabelle 9: Retentionszeiten der 16 EPA-PAK der GC-MS-Analyse mit den in Tabelle 8 beschriebenen Einstellungen

Die soeben vorgestellten Analysenparameter konnten nicht über die gesamte Dauer der angefertigten Doktorarbeit beibehalten werden, da das Gerätesystem und die Säule auch für den Routinebetrieb genutzt werden. Durch die hohe Anzahl an Injektionen und den unterschiedlichen injizierten Matrices und Lösungsmitteln war neben einer stetigen Anpassung der gaschromatographischen Parameter auch wiederholt ein Säulenwechsel nötig. Somit können die in der Tabelle 8 wiedergegebenen Einstellungen nur für die Analysenmethode zum Zeitpunkt der Einführung herangezogen werden. Im Rahmen der Qualitätssicherung wurde bei einer Veränderung der Parameter die Validierung (mindestens jedoch die Kalibrierung) wiederholt, um die geforderten, festgelegten Kenndaten für die Bestimmung trotz abweichender Einstellungen gewährleisten zu können. Für die im Folgenden diskutierten Ergebnisse sind die jeweiligen Analysenparameter und Geräteeinstellungen, falls abweichend, entsprechend in Kapitel 5.16 angegeben.

3.1.2 Validierung

Die Validierung zur Ermittlung der Kenndaten wie Bestimmungs-, Nachweis- und Erfassungsgrenze gemäß DIN 32645 [107] erfolgte über die Kalibrierung mit Mischstandardlösungen der 16 polyzyklischen aromatischen Verbindungen. Die Berechnung der Vertrauensbereiche erfolgte auf Basis von 95 % statistischer Sicherheit. Der lineare Arbeitsbereich lag für das zu verwendende System um einen Faktor 10 höher als in der Methode genannt und deckte dabei einen Konzentrationsbereich von 25 µg/L bis 500 µg/L ab. Die Aufarbeitung ist entsprechend dem linearen Bereich und der Kenndatenvorgabe angepasst worden [106] und wird nachfolgend in Kapitel 3.1.3 näher beschrieben.

Die aus den jeweiligen 10-Punkt-Kalibrierungen erhaltenen Kalibrierdaten (Tab. 10), die dargestellten Kalibriergeraden (Abb. 11 – 14), sowie die daraus ermittelten Kenndaten (Tab. 11) ergaben sich wie folgt:

PAK	Kalibriergerade	Korrelation R ²
Naphthalin	$y = 601,45x - 932$	0,9999
Acenaphthylen	$y = 634,92x + 1440$	0,9999
Acenaphthen	$y = 701,42x - 1172$	0,9997
Fluoren	$y = 492,84x - 4539$	0,9997
Phenanthren	$y = 594,18x - 17339$	0,9995
Anthracen	$y = 742,98x - 11515$	0,9998
Fluoranthren	$y = 753,95x - 7938$	0,9998
Pyren	$y = 768,66x - 17518$	0,9993
Benzo[a]anthracen	$y = 512,24x - 20465$	0,9999
Chrysen	$y = 571,71x - 16419$	0,9997
Benzo[b]fluoranthren	$y = 386,92x - 10144$	0,9999
Benzo[k]fluoranthren	$y = 512,24x - 20465$	0,9999
Benzo[a]pyren	$y = 362,33x - 10256$	0,9999
Indeno[1,2,3-c,d]pyren	$y = 196,03x - 5528$	0,9997
Benzo[g,h,i]perylene	$y = 258,92x - 3624$	0,9998
Dibenzo[a,h]anthracen	$y = 220,34x - 5588$	0,9997

Tabelle 10: Kalibrierdaten der 16 EPA-PAK gemäß DIN 32645 [107]

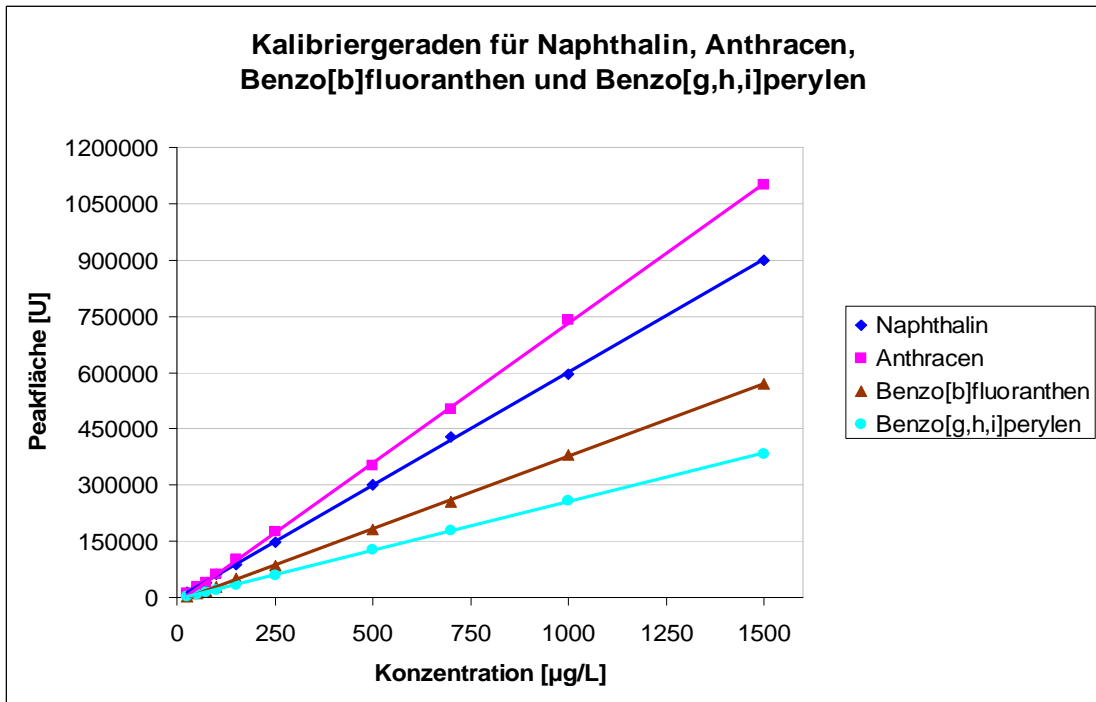


Abbildung 11: Kalibriergeraden für Naphthalin, Anthracen, Benzo[b]fluoranthen und Benzo[g,h,i]perylen

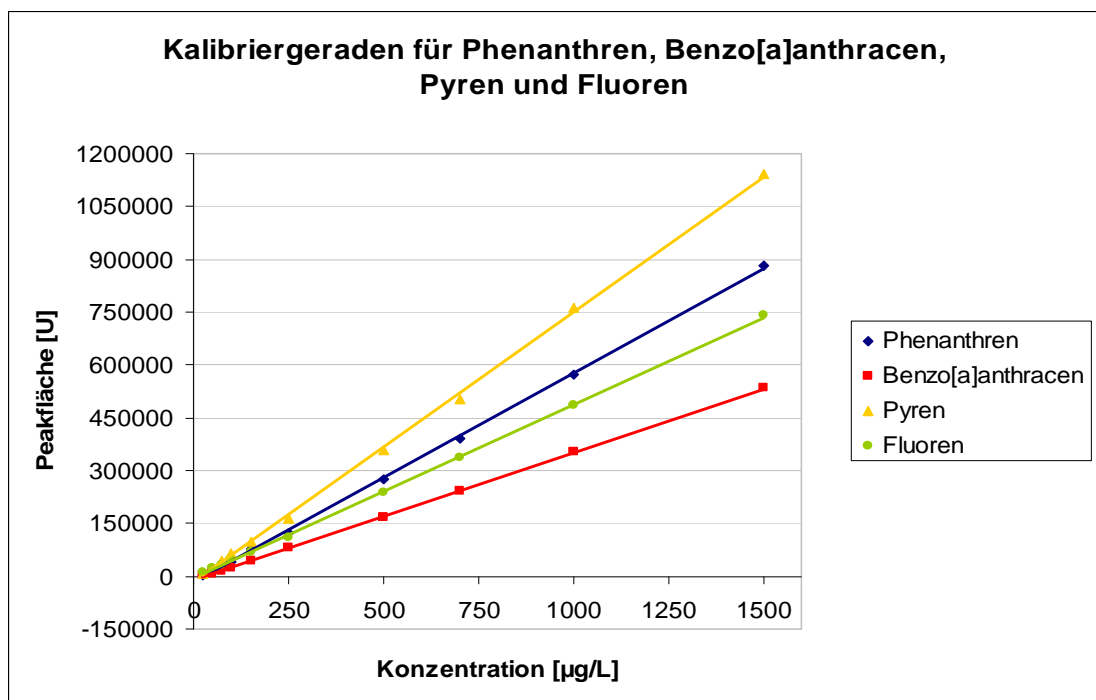


Abbildung 12: Kalibriergeraden für Phenanthren, Benzo[a]anthracen, Pyren und Fluoren

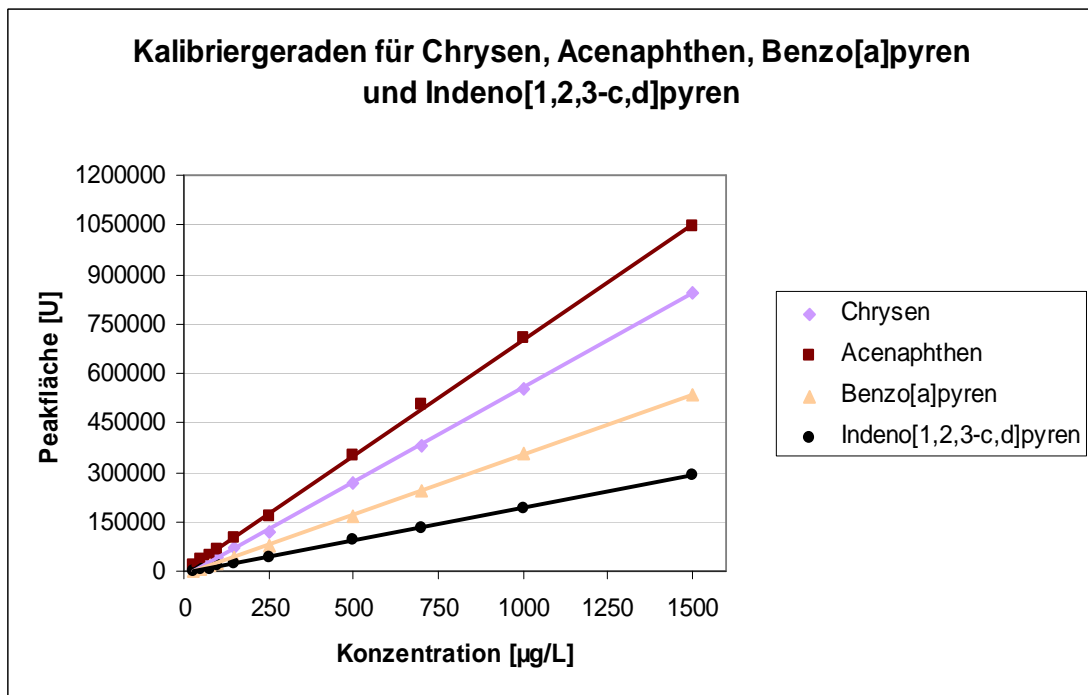


Abbildung 13: Kalibriergeraden für Chrysen, Acenaphthen, Benzo[a]pyren und Indeno[1,2,3-c,d]pyren

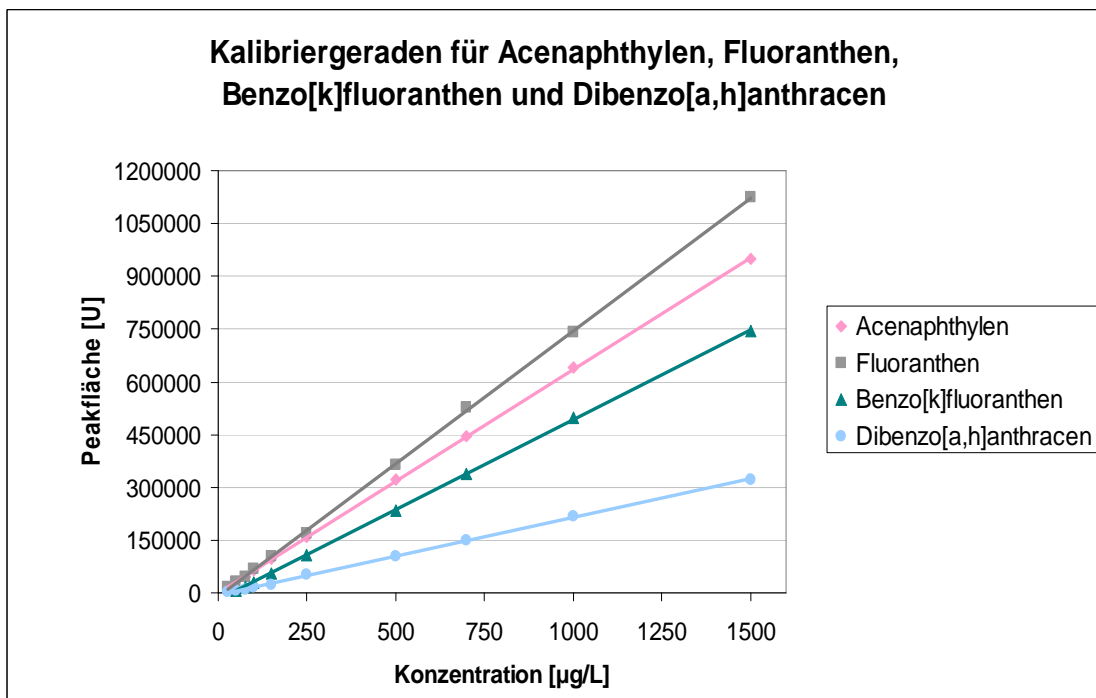


Abbildung 14: Kalibriergeraden für Acenaphthylen, Fluoranthen, Benzo[k]fluoranthen und Dibenzo[a,h]anthracen

PAK	NG [µg/L]	EG [µg/L]	BG [µg/L]	rel. Vstdabw. [%]
Naphthalin	12,5	25,0	46,1	1,4
Acenaphthylen	10,0	20,0	37,0	1,1
Acenaphthen	19,8	39,6	72,9	2,3
Fluoren	17,7	35,4	65,2	2,0
Phenanthren	23,3	46,7	85,8	2,7
Anthracen	14,3	28,6	52,7	1,6
Fluoranthen	15,3	30,6	56,3	1,7
Pyren	25,1	50,3	92,2	2,9
Benzo[a]anthracen	21,6	43,2	79,3	2,1
Chrysen	17,6	35,3	65,0	2,0
Benzo[b]fluoranthen	12,3	24,6	45,4	1,4
Benzo[k]fluoranthen	18,2	36,4	67,0	2,1
Benzo[a]pyren	11,5	23,0	42,5	1,3
Indeno[1,2,3-c,d]pyren	19,8	39,6	72,9	2,3
Benzo[g,h,i]perylene	14,0	28,0	51,7	1,6
Dibenzo[a,h]anthracen	19,7	39,3	72,4	2,2

Tabelle 11: Validierungskenndaten gemäß DIN 32645 [107] aus der externen Kalibrierung der 16 EPA-PAK

NG = Nachweisgrenze

EG = Erfassungsgrenze

BG = Bestimmungsgrenze

rel. Vstdabw. = relative Verfahrensstandardabweichung

Bei jeder Analyse der Probenextrakte wurde zu Beginn eine 5-Punkt-Kalibrierung vorgenommen. Zusätzlich erfolgte auch die Analyse eines Kontrollstandards ($c = \text{ca. } 100 \text{ } \mu\text{g/L}$, s. Kap. 5.2, Tab. 22) zur Qualitätssicherung und für die Erstellung einer Mittelwert-Kontrollkarte. Da in der ZEK-Methode für die Untersuchung der Materialien der diversen Kategorien jeweils ein Einzelgrenzwert für Benzo[a]pyren und ein Summengrenzwert für die zu bestimmenden 16 EPA-PAK vorgeschlagen wird [71], wurden entsprechend 2 Mittelwert-Kontrollkarten geführt (in der vorliegenden Arbeit nicht gezeigt). Aus den Wiederholmessungen des Kontrollstandards an unterschiedlichen Arbeitstagen konnten für die einzelnen Analyten folgende statistische Kenndaten ermittelt werden:

PAK	Mittelwert _{n = 40} [µg/L]	Stdabw. [µg/L]	rel. Vstdabw. [%]
Naphthalin	97,7	2,9	2,9
Acenaphthylen	90,3	7,2	8,0
Acenaphthen	94,1	6,1	6,5
Fluoren	100,1	5,0	5,0
Phenanthren	98,7	6,6	6,7
Anthracen	95,7	6,9	7,2
Fluoranthen	98,8	4,5	4,6
Pyren	99,7	5,3	5,3
Benzo[a]anthracen	99,3	5,7	5,8
Chrysen	98,8	5,5	5,6
Benzo[b]fluoranthen	97,2	4,4	4,5
Benzo[k]fluoranthen	98,6	5,0	5,1
Benzo[a]pyren	98,5	3,1	3,2
Indeno[1,2,3-c,d]pyren	95,7	7,8	8,2
Benzo[g,h,i]perylen	99,2	4,9	5,0
Dibenzo[a,h]anthracen	96,4	7,4	7,7
Σ EPA-PAK	1552,6	33,7	2,2

Tabelle 12: Statistische Kenndaten ermittelt aus den Wiederholmessungen des Kontrollstandards

Das eingeführte Verfahren ist nach Auswertung der Validierungsergebnisse und der statistischen Kenndaten für die vorgesehene Analytik geeignet. Lediglich der um einen Faktor 10 höher – als in der Methode vorgegeben – liegende lineare Bereich erforderte die Anpassung der Probenaufarbeitung, um die festgelegten Bestimmungsgrenzen erreichen zu können [71].

Die Auswertung der einzelnen Analyten nach der Aufarbeitung wurde über die Zugabe des internen Standardgemisches zu dem Extraktionsmittel ermöglicht. Parallel dazu erfolgte auch die Zugabe des internen Standardgemisches in analoger Konzentration von 500 µg/L zu den einzelnen Kalibrierstandards. Für die Auswertung über die zugesetzten internen Standards wurden in der Methode für die Detektion drei Zeitsegmente gesetzt, in denen die jeweiligen Analyten den drei internen Standardsubstanzen zugeordnet wurden.

Der Responsefaktor Rf konnte über das Verhältnis des Signals von Analyt (mit Peakflächenwert A) und internem Standard (IS) auf gleiche Konzentration (c) normiert ermittelt werden. Die Peakflächenwerte wurden dabei aus den bei jeder Analyse ebenfalls gemessenen Kalibrierlösungen erhalten. Die Responsefaktoren wurden im Anschluss an die Kalibrierung über folgende Gleichung 3 ermittelt:

$$(3) \quad Rf = \frac{\frac{A_{IS}}{c_{IS}}}{\frac{A_{Analyt}}{c_{Analyt}}} = \frac{A_{IS} \times c_{Analyt}}{A_{Analyt} \times c_{IS}}$$

Rf = Responsefaktor

A_{IS} = Peakfläche interner Standard [U]

A_{Analyt} = Peakfläche Analyt [U]

c_{IS} = Konzentration des internen Standards [$\mu\text{g/L}$]

c_{Analyt} = Konzentration Analyt [$\mu\text{g/L}$]

Die Konzentrationen der einzelnen PAK ergeben sich unter Beachtung der Responsefaktoren, der entnommenen Aliquotvolumina (V), den vorgenommenen Anreicherungen (F) und der Einwaage (E) über Gleichung 4 wie folgt:

$$(4) \quad c_{Analyt} [\text{mg/kg}] = Rf \times c_{IS} \times \frac{A_{Analyt} \times V}{A_{IS} \times E \times F} \times 1000$$

V = Extraktionsvolumen [mL]

E = Einwaage [g]

F = Faktor für Aufkonzentrierung

Die Berechnung des Gehaltes erfolgte nach Berücksichtigung der Einwaage direkt über die Gerätesoftware.

3.1.3 Extraktion und deren Anpassung für die Analyse im linearen Bereich

Gemäß ZEK-Methode werden 500 mg des zerkleinerten Materials mit 20 mL Toluol extrahiert. Im Anschluss kann ein Aliquot entnommen und mittels Rotationsverdampfer aufkonzentriert werden, bevor die Aufreinigung über die Kieselgelsäulen vorgenommen wird [71].

Für die Aufarbeitung wurde zu Beginn eine Einwaage von 500 mg vorgenommen und einem verringerten Lösungsmittelvolumen von 10 mL Toluol, versetzt mit dem internen Standardgemisch, eingesetzt. Dem Extrakt wurde ein Aliquot von 5 mL Toluol entnommen und in einem graduierten Spitzkolben schonend am Rotationsverdampfer (40 °C Wasserbadtemperatur, ca. 80 mbar angelegtem Druck, 150 U/min) auf ein Volumen von 1 mL aufkonzentriert. Dieses Endvolumen wurde auf die vorbereitete Glassäule zur Aufreinigung gegeben, wobei der Spitzkolben dreimal mit letztendlich 20 mL Petrolether nachgespült wurde. Durch diese Aufarbeitung konnte bei der vorgenommenen Validierung die Bestimmungsgrenze von 0,2 mg/kg in der Probe erreicht werden [106]. Zu beachten ist, dass sich bei der gewählten Aufarbeitung nicht nur die Konzentration der Analyten, sondern auch die der ebenfalls mitextrahierten Matrixbestandteile erhöhte.

Nach Messung mehrerer Proben der unterschiedlichen Kategorien konnten kaum Konzentrationen (< 0,2 mg/kg) bzw. keine signifikant erhöhten Konzentrationen an PAK in Bezug auf die festgesetzten Grenzwerte ermittelt werden. Das Extraktionsvolumen wurde weiter auf 5 mL verringert und die Einwaage der Probenmaterialien für eine bessere Nachweisgrenze auf 1 g erhöht. Nachfolgendes Fließschema in Abbildung 15 veranschaulicht schematisch die optimierte Probenaufarbeitung:

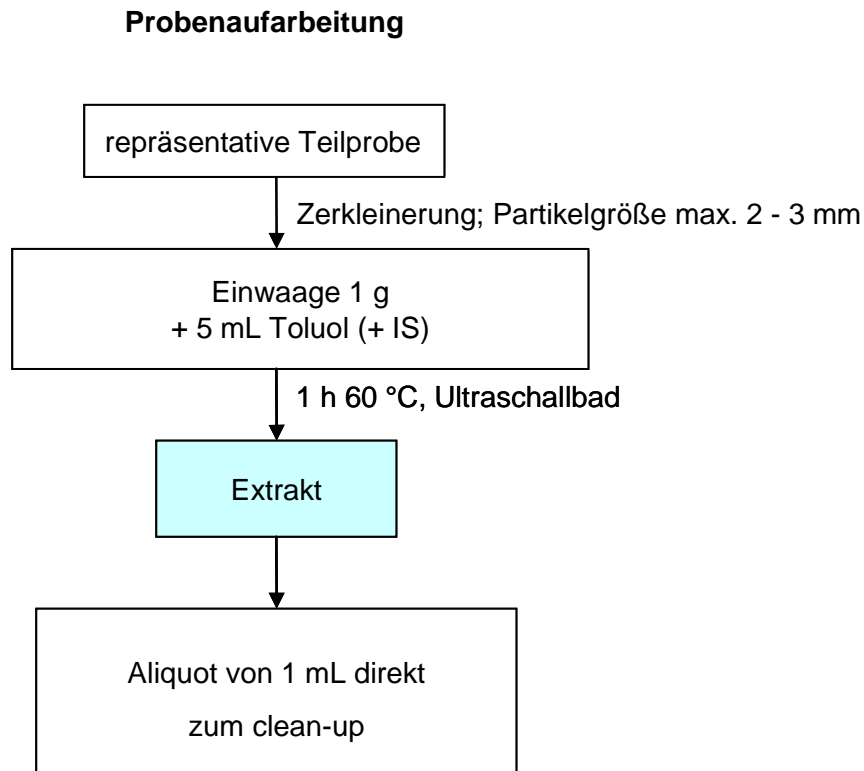


Abbildung 15: Fließschema für die optimierte Probenvorbereitung für Proben mit geringen Konzentrationen der EPA-PAK

In den Fällen, in denen die Konzentration erhöht ist und außerhalb der Kalibrierreihe liegen sollte, kann eine Verdünnung des Extrakts vorgenommen werden. Die Bezugnahme auf die internen Standards kann dabei nicht weiter erfolgen, da sich deren Konzentration gleichzeitig ebenfalls verdünnt. Die aus der Kalibrierung ermittelten Responsefaktoren können somit nicht weiter herangezogen werden. Die Extraktion kann in diesen Fällen mit entsprechend abgeänderten Einwaagen bzw. Lösungsmittelvolumina und analog dazu angepassten Konzentrationen der internen Standardverbindungen wiederholt werden.

Die in der ZEK-Methode beschriebene Extraktion im Ultraschallbad stellt bereits eine Optimierung dar. Üblicherweise werden die meisten Extraktionen mit organischen Lösungsmitteln in Soxhlet-Apparaturen vorgenommen [14]. Dabei handelt es sich um eine kalte Extraktionsmethode, bei der das Probengut über mehrere Zyklen hinweg mit Lösungsmittel extrahiert wird. Dies erfolgt über mehrere Stunden und benötigt eine größere Menge an Extraktionsmittel.

Nach der gemäß ZEK-Methode durchgeführten Extraktion bei 60 °C im Ultraschallbad erfährt das Probenmaterial weitaus drastischere Einwirkungen durch das Lösungsmittel als bei der Kaltextraktion mittels Soxhlet-Methode möglich ist. Hamm et al. haben Vergleichsuntersuchungen vorgenommen, bei denen die Soxhlet-Extraktionen keine nachweislich höheren Ausbeuten hervorbrachten [34].

3.1.4 Aufreinigung der Probenextrakte

Ein wichtiger Schritt bei der Probenvorbereitung ist die Aufreinigung (englisch: clean-up). Sie dient zur Eliminierung von störenden Matrixkomponenten und gelösten Partikeln. Neben der Flüssig-Flüssig-Extraktion findet zur Aufreinigung für anschließende chromatographische Analysen besonders die Festphasenextraktion (SPE, englisch: solid phase extraction) Anwendung. Dabei erfolgt eine Anreicherung bzw. Aufreinigung über eine feste Phase, die aus unterschiedlichen Materialien bestehen kann. Je nach Fragestellung und eingesetzter fester Phase können dabei unterschiedliche Mechanismen ausgenutzt werden, je nachdem, ob die Phase einen unpolaren oder einen polaren Charakter besitzt, ein Ionenaustauscher ist oder auch verschiedene, kombinierte Wirkungsmechanismen besitzt (so genannte Mixed Mode Phasen) [13].

Die zu untersuchenden EPA-PAK sind unpolare Verbindungen. Das zur Aufreinigung eingesetzte Kieselgel ist ein stark polares Sorbens, bedingt durch die freien Hydroxygruppen an der Oberfläche des Kieselgels. Sie binden mittels Wasserstoffbrückenbindungen bevorzugt polare Moleküle. Sind diese Verbindungen besonders polar, kann es sogar möglich sein, dass sie sich nicht wieder von dem Sorbens eluieren lassen [108].

Die in dieser Arbeit betrachteten Analyten passieren die feste Phase mit keiner oder zumindest sehr geringer Wechselwirkung. Aus dem Polymermaterial mitextrahierte Substanzen mit einer oder mehreren polaren Gruppen werden durch Dipol-Dipol-Wechselwirkungen oder Wasserstoffbrückenbindungen an der Festphase retardiert [108]. Besonders bei gefärbten Extrakten ist diese Retardierung anhand der Bildung eines Farbrings am Säulenkopf zu erkennen, der bei fortlaufender Elution nicht weiter über das Festphasenmaterial läuft [106].

Weitere polare Phasen sind z.B. Florisil (Magnesiumsilikat) oder Aluminiumoxid. Mittelpolare Phasen können durch Modifizierung des Kieselgels erhalten werden, wie z.B. mit Cyanopropylgruppen.

3.1.4.1 Optisch unauffällige Extrakte und deren Abdampfrückstand

Die ZEK-Methode schreibt die Probenaufreinigung über die Kieselgelsäulen nicht explizit vor. Vielmehr lässt sie die Wahl zur Aufreinigung offen. Falls Interferenzen bei der gaschromatographischen Bestimmung auftreten, können auffällige Extrakte aufgereinigt werden. Viele der Extrakte sind bereits optisch erkennbar belastet. In vielen Fällen sind im angelösten Probengut Schwebepartikel zu erkennen oder der Extrakt ist deutlich gefärbt.

Viele der augenscheinlich unauffälligen Extrakte (klare, farblose Extrakte) beinhalten mitextrahierte Substanzen, wie z.B. Weichmacher oder andere Substanzen, die sich auch in Toluol lösen und bedürfen ebenfalls einer Aufreinigung. In Abbildung 16 wird der Abdampfrückstand von 1 mL eines Extraktes gezeigt, der optische keine Auffälligkeiten aufwies [106]:

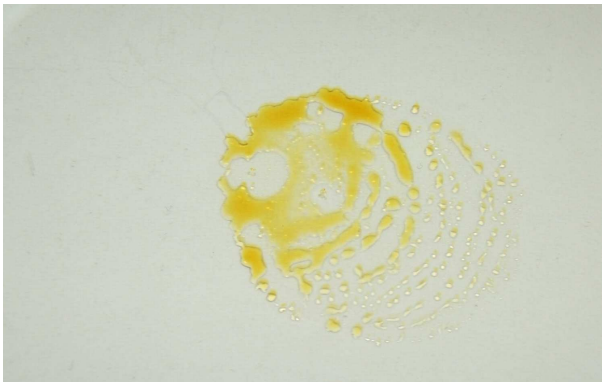


Abbildung 16: Öliger Abdampfrückstand eines optisch unscheinbaren Aliquots nach Extraktion eines schwarzen Elastomers im Ultraschallbad [106]

Der Abdampfrückstand des extrahierten Probenmaterials, hier ein Elastomer, war von öliger Konsistenz. Zum Schutz der verwendeten Geräte sollte in jedem Fall eine Aufreinigung erfolgen. Weiterhin muss auch beachtet werden, dass zusätzliche

Substanzen, die sich bei der Verdampfung im Injektor und bei der Ionisierung in der Quelle des Massenspektrometers befinden, unvorhersehbare Effekte hervorrufen und somit die Detektion und letztendlich auch das Ergebnis der Analysen beeinflussen können.

3.1.5 Kieselgel als Sorbens zur Aufreinigung der Probenextrakte

In der ZEK-Methode wird die Aufreinigung über mit deaktiviertem Kieselgel selbstgepackten Glassäulen beschrieben [71]. Die einzelnen Schritte wurden für den Routinebetrieb zur besseren Handhabung, einem minimierten Arbeitsaufwand und Standardisierung auf die kommerziell erhältlichen, industriell fertig gepackten Kartuschen übertragen.

3.1.5.1 Aufreinigung über manuell befüllte Glassäulen

Für die Aufreinigung gemäß ZEK-Methode wurden zu Beginn der Methodeneinführung Glassäulen mit Glasfritten, Hahnschliff und Schliffstopfen verwendet. Diese Glassäulen mit einer Länge von ca. 20 cm wurden zunächst mit Aceton gewaschen und bei 70 °C im Trockenschrank getrocknet. Für die Aufreinigung wurden sie anschließend mit etwas Glaswolle befüllt. Das geglühte Kieselgel wurde für die Anwendung mit 10 Gewichtsprozent deionisiertem Wasser deaktiviert. Dazu erfolgte die Einwaage der benötigten Menge an Sorbens in einen Rundkolben. Anschließend wurde diese mit der entsprechenden Gewichtsmenge an Wasser versetzt. Die Homogenisierung erfolgte für eine Stunde am Rotationsverdampfer ohne Temperatureinfluss oder Anlegen eines Vakuums (gemäß ZEK-Methode bei 760 Torr = 1013 mbar = Atmosphärendruck) [71] nur durch die Rotation des Kolbens.

Im Anschluss wurden Portionen zu 4 g abgewogen und über einen Trichter in die mit der Glaswolle vorgelegten Glassäulen befüllt. Abschließend erfolgte die Überschichtung mit ca. 1 cm wasserfreiem Natriumsulfat. Bis zur Aufreinigung der Probenextrakte konnten diese vorbereiteten Säulen mit einem Glasstopfen verschlossen aufbewahrt werden.

Für die Aufreinigung wurde das Säulenmaterial mit 10 mL Petrolether gewaschen, wobei darauf zu achten war, dass die Säule nicht trocken läuft. Das aufkonzentrierte Extraktaliquot wurde quantitativ auf die Glassäule überführt und kurz einwirken gelassen. Der zum Nachspülen des Spitzkolbens verwendete Petrolether (insgesamt 20 mL) wurde ebenfalls quantitativ auf die Säule übertragen. Die Elution erfolgte mit weiteren 50 mL Petrolether. Das verbliebene Restelutionsmittel konnte durch Anlegen eines leichten Drucks mit einem Handballon vorsichtig aus den Glassäulen gedrückt werden. Das gesamte Eluat wurde direkt in graduierten Spitzkolben gesammelt, mit 1 mL Toluol (als Keeper) versetzt und am Rotationsverdampfer (40 °C Wasserbadtemperatur, ca. 800 mbar angelegtem Druck, 150 U/min) [106] für die Analyse auf ein Endvolumen von 1 mL aufkonzentriert. Der in der Methode genannte TurboVap stand dafür nicht zur Verfügung.

Zur Bestimmung der Wiederfindung wurde in einer Dreifachbestimmung ein Mischstandard der 16 EPA-PAK und der drei deuterierten Verbindungen analysiert. Dazu wurden direkt 1 mL der Standardlösung (Analyten jeweils 500 µg/L, interne Standards jeweils 500 µg/L, in Toluol) auf die, wie zuvor beschrieben, konditionierten Säulen pipettiert, eluiert und nach Aufkonzentrierung am Rotationsverdampfer gaschromatographisch analysiert. Während der gesamten Arbeit wurde für Vergleichsuntersuchungen nach einem zertifizierten Material gesucht. Allerdings konnte kein zertifiziertes, dotiertes Material erhalten werden, sodass sämtliche Vergleiche mit vorliegenden Proben, die für die entsprechenden Fragestellungen geeignet schienen, durchgeführt wurden.

Die ermittelten Wiederfindungen (Tab. 13) berechneten sich über eine zuvor gemessene Kalibrierreihe. Die Auswertung erfolgte über Bezugnahme auf die internen Standards. Abweichend zu der Methode 3 (s. Kap. 5.16.1) musste aufgrund von Interferenzen die Auswertung über Acenaphthen-D10 anstatt Phenathren-D10 erfolgen.

PAK	Wiederfindung [µg/L]	Wiederfindung [%]	rel. Vstdabw. [%]
Naphthalin	0,487 +/- 0,002	97	0,4
Acenaphthylen	0,473 +/- 0,014	95	2,9
Acenaphthen	0,462 +/- 0,012	92	2,5
Fluoren	0,502 +/- 0,005	100	1,0
Phenanthren	0,603 +/- 0,015	121	2,5
Anthracen	0,542 +/- 0,036	108	6,7
Fluoranthen	0,566 +/- 0,027	113	4,9
Pyren	0,648 +/- 0,026	130	4,0
Benzo[a]anthracen	0,678 +/- 0,023	136	3,4
Chrysen	0,502 +/- 0,030	100	5,9
Benzo[b]fluoranthen	0,423 +/- 0,012	85	2,9
Benzo[k]fluoranthen	0,453 +/- 0,022	91	4,9
Benzo[a]pyren	0,509 +/- 0,029	102	5,7
Indeno[1,2,3-c,d]pyren	0,321 +/- 0,004	64	1,4
Benzo[g,h,i]perylen	0,304 +/- 0,021	61	6,9
Dibenzo[a,h]anthracen	0,334 +/- 0,013	67	3,7

Tabelle 13: Bestimmung der Wiederfindung nach Aufreinigung eines Mischstandards (500 µg/L) über die Glassäulen (4 g Kieselgel, Elution mit Petrolether)

Für die Analyten Benzo[a]anthracen und Chrysen konnte für die Bestimmung der Wiederfindung nur eine Doppelbestimmung herangezogen werden. Die prozentuale Wiederfindung für die höhermolekularen Analyten Indeno[1,2,3-c,d]pyren, Benzo[g,h,i]perylen und Dibenzo[a,h]anthracen liegt deutlich unter denen der Anderen. Insgesamt weichen die Wiederfindungen unter den Analyten stark voneinander ab, auch wenn die relativen Verfahrensstandardabweichungen eine gute Wiederholbarkeit widerspiegeln. Besonders im mittelmolekularen Bereich fallen erhöhte Wiederfindungsraten für die Analyten im Massenbereich m/z 178 – 228 Da auf. Eine Begründung dafür schien zunächst die Bezugnahme auf Acenaphthen-D10 zu sein. Allerdings zeigten auch mehrfache Wiederholungen der Wiederfindungsbestimmungen zur Auswertung über Phenanthren-D10 diese erhöhten Raten im mittelmolekularen Bereich. In manchen Untersuchungen wurde für den internen

Standard eine deutlich geringere Signalfläche als für die entsprechende EPA-Verbindung ermittelt. Durch die Normierung ergaben sich dadurch die erhöhten Wiederfindungsraten. Eine Begründung für diese Differenz zwischen dem internen Standard und dem Analyten konnte bis zum Abschluss der Untersuchungen nicht ermittelt werden.

3.1.5.2 Matrixprobleme

Einige der mittels zuvor beschriebener Aufreinigungsmethode vorbereiteten Probenextrakte zeigten dennoch Interferenzen bei der Analyse. Auffällig waren diese besonders im mittelmolekularen Massenbereich zwischen m/z 178 und 228 Da. Die Chromatogramme in den nachfolgenden Abbildungen 17 (a – d) und 18 (a – e) zeigen einige Beispiele von Extraktanalysen nach Aufreinigung über die im vorherigen Kapitel 3.1.5.1 beschriebenen Kieselgelsäulen (Methode 2, s. Kap. 5.16.1).

Eine qualitative bzw. quantitative Auswertung kann in diesen Probenmatrices für die gezeigten Massenspuren nicht eindeutig erfolgen. Einerseits überlagern die mitextrahierten und zugleich auch aufkonzentrierten Substanzen durch ähnliche Dampfdrücke und Massen die Signale der Analyten im entsprechenden Massenbereich. Andererseits erschwert der zusätzliche Basisliniendrift eine korrekte quantitative Auswertung. Wenn dazu auch die Auswertung des internen Standards erschwert wird (s. Abb. 18 b für die Massenspur des deuterierten Phenanthrens mit m/z 188 Da), kann außerdem keine Auswertung für die Analyten in diesem Zeitsegment der Bezugnahme erfolgen. Ein Abgleich mit der Datenbank und/oder der Vergleich der Retentionszeiten der Standardsubstanzen aus der Kalibrierung kann ebenfalls nicht präzise erfolgen.

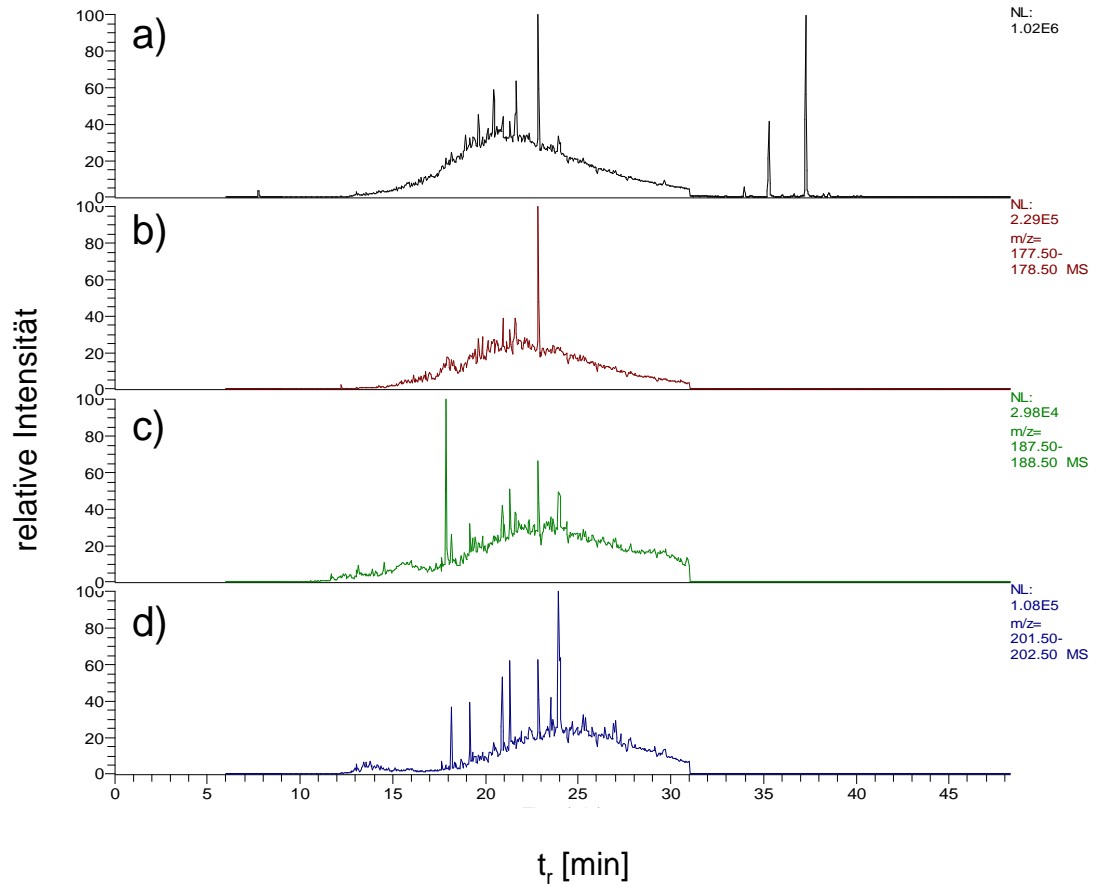


Abbildung 17: GC-MS-Analyse des über Glassäulen aufgereinigten Extraktes einer grau eingefärbten Gummiprobe (Kat. 3), Thermo-System

a) gesamtes Chromatogramm aller Massen der Methode (SIC)

b) Chromatogramm für m/z 178 Da

c) Chromatogramm für m/z 188 Da

d) Chromatogramm für m/z 202 Da

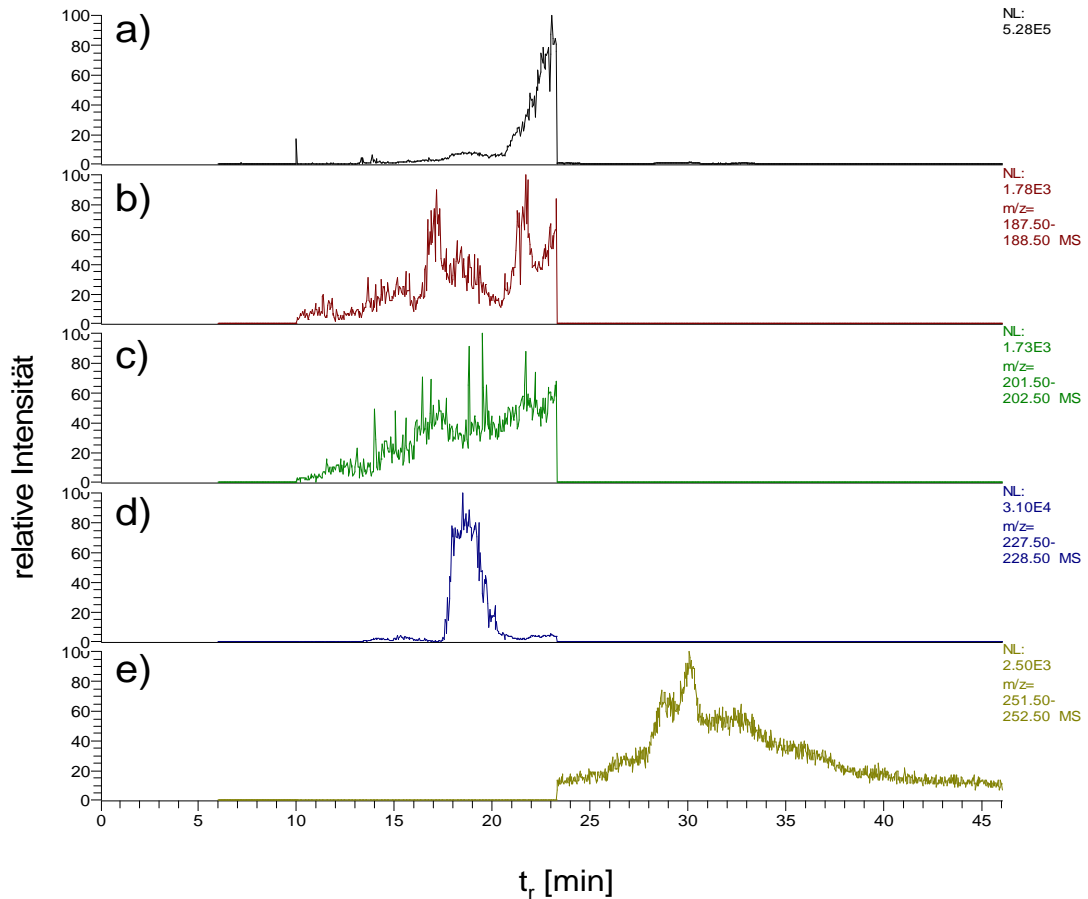


Abbildung 18: GC-MS-Analyse des über Glassäulen aufgereinigten Extraktes eines farblos weißen, weichen Kunststoffes (Kat. 3), Thermo-System
a) gesamtes Chromatogramm aller Massen der Methode (SIC)
b) Chromatogramm für m/z 188 Da
c) Chromatogramm für m/z 202 Da
d) Chromatogramm für m/z 228 Da
e) Chromatogramm für m/z 252 Da

3.1.5.3 Fraktionierte Elution

Bei der Aufreinigung erfolgt die Elution der Analyten von der selbstgepackten Kieselgelsäule mit insgesamt 70 mL Petrolether. Da zwischen den Analyten und dem Sorbens nahezu keine Wechselwirkungen bestehen und somit ihre Retention nicht zu erwarten ist, müssten die PAK bereits zu Beginn der Elution von der Säule gewaschen werden. Unter der Annahme, dass womöglich einige der

Matrixkomponenten etwas retardiert werden, wurde für die Untersuchung ein Extrakt mit Interferenzen gewählt, an dem beispielhaft eine fraktionierte Elution mit anschließender qualitativer Auswertung vorgenommen werden sollte. Eine Zugabe der internen Standards ist für diese Extraktion aufgrund der rein qualitativen Auswertung nicht vorgenommen worden. Nach der Extraktion, der Aufkonzentrierung und Aufgabe auf die Glassäule wurde der Spitzkolben zweimal mit jeweils 10 mL Petrolether gewaschen. Diese insgesamt 20 mL Waschlösung wurden ebenfalls auf die Säule gegeben. Der zum Teil ebenfalls extrahierte Farbstoff wurde direkt am Säulenkopf retardiert. Er war als feine klare Bande an der Grenze zwischen Natriumsulfat und Kieselgel sichtbar [106].

In Fraktionen zu je 10 mL wurde das Eluat in graduierten Spitzkolben mit Reservoir aufgefangen. Die insgesamt 7 Fraktionen wurden jeweils mit 1 mL Toluol als Keeper versetzt und am Rotationsverdampfer auf ein Endvolumen von 1 mL aufkonzentriert. Diese erhaltenen Endvolumina wurden dann mit der etablierten gaschromatographischen Methode analysiert (Methode 2, s. Kap. 5.16.1). Die erhaltenen Chromatogramme sind in Abbildung 19 in der Reihenfolge der aufgefangenen Eluatfraktionen (von oben nach unten) dargestellt [106].

Die Analyten eluieren wie erwartet bereits innerhalb der ersten 3 – 4 Fraktionen von der Säule, wobei die Aromaten mit geringerer Ringzahl vor denen mit mehreren aromatischen Ringen die Säule passieren. Zusätzlich dazu erscheint jedoch die störende Matrixfraktion ebenfalls in den einzelnen aufgefangenen Fraktionen. Erst in der letzten 10 mL-Fraktion sind weder Analyten (bis auf Spuren von Naphthalin um $t_r = 9$ min) noch Matrixinterferenzen detektierbar [106].

Eine fraktionierte Elution ermöglicht also keineswegs die Trennung der Interferenzen von den zu bestimmenden Analyten. Weiterhin wird deutlich, dass für eine Elution der Analyten weniger als 70 mL verwendet werden können. Die fehlende Wechselwirkung zwischen der Matrix und der Festphase lassen auf ihren unpolaren Charakter schließen. Somit besitzen diese im vorliegenden Extrakt auch nachweislich keine funktionellen Gruppen, die eine Wechselwirkung mit der stationären Phase eingehen könnten. Zusätzlich zu ihren unpolaren Eigenschaften besitzen sie Dampfdrücke, die ähnlich denen der Analyten sind. Somit ist eine gaschromatographische Trennung der Interferenzen von den Analyten unter den gewählten Einstellungen nicht möglich.

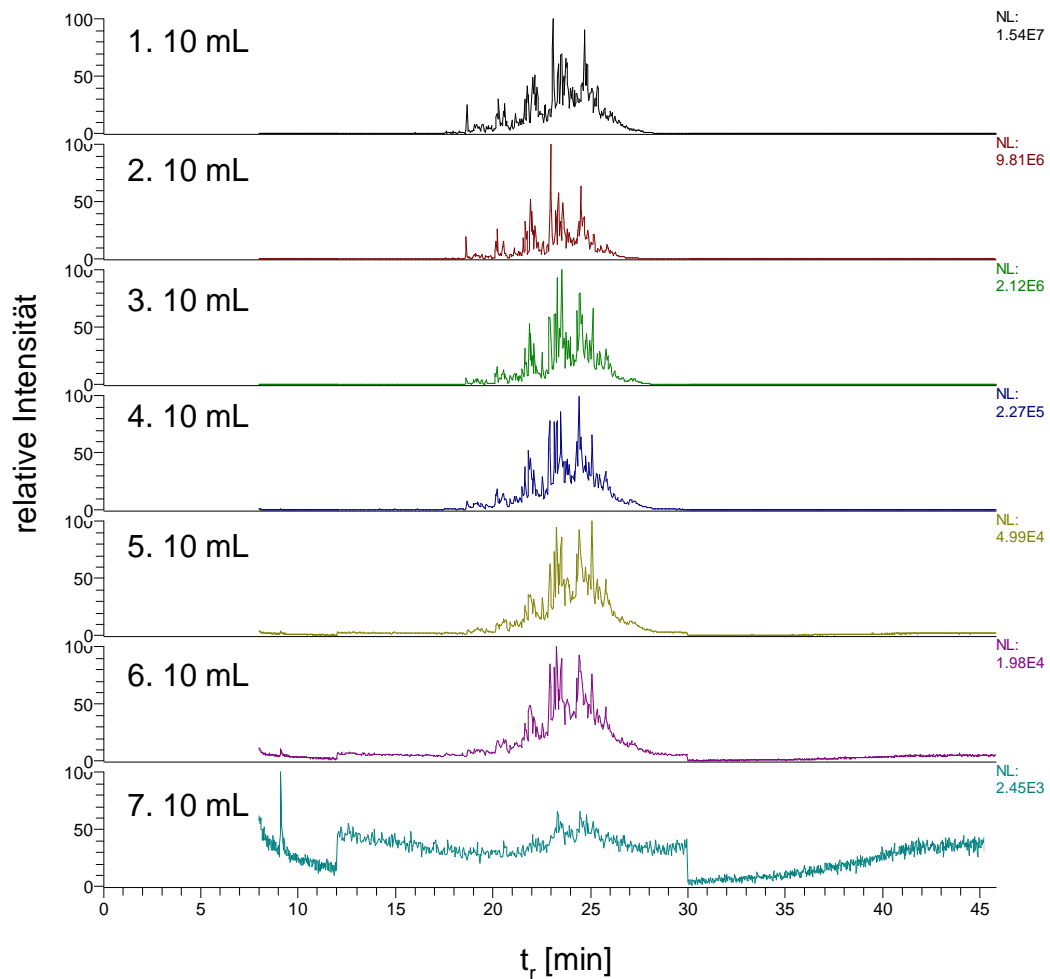


Abbildung 19: GC-MS-Analysen (SIC) der einzelnen Eluatfraktionen eines rot eingefärbten Weich-PVC-Material-Extraktes bei der Aufreinigung über die selbstgepackten Glassäulen, Thermo-System

3.1.5.4 Aufreinigung über industriell gepackte Kieselgel-Kartuschen

Die Aufreinigung über die zu befüllenden Glassäulen erforderte im Vorfeld die Vorreinigung der Glasmaterialien, die Vorbehandlung des Kieselgels und die Elution mit einer großen Menge an Lösungsmittel. Die Packung der Glassäulen erfolgte möglichst dicht durch wiederholtes Klopfen bei deren Befüllung. Bei der Konditionierung und Elution mit Petrolether konnten teilweise Veränderungen in der Packungsdichte beobachtet werden (Kanalbildungen, Absetzen von Sorbens am

Säulenkopf). Für eine bessere Reproduzierbarkeit der Analysenergebnisse wird im Rahmen dieser Arbeit ein Übertrag der Aufreinigungsmethode von der zeitintensiven manuellen Befüllung der Glassäulen auf kommerziell erhältliche, maschinell gepackte Kieselgelkartuschen untersucht [106].

In den einzelnen Fällen, in denen Matrixinterferenzen aufgetreten sind, konnte bereits in den vorangegangenen Kapiteln veranschaulicht werden, dass diese Interferenzen nicht aufgrund eines Durchbruchs der Matrix durch die Säule erfolgt. Vielmehr erfahren die mitextrahierten Störsubstanzen keinerlei Wechselwirkung mit der gewählten Festphase und passieren analog zu den PAK die Säule.

Der Vorteil in der Verwendung der vorgefertigten Kartuschen ist die einfache Handhabung. Sie müssen jeweils nur konditioniert werden. Die Anwendung einer Vakuumstation ermöglicht weiterhin ein gleichmäßigeres Aufbringen des Probenextraktes auf das Säulenbett sowie eine gleichmäßige und kontrollierbare Elution. Das Säulenmaterial ist zudem homogener gepackt. Da die Kartuschen nur zum einmaligen Gebrauch geeignet sind entfällt ebenfalls die Vorbehandlung und Reinigung wie es für die Glassäulen von Nöten ist.

Zur Bestimmung der Wiederfindung wurde auch für diese Kartuschen ein Mischstandard der 16 EPA-PAK und der drei deuterierten Verbindungen mittels einer Dreifachbestimmung analysiert. Dazu wurden direkt 1 mL der Standardlösungen (jeweils 500 µg/L jedes PAK, jeweils 500 µg/L IS, in Toluol) auf die konditionierten Kartuschen pipettiert und mit 20 mL iso-Hexan eluiert. Die Eluate wurden zunächst in Zentrifugengläsern in der Vakuumstation aufgefangen und im Anschluss quantitativ in die graduierten Spitzkolben zur Aufkonzentrierung überführt. Sämtliche Glasware wurde vor der Verwendung ebenfalls mit Aceton vorgespült und getrocknet. Das eluierte Lösungsmittel der Konditionierung wurde verworfen. Die nach der Aufkonzentrierung am Rotationsverdampfer und der gaschromatographischen Analyse ermittelten Wiederfindungen sind in nachfolgender Tabelle 14 wiedergegeben:

PAK	Wiederfindung [µg/L]	Wiederfindung [%]	rel. Vstdabw. [%]
Naphthalin	0,495 +/- 0,005	99	1,0
Acenaphthylen	0,486 +/- 0,016	97	3,2
Acenaphthen	0,484 +/- 0,007	97	1,5
Fluoren	0,506 +/- 0,003	101	0,5
Phenanthren	0,454 +/- 0,007	91	1,5
Anthracen	0,524 +/- 0,010	105	1,8
Fluoranthen	0,507 +/- 0,004	101	0,8
Pyren	0,500 +/- 0,005	100	0,9
Benzo[a]anthracen	0,564 +/- 0,003	113	0,5
Chrysen	0,540 +/- 0,013	108	2,3
Benzo[b]fluoranthen	0,478 +/- 0,005	96	1,1
Benzo[k]fluoranthen	0,492 +/- 0,004	98	0,7
Benzo[a]pyren	0,514 +/- 0,002	103	0,3
Indeno[1,2,3-c,d]pyren	0,500 +/- 0,009	100	1,7
Benzo[g,h,i]perylen	0,509 +/- 0,013	102	2,6
Dibenzo[a,h]anthracen	0,431 +/- 0,017	86	3,9

Tabelle 14: Bestimmung der Wiederfindung nach Aufreinigung eines Mischstandards (500 µg/L) über die Kartuschen (1 g Kieselgel, Elution mit iso-Hexan)

Im direkten Vergleich sind die ermittelten Wiederfindungen der einzelnen Analyten nach Aufarbeitung über die Kieselgelkartuschen besser als die aus den Untersuchungen der manuell befüllten Glassäulen. Weiterhin kann gezeigt werden, dass der Petrolether (> 90 % Reinheit) durchaus mit iso-Hexan (≥ 99,8 % Reinheit) als Lösungsmittel ersetzt werden kann.

Weitere Untersuchungen belegten, dass bei einer Aufreinigung matrixbelasteter Extrakte mittels Kartuschen eine bessere Abtrennung der Interferenzen von den Analyten erreicht werden konnte. Als Beispiel sind in den anschließenden Abbildungen die Chromatogramme der Analysen für alle ausgewählten Massen der untersuchten EPA-PAK (Abb. 20) als auch beispielhaft die Einzelmassenspur für m/z 202 Da (Abb. 21) für die Aufreinigungsergebnisse des Extraktes eines unbekanntes Elastomers gezeigt.

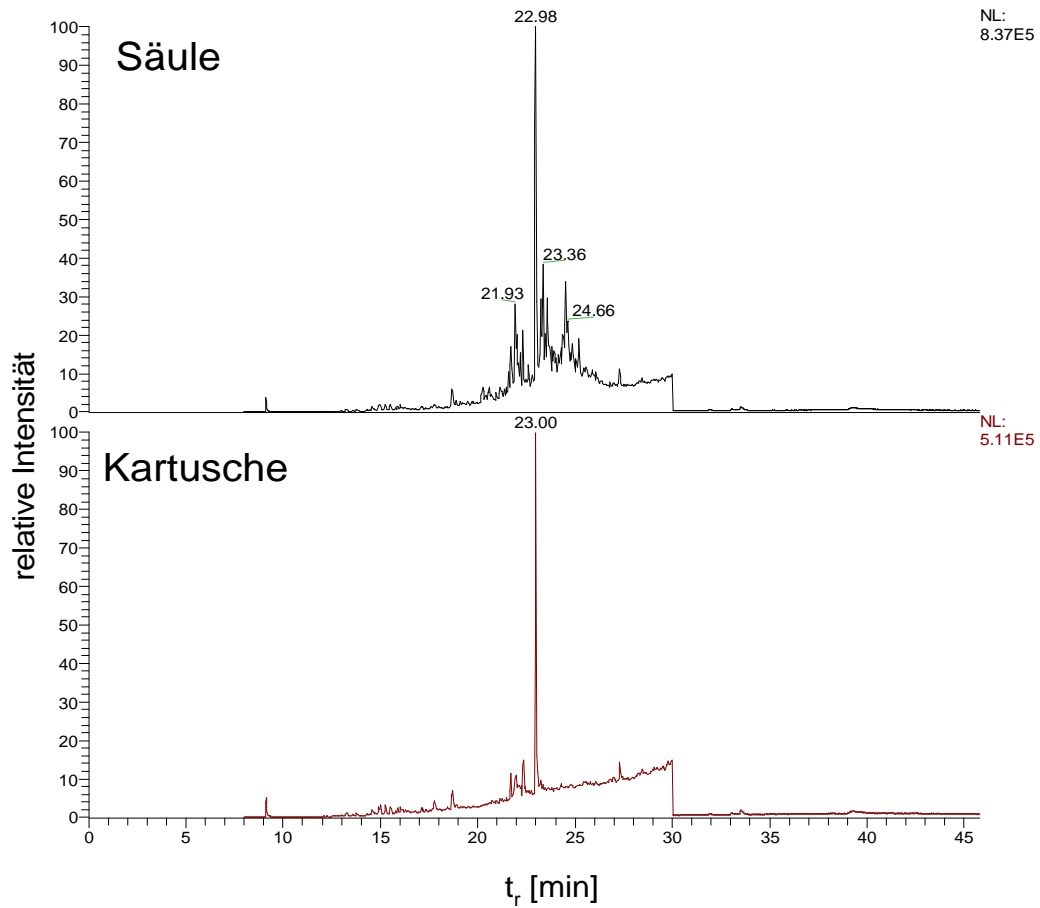


Abbildung 20: Qualitativer Vergleich der GC-MS-Analysen (SIC) für eine Aufreinigung eines Extraktes eines unbekanntes Elastomers über die manuell mit Kieselgel gepackten Glassäulen und den Kieselgel-Kartuschen [106], Thermo-System

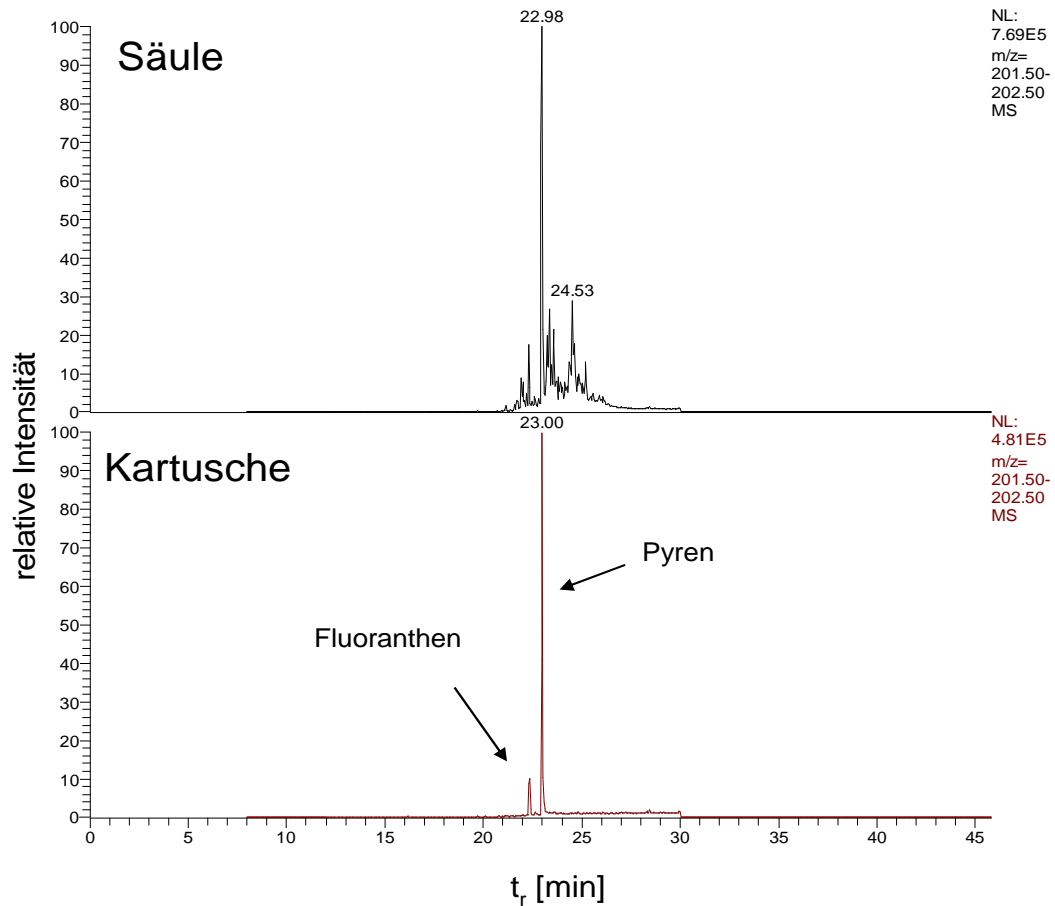


Abbildung 21: Qualitativer Vergleich der GC-MS-Analysen (Einzelmassenspur m/z 202 Da) für eine Aufreinigung eines Extraktes einer weichen Kunststoffprobe über die manuell mit Kieselgel gepackten Glassäulen und den Kieselgel-Kartuschen, Thermo-System

Mittels der vorgenommenen Optimierungen hinsichtlich Elutionsmittel und Material zur Aufreinigung wird in dem nachfolgenden Fließschema die Durchführung der optimierten Aufreinigung graphisch zusammengefasst:

Probenaufarbeitung

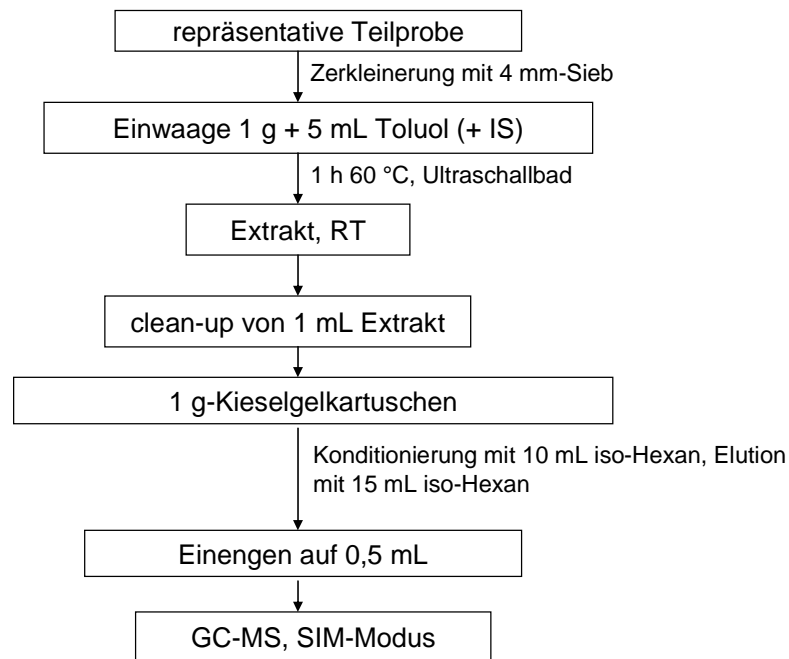


Abbildung 22: Fließschema für die optimierte Probenvorbereitung für Proben mit geringen Konzentrationen der 16 EPA-PAK

Trotz optimierter Aufreinigungsmethode traten dennoch bei einigen der Kunststoffextrakte weiterhin Matrixbeeinflussungen auf.

Da sich aufgrund der ähnlichen Polaritäten von Störsubstanzen und Analyten keine Abtrennung mittels Kieselgel (weder über die befüllten Glassäulen noch über die Kartuschen) erreichen ließ, wurden in Anlehnung an weitere Applikationen zur PAK-Analytik in komplexen Matrices diverser Kartuschen-Hersteller einige andere Sorbensmaterialien verwendet.

3.1.5.5 Modifizierte Kieselgele (Florisil und Cyanophasen)

Modifizierte Kieselgele wie das stark polare Florisil (MgO_3Si) oder die mittelpolare Cyanopropyl-Phase besitzen ähnliche Charakteristika wie Kieselgel. An den genannten Phasen finden Retentionen durch Dipol-Dipol-Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindungen statt. In Anlehnung an Applikationen für die

Aufreinigung von Bodenproben zur Bestimmung der PAK wurde eine Kombi-Phase (Cyano/SiOH) für die Aufreinigung verwendet [109]. Die Anwendung von Florisil Kartuschen wird für die Vorbereitung zur Bestimmung der Aromaten in Ölen beschrieben [110]. Die Vorgehensweisen sind in Kapitel 5.9 und 5.10 näher erläutert. Keine der beiden modifizierten Phasen war dazu geeignet, störende Matrixkomponenten zu eliminieren. Die Abbildungen 23, 24 und 25 zeigen die GC-MS-Analysen für den Extrakt eines Weich-Kunststoffes:

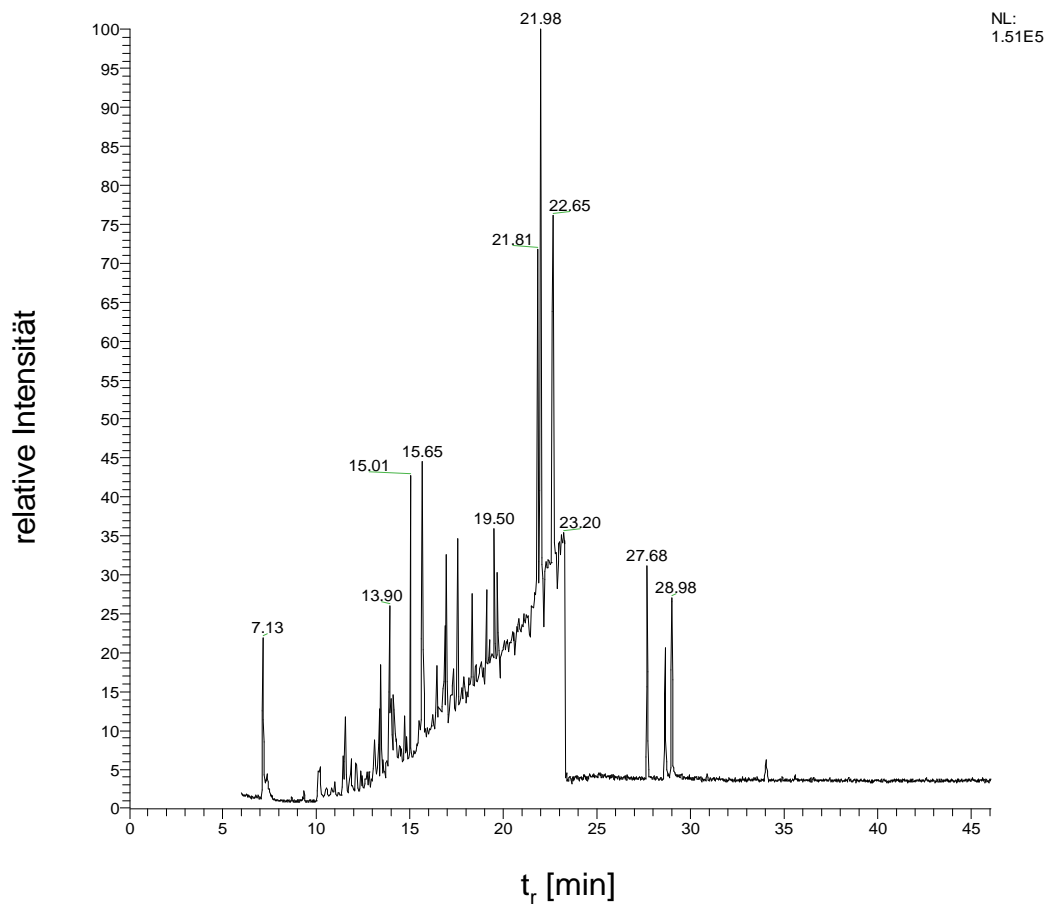


Abbildung 23: GC-MS-Analyse (SIC) eines Weich-Kunststoff-Extraktes, aufgearbeitet gemäß optimierter Aufreinigungsmethode über 1 g-Kieselgel-Kartuschen [106], Thermo-System

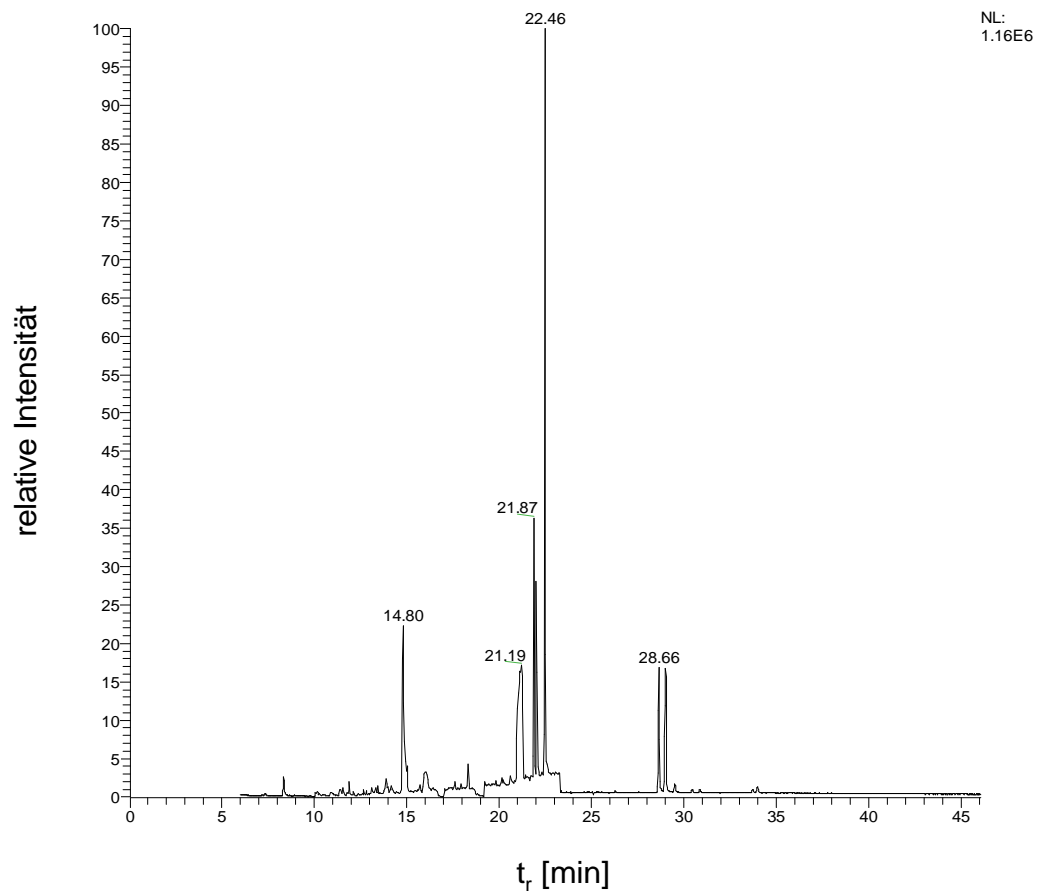


Abbildung 24: GC-MS-Analyse (SIC) eines Weich-Kunststoff-Extraktes, aufgearbeitet über eine Kombi-Phase aus Cyanopropoyl/SiOH [106, 109], Thermo-System

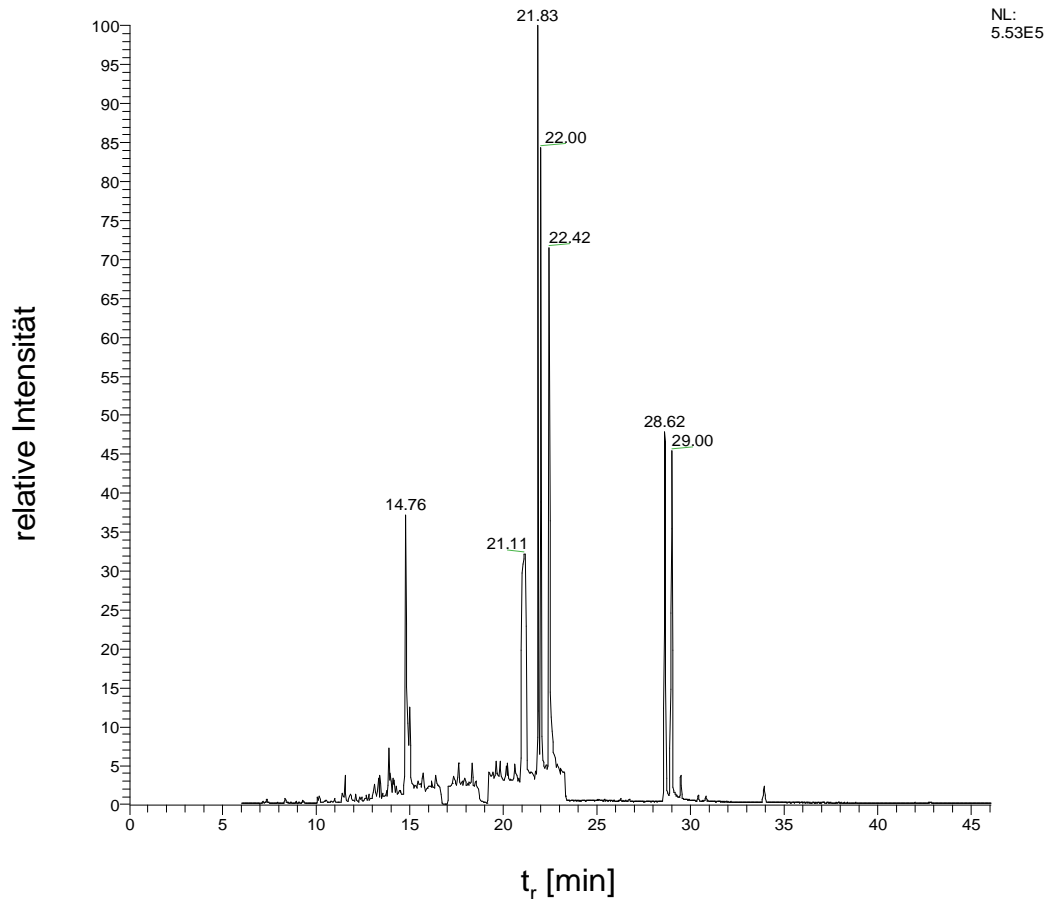


Abbildung 25: GC-MS-Analyse (SIC) eines Weich-Kunststoff-Extraktes, aufgearbeitet über eine 1 g-Florisil-Kartusche [106, 110], Thermo-System

3.1.5.6 Polymersorbentien (hypercrosslinked Polyvinylstyrol)

Polymerbasierende Sorbentien auf Basis von Polystyrol-Divinylbenzol können mit Aromaten π -Wechselwirkungen eingehen. Dadurch wird eine selektive Anreicherung der Aromaten aus einem unpolaren Medium (wie z.B. Hexan-Extrakten) erreicht [108]. Vorgenommene Untersuchungen mit zwei unterschiedlichen Kartuschen führten zu nicht reproduzierbaren Ergebnissen. Eine Elution der PAK bzw. deren deuterierten Verbindungen nach Anreicherung auf der Kartusche konnte nicht bei jeder der vorgenommenen Aufarbeitungen innerhalb der Dreifachbestimmung erreicht werden. Die Verwendung der Polymerkartuschen wurde nicht weiter verfolgt.

3.1.6 Probenzerkleinerung

Ein wichtiger Schritt in der Probenvorbereitung stellt neben der Aufreinigung von komplexen Matrices auch die Probenzerkleinerung dar. Eine saubere Probenvorbereitung und Analytkonservierung bei der Aufarbeitung gewährleisten eine quantitative Bestimmung des Gehaltes der zu untersuchenden Analyten. Dabei sollte die Probenvorbereitung separiert vom Ort der Analytik vorgenommen werden, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden. Unsachgemäßes Zerkleinern, bei der Reibung und somit auch eine Erwärmung des Probengutes entsteht, muss vermieden werden, um auch die flüchtigeren Verbindungen, hier besonders das Naphthalin, quantitativ ohne Verluste analysieren zu können.

Gemäß der bereits unter Kapitel 1.4.3 beschriebenen ZEK-Methode [71] wurde zu Beginn die Probenzerkleinerung manuell mittels diverser Werkzeuge vorgenommen. Bei dünnschichtigen, weichen Materialien, wie z.B. Folien oder dünnen Platten, konnte mit einer Schere das Material in die gewünschte Partikelgröße geschnitten werden. Bei härteren und bautechnisch geformten Materialien, wie z.B. sehr massiven Gegenständen mit asymmetrischen Formen, war die manuelle Probenzerkleinerung sehr kraft- und zeitintensiv, da die Zerkleinerung dabei vom ganzen Prüfkörper und nicht nur an den leicht zugänglichen Teilen des Materials erfolgen musste, um eine homogene und repräsentative Probennahme für die Extraktion zu gewährleisten.

Der Einsatz automatisierter Zerkleinerungseinheiten ermöglicht eine komplette und zeitsparende Zerkleinerung des Prüfkörpers mit annähernd homogener Partikeloberfläche und Größe. Je nach Beschaffenheit des zu untersuchenden Materials wird im Bereich der Probenvorbereitung eine Bandbreite an Zerkleinerungsapparaturen eingesetzt wie z.B. Schneid-, Schwing- und Kugelmühlen. Neu entwickelte Mühlen arbeiten mit einer automatisierten Kühlung, z.B. mittels flüssigen Stickstoffs, und führen so zur Konservierung flüchtiger Analyten, da einer Erwärmung des Mahlgutes entgegengewirkt wird.

Für verschiedene Kunststoffmaterialien kann eine Zerkleinerung mittels einer Schneidmühle vorgenommen werden. Dabei wird das Schneidgut an rotierenden Schneiden vorbeigeführt und schonend in die gewünschte Partikelgröße zerkleinert, die durch Auswahl diverser Sieblochungen gewählt werden kann. Nach einer groben

Vorzerkleinerung kann im Anschluss eine Feinvermahlung, beispielsweise mit einer Kugelmühle, zur Vergrößerung der Partikeloberfläche vorgenommen werden.

Untersuchungen zur Vergleichbarkeit der Partikelgrößen und Extraktionsausbeuten wurden bereits von Hamm et al. [34] durchgeführt. Dabei konnte z.B. bei Gummi-Proben gezeigt werden, dass ein zusätzlicher Feinzerkleinerungsschritt nicht mit einer erhöhten Extraktionsausbeute einhergeht. Diese Feinvermahlung beinhaltet nur einen zusätzlichen Kosten- und Zeitfaktor. Eine Zerkleinerung mittels Schneidapparaturen erwies sich als durchaus ausreichend [34].

Bei Probenmaterialien wie z.B. Acrylnitril-Butadien-Styrol-Polymeren, die sich vollständig in Toluol lösen, ist eine komplette Feinzerkleinerung ohnehin nicht notwendig [106].

Für die Durchführung der Arbeit wurde eine Schneidmühle der Firma Retsch verwendet, um die diversen Bedarfsgegenstände und anderen Kunststoffe zu zerkleinern. Durch einen guten Zugang in den Rotor kann die Schneidmühle zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen einfach gereinigt werden. Vereinzelt eingetragene Fremdpartikel aus dem Auslaufstutzen waren im zerkleinerten Material erkennbar und konnten mit Hilfe einer Pinzette entfernt werden. Eine Kreuzkontamination war bei diesen vereinzelt Fremdparkeln nicht zu erwarten.

Durch den robusten Geräteaufbau konnte auch weiches, flexibles Material direkt nach der Versprödung (durch Eintauchen des Probenmaterials in flüssigen Stickstoff) zur Zerkleinerung in den Schneidgang gegeben werden. Proben, die sonst zu elastisch für die Schneidmühle waren und im Schneidgang eher verschmiert als geschnitten wurden, konnten durch die kurzfristige Versprödung analog zu Hartkunststoffen zerkleinert werden. Durch hoch gewählte Zerkleinerungsgeschwindigkeiten wird das spezifische Probenmaterial schnell zerkleinert, sodass das Probenmaterial kaum eine Erwärmung erfährt.

Durch den Einsatz der Schneidmühle konnten die meisten Materialien automatisiert zerschnitten werden. Bei zu geringer Probenmenge wurde die Zerkleinerung weiterhin manuell vorgenommen, um eine möglichst hohe Materialausbeute zu erhalten. Zur Vorbereitung für die Zerkleinerung wurden die zu untersuchenden Materialien von allen Metallteilen und nicht zu analysierenden Behaftungen getrennt. Durch die Möglichkeit, die komplette Probe in den Schneidgang zu überführen, war keine weitere aufwendige Vorbehandlung mehr nötig, um ein homogenes Schneidgut zu erhalten.

Abbildung 26 veranschaulicht den Vorgang bei der Zerkleinerung mittels der in dieser Arbeit verwendeten Schneidmühle SM 300 der Firma Retsch [111]:

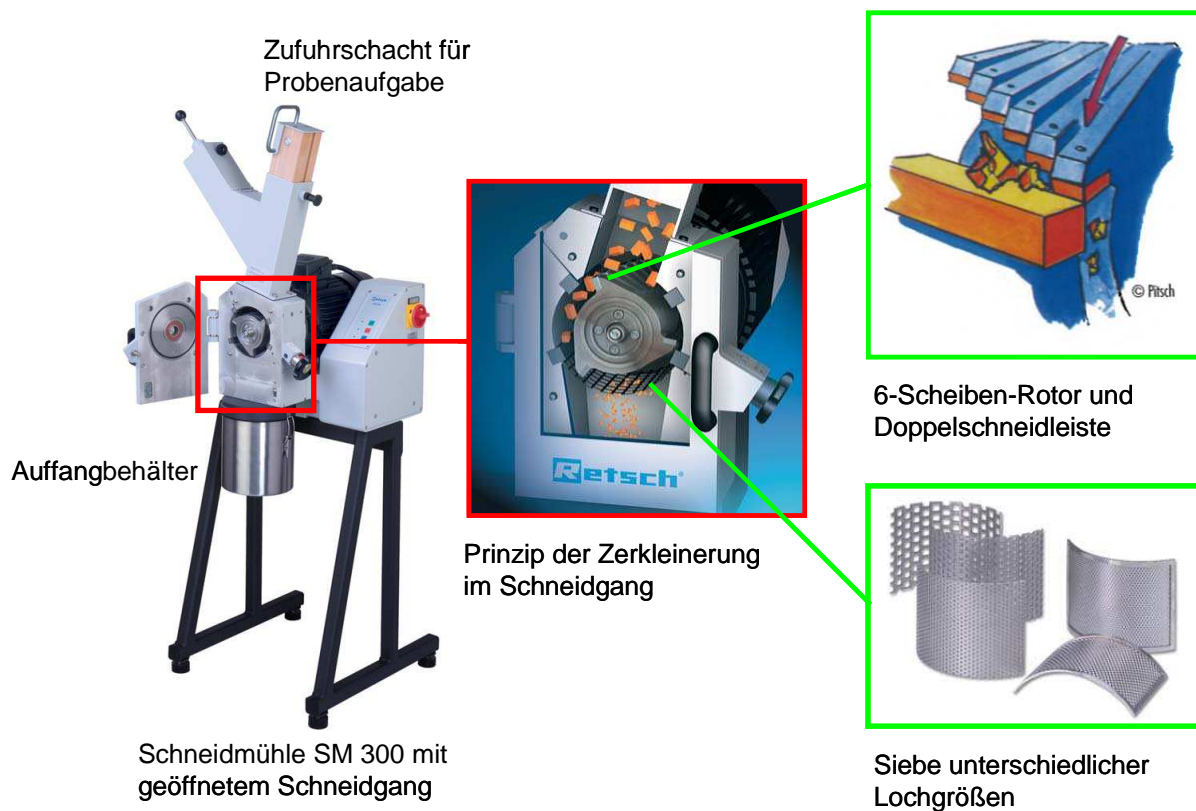


Abbildung 26: Zerkleinerung mit der Schneidmühle SM 300 der Firma Retsch, aus [111]

Das über den Zufuhrschacht eingeführte Probenmaterial wird zwischen dem 6-Scheiben-Rotor und den im Gehäuse angebrachten Doppelschneidleisten durch Schneiden und Scheren zerkleinert. Die Drehzahl des Parallelschnitt-Rotors kann variabel zwischen 700 bis 3000 min^{-1} eingestellt werden. Eine höhere Drehzahl bedeutet eine kürzere Verweildauer in der Mühle und geringere bis nahezu keine Erwärmung. Sie richtet sich allerdings nach der Probenbeschaffenheit und Härte. Durch Einsatz diverser Siebe mit Trapez- oder Quadratlochung unterschiedlicher Größen kann die Partikelgröße variiert werden, da nur die Partikel entsprechender Größe durch das Sieb in den darunter befindlichen Auffangbehälter fallen. Anstatt eines großen Auffangbehälters können an dieser Stelle auch direkt die Probengefäße eingehangen werden, sodass eine weitere Überführung des aufgefangenen Schneidgutes nicht vorzunehmen ist.

Für ein sehr hartes Material, das sich nicht vollständig in dem Extraktionsmittel löst, wurde der Einfluss der Partikelgröße auf die Extrahierbarkeit der Analyten untersucht. Für einen Vergleich der einzelnen Partikelgrößen und einer Gegenüberstellung der Ergebnisse wurde ein dafür schwarz eingefärbter Hartkunststoff gewählt. Die erhaltenen Ergebnisse sollten als Aussage zur Wahl der Siebgröße für alle weiteren Vermahlungen dienen. Für die Untersuchung wurden dazu Siebe mit einer Quadratlochgröße von 2, 4 und 10 mm verwendet. Die Wahl der Sieblochgrößen erfolgte gemäß nachfolgenden Kriterien:

- Bei einer Siebgröße von 2 mm passieren nur kleine Teile mit einem maximalen Durchmesser von 2 mm das Sieb, was nahezu einer Vermahlung gleichkommt.
- Durch die Wahl der 4 mm Lochung werden Teilchengrößen von < 4 mm erhalten. Die durchschnittliche Verteilung der Partikelgrößen liegt im Hauptanteil bei einer Größe von 2-3 mm, sodass somit der geforderten Partikelgröße der ZEK-Methode entsprochen wird.
- Das 10 mm Sieb wurde ausgewählt, um die manuelle Zerkleinerung mittels Schere und Zange darzustellen. Die Partikel besitzen je nach Material dabei eine Kantenlänge zwischen 6 und 8 mm.

Die Probenaufarbeitung der Schneidgüter unterschiedlicher Partikelgrößen erfolgte nach der bereits optimierten Extraktion und Aufreinigung in einer Dreifachbestimmung. In dem untersuchten Material konnten 12 der 16 EPA-PAK identifiziert werden. In Tabelle 15 werden die erhaltenen Ergebnisse zusammenfassend dargestellt:

PAK	Lochgröße		
	2 mm	4 mm	10 mm
	Gehalt [mg/kg]		
Naphthalin	0,726 +/- 0,017	0,738 +/- 0,011	0,687 +/- 0,007
Acenaphten	0,247 +/- 0,021	0,236 +/- 0,023	0,240 +/- 0,007
Fluoren	0,250 +/- 0,025	0,237 +/- 0,020	0,235 +/- 0,010
Anthracen	0,543 +/- 0,037	0,517 +/- 0,010	0,524 +/- 0,024
Benzo[a]anthracen	1,270 +/- 0,077	1,303 +/- 0,076	1,306 +/- 0,148
Chrysen	1,224 +/- 0,023	1,261 +/- 0,060	1,071 +/- 0,041
Benzo[b]fluoranthen	0,554 +/- 0,023	0,525 +/- 0,044	0,461 +/- 0,030
Benzo[k]fluoranthen	0,483 +/- 0,036	0,438 +/- 0,018	0,462 +/- 0,034
Benzo[a]pyren	1,014 +/- 0,020	1,041 +/- 0,045	0,937 +/- 0,024

Tabelle 15: Ergebnisse der Gehaltsbestimmung für die Zerkleinerungsversuche

Die Ergebnisse der Gehaltsbestimmungen für Acenaphthylen, Phenanthren und Fluoranthen lagen oberhalb der Kalibrierreihe und werden somit in Tabelle 15 nicht weiter aufgelistet. Die bestimmten Gehalte weichen beim Naphthalin bei den 10 mm großen Partikeln etwas ab. Für eine Zerkleinerung und anschließenden quantitativen Bestimmung sind alle drei Siebe geeignet. Für die höhermolekularen Analyten wirkt sich ein kleineres Oberflächen/Extraktionsvolumen-Verhältnis der Partikel, welche aus der Zerkleinerung mit der 10 mm Quadratlochgröße resultieren, in einer vergleichbar niedrigeren Extraktionsausbeute aus.

Die Verwendung der 2 mm Lochung und der 4 mm Lochung zeigen keine großen Unterschiede, sodass zwecks Reduzierung der Verweildauer der Proben für künftige Zerkleinerungen der Materialien die 4 mm Lochung verwendet wurde.

3.1.7 Abhängigkeit der Matrixprobleme von der Polymerbeschaffenheit

Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Materialien waren unterschiedlichster Art und konnten allen der drei in der ZEK-Methode genannten Kategorien zugeordnet werden. Dabei handelte es sich sowohl um sehr harte und spröde Kunststoffe als

auch sehr weiche Elastomere und Gummi-Materialien in den unterschiedlichsten Einfärbungen. Ihr Extraktionsverhalten erwies sich im Einzelnen als sehr different. Während Polymere aus z.B. Acrylnitril, Butadien und Styrol (ABS) vollständig in dem Extraktionsmittel Toluol gelöst werden konnten, wurden bei dem zerkleinerten Probengut von härteren Kunststoffen (z.B. aus Polypropylen) nach der Extraktion im Ultraschallbad keine optischen Veränderungen der Partikel sichtbar. Im Falle von ABS konnte somit von einer vollständigen Extraktion ausgegangen werden, bei den anderen, ungelösten Materialien war jene nur anzunehmen. Elastomere und sehr weiche Materialien zeigten untereinander weiterhin ebenfalls unterschiedliche Löse- bzw. Extraktionsverhalten.

Besonders bei Probenmaterialien, die bereits etwas angelöst wurden, war die Aufreinigung von Bedeutung. In den überwiegenden Fällen konnten in diesen Extrakten mittels dem beschriebenen clean-up über die SPE-Kartuschen die Analyten von störender Matrix getrennt werden. Wenige zeigten, obwohl optisch keine Verunreinigungen der Injektionslösungen auffällig waren, Interferenzen mit einigen der zu untersuchenden Analyten, besonders im Bereich der mittelmolekularen Massen. Diese bereits in den vorangehenden Kapiteln beschriebenen Interferenzen konnten für die Extrakte der Hartkunststoffe nicht festgestellt werden.

3.1.8 Diskussion der Ergebnisse

Die gaschromatographische Bestimmungsmethode wurde an dem zur Verfügung stehendem GC-MS-System durchgeführt. Über die Kalibrierungen der einzelnen Standards und die Wiederholmessungen der jeweiligen Analyten in Form von Kontrollstandards konnte das Messverfahren validiert werden. Die in der ZEK-Methode genannten Vorgaben an die Analytik und die Kenndaten wurden mit der zuvor beschriebenen optimierten Methodik erreicht.

In einzelnen Schritten wurden die Methoden-Parameter für die Anwendung in einem Routine-Labor optimiert. Im Rahmen dieser Arbeit wurde dazu unter anderem der Parameter der Probenvorbereitung eingehender betrachtet. Die Zerkleinerung als Probenvorbereitung wurde durch den Einsatz einer Schneidmühle automatisiert. Der Zeit- und Arbeitsaufwand für die Zerkleinerung wird gegenüber einer manuellen

Zerkleinerung mittels Schere oder anderen Werkzeugen deutlich verringert. Die Robustheit des Systems erlaubt nicht nur die Zerkleinerung sehr harter Materialien zu homogenen Probenpartikeln in variablen Größen, sondern auch das Zerschneiden sehr weicher Materialien nach kurzzeitiger Versprödung durch Eintauchen der Polymerproben in flüssigen Stickstoff. Kleinere Probenmengen oder für die Schneidmühle ungeeignete Materialien wie z.B. Folien oder Lacke, mussten weiterhin von Hand vorbereitet werden [106].

Die in der Methode für die Aufreinigung der Probenextrakte beschriebene Vorgehensweise über die mit Kieselgel zu befüllenden Glassäulen konnte für den angestrebten Analysenzweck und den zu erwartenden Konzentrationsbereichen auf kommerziell erhältliche Kieselgelkartuschen übertragen werden. Dadurch wird neben dem Zeitaufwand auch die benötigte Chemikalienmenge minimiert. Die Reinigung der einzelnen Glaswaren wird durch die Verwendung der Einmalartikel reduziert. Die Aufreinigung über die maschinell dichter gepackten Kartuschen erweist sich zudem als effektiver.

Einige weiche Materialien weisen bei der gaschromatographischen Analyse im mittelmolekularen Bereich der Analyten Interferenzen bei der Analytik durch mitextrahierte Matrixkomponenten auf. Diese Interferenzen treten unabhängig von den gewählten Aufreinigungsmethoden auf und konnten auch nicht durch andere alternative Sorbentien abgetrennt werden. Da sich diese Substanzen nicht wesentlich in ihrer Polarität und in ihren Dampfdrücken von denen der EPA-PAK unterscheiden, konnte nicht für jedes dieser komplexen Polymere eine eindeutige Quali- und Quantifizierung erfolgen.

Während der gesamten Arbeit wurde für die jeweiligen Vergleichsuntersuchungen nach einem zertifizierten Material gesucht. Allerdings konnte kein dotiertes Material bezogen werden, sodass sämtliche Vergleiche, mit vorliegenden Proben die für die entsprechenden Fragestellungen geeignet schienen, durchgeführt wurden.

3.2 Comprehensive zweidimensionale Gaschromatographie

Eine Abtrennung von Matrix konnte trotz der vorab beschriebenen Aufreinigungsschritte nicht für jedes Material vollständig erreicht werden. Eine eindeutige Auswertung aller Analyten ist durch die Überlagerung mit Substanzen ähnlicher Dampfdrücke und molaren Massen nicht für jeden Kunststoff- bzw. Elastomer-Extrakt möglich. Neben der Aufreinigung der Probenextrakte kann auch apparativ, durch Verlängerung der gaschromatographischen Analysenzeit und Variation des Temperaturprogramms, eine verbesserte Trennung zwischen Matrix und Analyten erreicht werden. Auch die Auswahl von Kapillarsäulen unterschiedlicher Belegungen kann aufgrund der unterschiedlichen Wechselwirkungen der Analyten bzw. der unbekanntem Matrixbestandteile mit der stationären Phase für eine instrumentelle Auftrennung genutzt werden. Diese Anpassung der Analysenparameter muss allerdings für jede der einzelnen, meist unbekanntem, Matrizes vorgenommen werden.

Eine Optimierung hinsichtlich der genannten Temperaturprogramme und den verwendeten Trennsäulen kann im Routinebetrieb bei mehreren zu untersuchenden Proben nicht für jede Matrix spezifisch erfolgen. Weiterhin müssen erneute Co-Elutionen der zuvor erfolgreich getrennten Analytpaare, wie z.B. der Benzofluoranthene, befürchtet werden. Zudem kann die Wahl längerer Analysenzeiten in Kombination mit langsameren Aufheizraten besonders bei den höhermolekularen Verbindungen zu einer Verbreiterung der Signalformen führen.

Wie die vorausgegangenen eindimensionalen Messungen gezeigt haben, wurden vorwiegend die Analyten mit den molaren Massen zwischen m/z 178 und 228 Da durch andere unbekanntem, mitextrahierte Substanzen gleicher molarer Massen, Polaritäten und Dampfdrücke gestört.

Neben den klassischen Aufreinigungsmethoden ist die Anwendung der multidimensionalen Gaschromatographie bei solchen Matrixproblemen eine mögliche Option. Mit Hilfe dieser Systemanordnung kann neben der Bestimmung komplexer Substanzgemische auch eine instrumentell erzielte Abtrennung der Matrix von den zu betrachtenden Analyten ausgenutzt werden. Die einzelnen Ausschnitte der Analysen von Interesse, hier z.B. die einzelnen Untersuchungsabschnitte der Analyten mit molaren Massen zwischen m/z 178 und 228 Da, können dabei fraktioniert auf eine oder auch mehrere Trennsäulen unterschiedlicher Belegung

überführt werden. Dabei wird die Trennung nach Dampfdrücken, von derjenigen durch die verschiedenen Wechselwirkungen mit den unterschiedlichen eingesetzten stationären Phasen bedingte, entkoppelt. Mit einem Massenspektrometer als Detektor ist ebenfalls eine Qualifizierung einiger störender Substanzen möglich. Dadurch könnten auch Rückschlüsse auf typische Substanzklassen und somit Hinweise auf problematische Matrices gezogen werden.

Da sich die Analysenzeiten mit jeder Überführung von der ersten auf alle weiteren Dimensionen innerhalb dieser multidimensionalen Kopplung addieren, ist die zu erwartende Gesamtdauer der Analyse allerdings lang. Durch den Einsatz der comprehensiven zweidimensionalen Technik verlängert sich die Analysenzeit im direkten Vergleich zur eindimensionalen Chromatographie nur unwesentlich. Zusätzlich wird bei dieser Technik die Analyse des gesamten Extraktes und nicht nur die der ausgewählten Teilabschnitte aus einem Chromatogramm, ermöglicht.

Für die Untersuchungen in dieser Arbeit wurden zwei comprehensive zweidimensionale Geräteanordnungen verwendet. Das System der Firma Shimadzu unterscheidet sich in einigen Teilen zu dem der Firma LECO. Die bereits zuvor in Kapitel 1.5.3 beschriebenen Unterschiede sind in nachfolgender Tabelle 16 zur Übersicht erneut zusammengefasst:

Parameter	System von Shimadzu	System von LECO
Säulenofen	<p>ein Ofen</p> <ul style="list-style-type: none"> • beide Trennsäulen befinden sich in einem Ofen • beide Trennsäulen werden parallel mit gleichen Temperaturen aufgeheizt 	<p>zwei Öfen</p> <ul style="list-style-type: none"> • im großen GC-Ofen befindet sich ein zweiter Säulenofen mit der Trennsäule der zweiten Dimension • die Trennsäulen können getrennt voneinander mit unterschiedlichen Temperaturen geheizt werden
Modulator	2 Jet-Modulator	4 Jet-Modulator
Detektor	Quadrupol-MS	(TOF)MS

Tabelle 16: Unterschiede zwischen den beiden verwendeten GCxGC-Systemen

Für beide Systeme wurde für die Modulation Stickstoff (flüssig und gasförmig) und Helium als Trägergas verwendet. Anlehnend an Teile der Optimierungsarbeiten von Taheri [112] wurden erste Analysen bei beiden Systemen mit einigen dieser Parametern begonnen.

3.2.1 Shimadzu-System

3.2.1.1 Einführung der Methode und Analyse von Standardlösungen

Die von Taheri [112] optimierten Geräteparameter konnten für das Shimadzu-System nicht komplett analog übernommen werden, da das System wie bereits beschrieben nicht über zwei separate Säulenöfen verfügt.

Für die weiteren Analysen wurden deshalb schrittweise die Anfangstemperaturen, die Aufheizraten, das Temperaturprogramm, die Modulationszeiten und die Gesamtanalysenzeit zur Optimierung der Trennung des Mischstandards variiert. In Abbildung 27 ist das Chromatogramm des Mischstandards nach Optimierung dargestellt (Parameter s. Kap. 5.14.1):

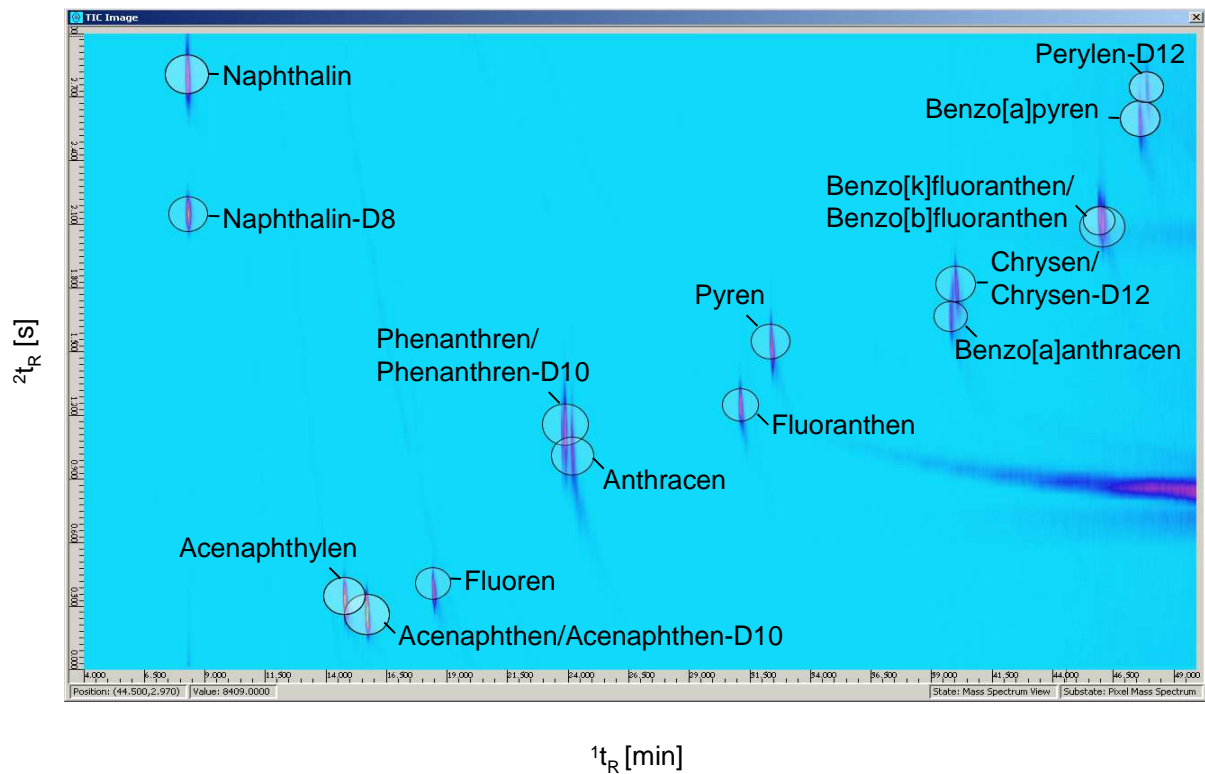


Abbildung 27: GCxGC-MS-Analyse (TIC) der 18 PAK, Konzentration 500 µg/L, Shimadzu-System

Obwohl ein Mischstandard aus den 16 EPA-PAKs und den 5 deuterierten Verbindungen injiziert wurde, konnten nur 18 der insgesamt 21 Zielsubstanzen qualifiziert werden. Die höhermolekularen Verbindungen Indeno[1,2,3-c,d]pyren, Benzo[g,h,i]perylen und Dibenzo[a,h]anthracen konnten in den für die Bestimmung ausgewählten Konzentrationsbereichen der Standards nicht eindeutig nachgewiesen werden. Das starke Säulenbluten und die damit verbundene Überladung bei längeren Analysenzeiten und erhöhten Temperaturen erschwerten deren eindeutige Qualifizierung.

PAK	¹ t _R [min]	² t _R [s]
Naphthalin	8,25	2,79
Naphthalin-D8	8,30	2,13
Acenaphthylen	14,75	0,33
Acenaphthen-D10	15,75	0,25
Acenaphthen	15,70	0,24
Fluoren	18,40	0,36
Phenanthren	23,85	1,14
Phenanthren-D10	23,95	1,10
Anthracen	24,15	0,99
Fluoranthen	31,05	1,23
Pyren	32,35	1,50
Benzo[a]anthracen	39,70	1,65
Chrysen	40,00	1,80
Chrysen-D12	40,55	1,94
Benzo[b]fluoranthen	45,80	2,07
Benzo[k]fluoranthen	46,00	2,07
Benzo[a]pyren	47,55	2,58
Perylen-D12	47,85	2,73
Indeno[1,2,3-c,d]pyren	-	-
Benzo[g,h,i]perylen	-	-
Dibenzo[a,h]anthracen	-	-

Tabelle 17: Qualifizierung der 18 PAK, Konzentration 500 µg/L, Shimadzu-System

In Abhängigkeit ihrer Dampfdrücke eluieren die Analyten von der unpolaren Trennsäule der ersten Dimension (¹D). Naphthalin und dessen deuterierte Verbindung eluieren erst nach über 2 s von der mittelpolaren Trennsäule der zweiten Dimension (²D). Die Retentionszeiten aller weiteren Analyten sind länger als ein Modulationszyklus von 3 s, sie werden erst in der darauf folgenden Fraktion detektiert. Die typische orthogonale Verteilung ist in dem Chromatogramm erst ab Acenaphthylen zu erkennen. Da dieser wrap-around keinen Einfluss auf die Trennung der einzelnen Analyten zeigt, wurde die Modulationszeit für die wenigen weiteren Analysen nicht erhöht.

3.2.1.2 Analyse von Kunststoffextrakten

Für eine Einschätzung der Eignung der comprehensive zweidimensionalen Trenntechnik zur Trennung der Matrixbestandteile von den Analyten wurden einige Extrakte in das System injiziert, auch wenn die Detektion der drei höhermolekularen Verbindungen Indeno[1,2,3-c,d]pyren, Benzo[g,h,i]perylen und Dibenzo[a,h]anthracen nicht möglich war. In den vorherigen eindimensionalen Analysen konnte eine Störung durch Überlagerung mit Matrixinhaltsstoffen bei diesen höhermolekularen Aromaten nicht festgestellt werden. Der Fokus der GCxGC-Analysen lag auf den Verbindungen im Massenbereich zwischen m/z 178 und 228 Da, deren Auswertung am häufigsten Störungen unterliegen.

Für die Bestimmung wurden einige matrixbelastete Probenextrakte untersucht, die bei den eindimensionalen Untersuchungen Auswerteprobleme aufgezeigt haben. Zwei dieser ausgewählten Probenextrakte wurden aus Materialien erhalten, die auf demselben elastischen Grundmaterial basieren, allerdings unterschiedlich eingefärbt worden sind (farblos/weiß und schwarz). Beide stellen Verbraucherprodukte der Kategorie 3 dar, da sie im kurzzeitigen Hautkontakt unter 30 s sind. Abbildung 28 zeigt die zerkleinerten Materialien nach Versprödung mit flüssigem Stickstoff und Zerkleinerung mit der Schneidmühle SM 300 (4 mm Sieb):



Abbildung 28: Zwei elastische Materialien nach Versprödung und Zerkleinerung mittels Schneidmühle SM 300

3.2.1.3 Eindimensionale Analyse von Kunststoffextrakten

Die nachfolgenden Chromatogramme in den Abbildungen 29 und 30 zeigen die eindimensionale Auswertung im Massenbereich von m/z 120 – 310 Da (Abb. 29) und die Einzelmassenspur m/z 202 Da (Abb. 30) des Extraktes des schwarzen Materials nach Probenaufarbeitung gemäß der Methode ZEK 01.2-08 [71]:

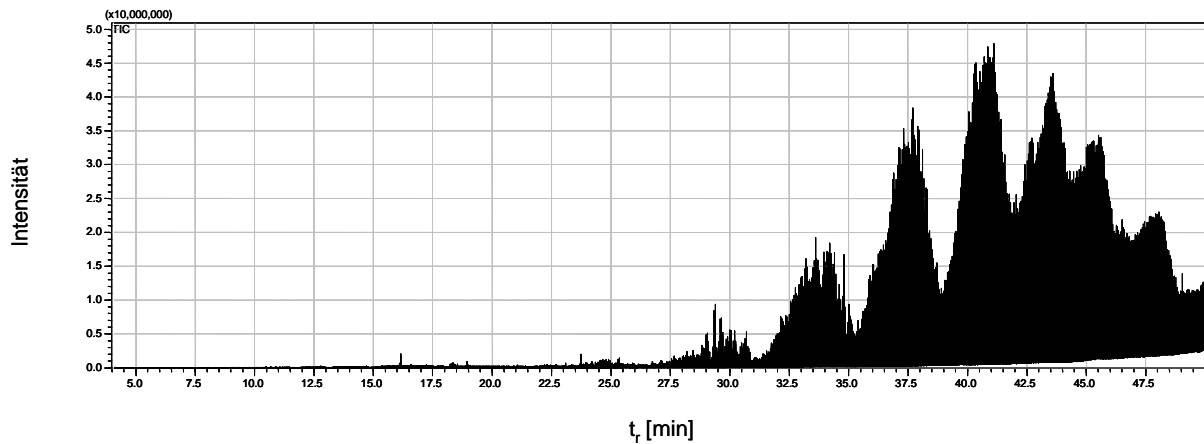


Abbildung 29: GC-MS-Analyse (TIC) des Massenbereiches m/z 120 – 310 Da vom schwarzen Material, aufgearbeitet nach Methode ZEK 01.2-08 [71], Shimadzu-System

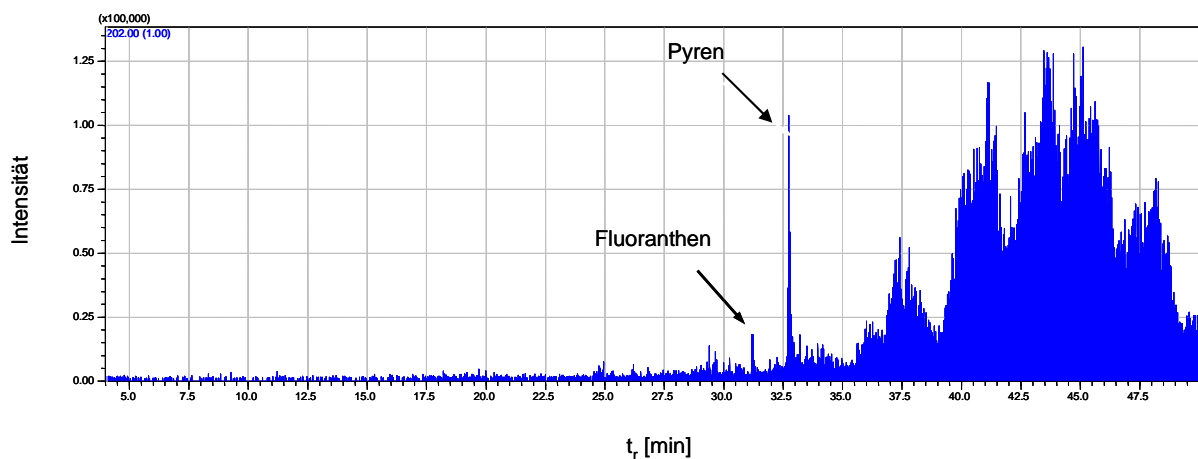


Abbildung 30: GC-MS-Analyse (EIC) der Einzelmassenspur m/z 202 Da vom schwarzen Material, aufgearbeitet nach Methode ZEK 01.2-08 [71], Shimadzu-System

Beide Analysen zeigen deutliche Matrixinterferenzen auf. In Abbildung 30 konnten auf der Einzelmassenspur m/z 202 Da Fluoranthren und Pyren nach Datenbank- und Retentionszeitabgleich qualifiziert werden. Eine eindeutige quantitative Aussage kann aufgrund anderer, störender Matrixkomponenten weiterhin nicht erfolgen.

3.2.1.4 GCxGC-Analyse von Kunststoffextrakten

Mittels GCxGC-Trenntechnik konnten die Interferenzen von den Analyten getrennt werden, was in den nachstehenden Abbildungen 31 und 32 nach Analyse des Extraktes des schwarzen Materials gezeigt wird:

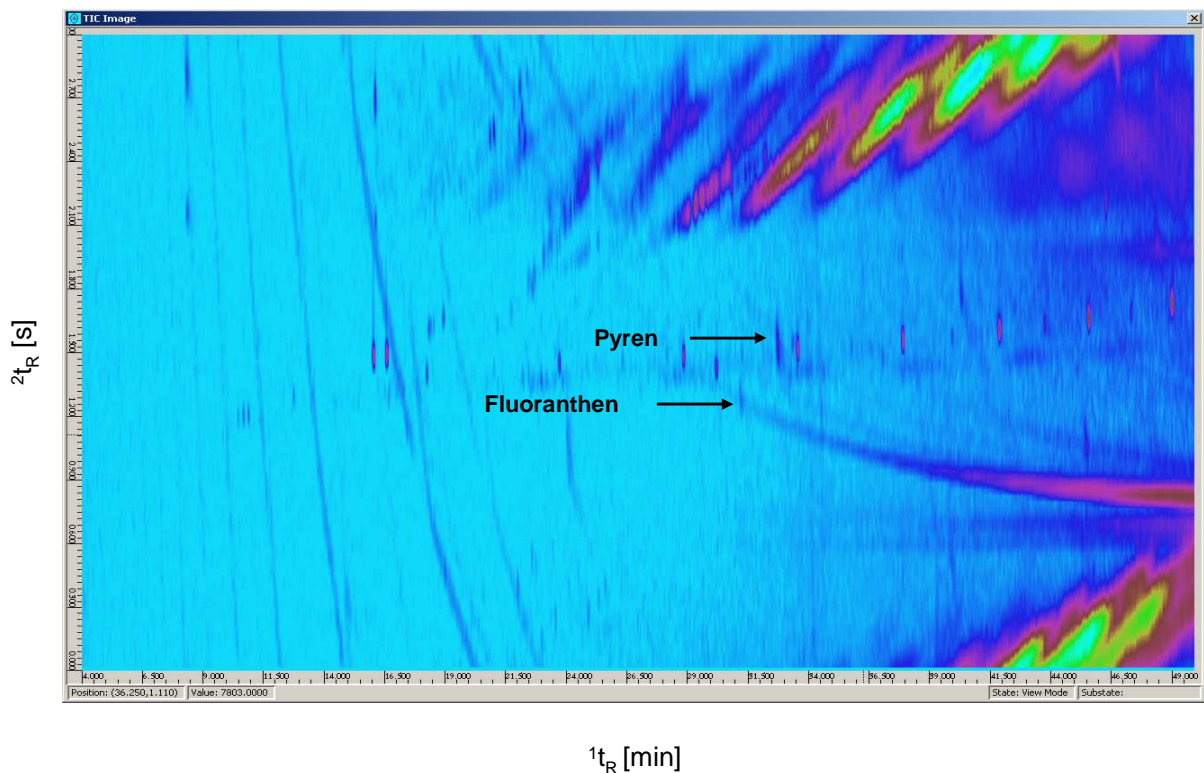


Abbildung 31: GCxGC-MS-Analyse (TIC) des Massenbereiches m/z 120 – 310 Da vom schwarzen Material, aufgearbeitet nach Methode ZEK 01.2-08 [71], Shimadzu-System

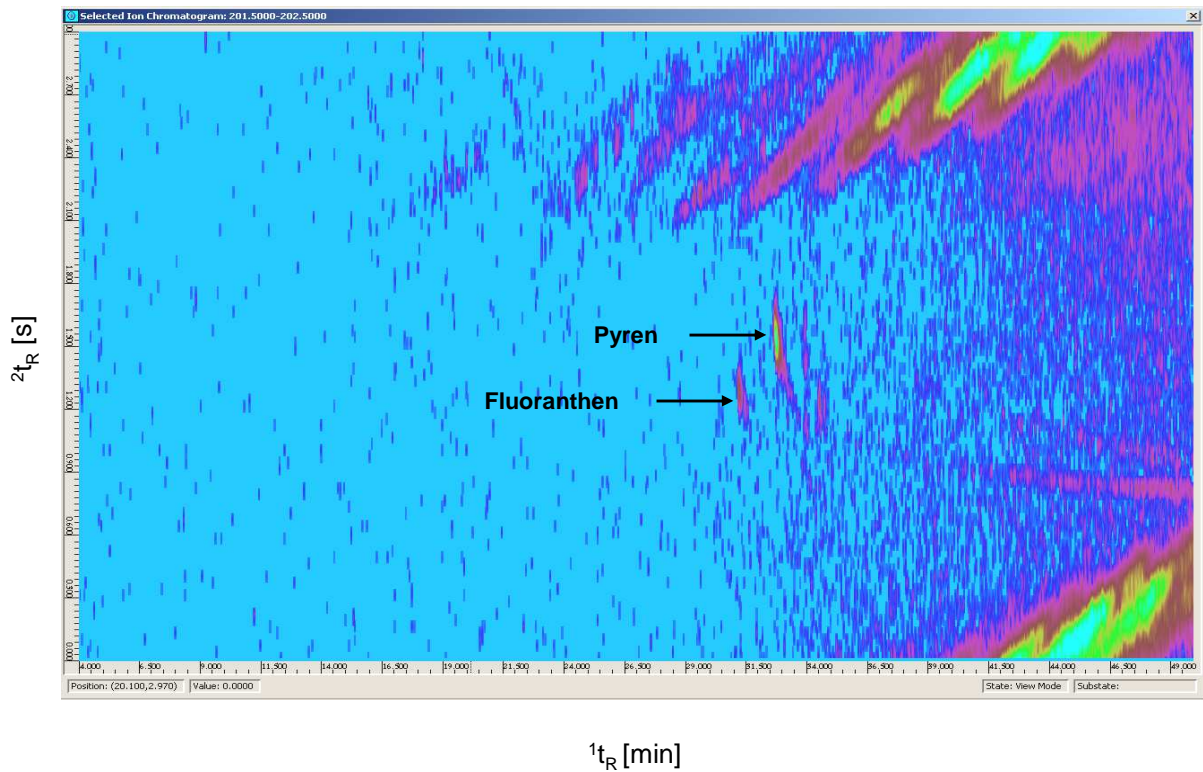


Abbildung 32: GCxGC-MS-Analyse (EIC) der Einzelmassenspur m/z 202 Da vom schwarzen Material, aufgearbeitet nach Methode ZEK 01.2-08 [71], Shimadzu-System

Die Co-Elution der Matrixkomponenten mit den Analyten, hier am Beispiel von Pyren und Fluoranthren, erfolgte nur in der 1^D , da sich ihre Dampfdrücke nicht von einander unterschieden. Erfolgte die Fraktionierung der einzelnen Abschnitte auf die Trennkapillare der 2^D , erfuhren die Analyten und die Matrixkomponenten unterschiedliche Wechselwirkungen mit der mittelpolaren stationären Phase und es kam zu einer Auftrennung der einzelnen Bestandteile im Fenster eines Modulationszyklusses. Weiterhin ist ein wrap-around der Matrixkomponenten zu erkennen, der die Auswertung der Zielsubstanzen jedoch nicht weiter beeinträchtigt hat.

Die mitextrahierten Matrixkomponenten zeigen teilweise eine orthogonale Verteilung im 2D-Plot auf, was auf das Vorhandensein von Kongeneren und/oder Isomeren hinweist. Eine eindeutige Identifizierung und Zuordnung dieser Gruppen mittels Datenbank war durch die Überladung nicht möglich.

Vergleicht man die Analysen der beiden Extrakte, die aus den gleichen Grundmaterialien unterschiedlicher Einfärbung erhalten wurden, so sind Differenzen erkennbar.

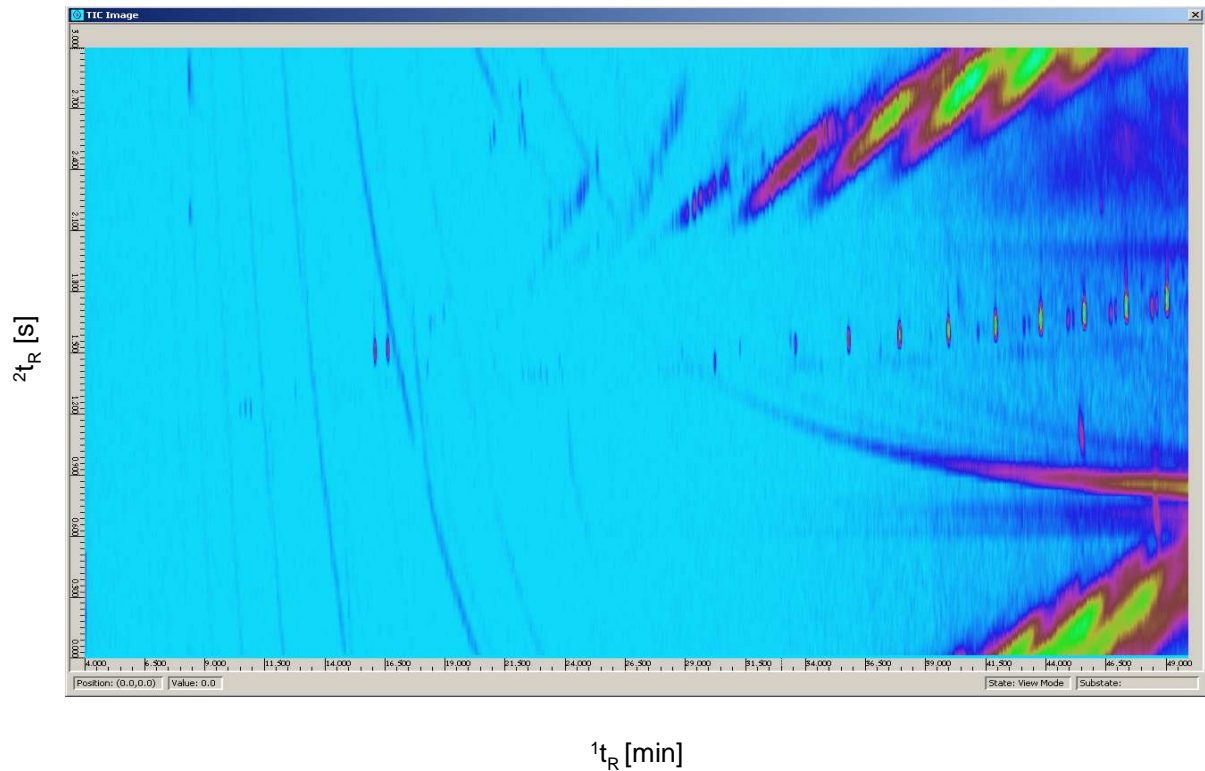


Abbildung 33: GCxGC-MS-Analyse (TIC) des Massenbereiches m/z 120 - 310 Da vom farblos weißen Material, aufgearbeitet nach Methode ZEK 01.2-08 [71], Shimadzu-System

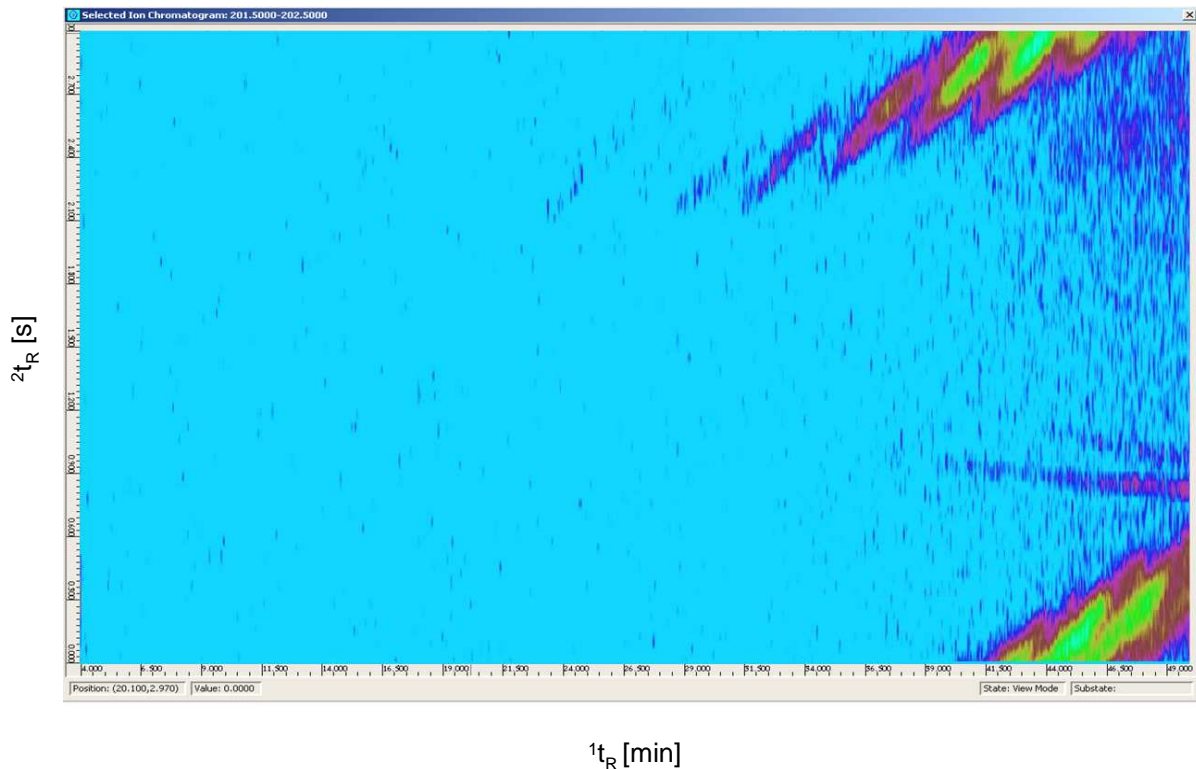


Abbildung 34: GCxGC-MS-Analyse (EIC) der Einzelmassenspur m/z 202 Da vom farblos weißen Material, aufgearbeitet nach Methode ZEK 01.2-08 [71], Shimadzu-System

Außer Naphthalin konnten in dem Extrakt des farblosen Materials keine der weiteren Analyten (Acenaphthylen, Acenaphthen, Fluoren, Phenanthren, Fluoranthren, Pyren und Benzo[g,h,i]perylen) aus dem schwarzen Materialextrakt detektiert werden.

3.2.1.5 Diskussion der Ergebnisse

Bei der eindimensionalen Auswertung der diversen Extraktanalysen ist die Qualifizierung der Analyten mit Massen zwischen m/z 178 und 228 Da weiterhin durch störende Matrixkomponenten nicht möglich.

Die Vergleichsuntersuchungen der beiden Materialien aus dem weichen, elastischen Kunststoff wiesen Unterschiede auf. Die 1D Untersuchung zeigte in beiden Fällen eine Überladung durch Matrixbestandteile. Im Extrakt des schwarzen Materials konnten, im Gegensatz zum farblos/weißem Material, einige der 16 EPA-PAK qualifiziert werden. Die Analyse mittels comprehensive zweidimensionaler Technik

ermöglichte die Abtrennung der Matrix von den Analyten in der zweiten Dimension. Im direkten Vergleich konnten in dem Extrakt des farblosen Kunststoffes außer Naphthalin keine der anderen Kontaminanten eindeutig detektiert werden.

Da es sich bei dem Grundmaterial des farblos/weißen und des schwarzen Materials um einen weichen, elastischen Kunststoff handelte, könnte ein möglicher PAK-Gehalt aus Eintrag durch verunreinigte Weichmacherölen zu erwarten sein. Nachdem nur in dem schwarz eingefärbten Materialextrakt einige der Aromaten nachgewiesen werden konnten, ist hier eine Kontamination auf die farbgebenden Substanzen zurückzuführen. Insgesamt konnte, trotz der angemerkten unvollständigen Analyt-Detektion, die verbesserte Trennleistung und Auflösung durch eine zweidimensionale comprehensive Technik veranschaulicht werden. Die Wahl der Belegung der Trennsäule in der ²D war für die durchgeführten Untersuchungen nicht optimal, da die Substanzen von Interesse zu stark retardiert wurden. Durch das vorgegebene Temperaturmaximum der Säulen könnte eine Verbesserung hinsichtlich des wrap-arounds nur noch über längere Modulationszeiten erfolgen. Da die Belegung der zweiten Trennkapillare allerdings zu polar war, hätte dafür das Modulationszeitfenster sehr viel größer gewählt werden müssen. Eine andere Möglichkeit wäre weiterhin ein schnelleres Aufheizen in der ²D. Da in diesem Shimadzu-System allerdings beide Säulen zusammen in einem Ofen eingesetzt werden, konnte auch keine Veränderung in der Heizrate vorgenommen werden, ohne gleichzeitig die Trennung in der ¹D zu beeinflussen.

Da hier eine Störung der einzelnen Analyten durch Überlappung untereinander, im Standard oder auch durch andere Matrixsubstanzen in den Probenextrakten nicht beobachtet wurde, wurde die Modulationszeit bei den wenigen Analysen nicht weiter optimiert und bei 3 s belassen.

3.2.2 LECO-System

3.2.2.1 Einführung der Methode und Analyse von Standardlösungen

Im Gegensatz zur Shimadzu-Geräteanordnung konnte bei der Verwendung des LECO-Systems der Säulenofen mit der Trennsäule der ²D separat gesteuert werden. Dabei konnten die Anfangstemperaturen differenziert gewählt werden um die Elution der höhermolekularen Substanzen von der zweiten Trennkapillare zu beschleunigen.

Es wurden zur Optimierung der Analysenmethode diverse Temperaturunterschiede verwendet. Die jeweiligen Aufheizraten wurden analog gewählt. Sowohl die Anfangstemperatur als auch die Endtemperatur unterschieden sich bei Einführung der Methode um je 20 °C. Durch höher gewählte Temperaturen im 2. Säulenofen kam es zu einer schnelleren Elution in der ²D mit schmaler Signalform. Durch die gewählte Modulationszeit von 3,2 s und einer Temperaturdifferenz von 20 °C zwischen den beiden Säulenöfen wurde für die 21 Analyten im Standardgemisch nachfolgendes Chromatogramm erhalten:

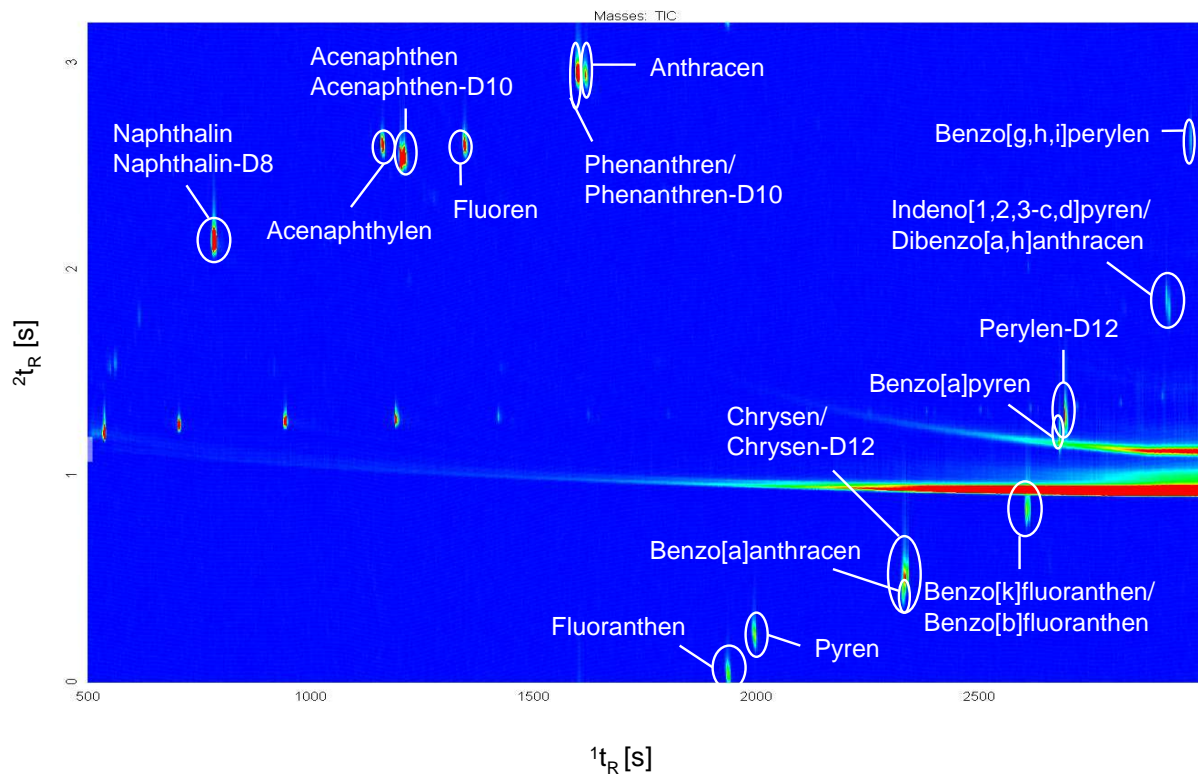


Abbildung 35: GCxGC-(TOF)MS-Analyse der 21 PAK, Konzentration 250 µg/L (Modulationszeit 3,2 s, Temperaturdifferenz der Säulenöfen 20 °C, TIC m/z 110 – 290 Da), LECO-System

Die Modulationszeit von 3,2 s reichte nicht aus, um alle Analyten innerhalb eines Modulationszyklusses von der Trennsäule der ²D zu eluieren. Nach dem Aromaten Anthracen erfolgte ein wrap-around. Die Analyten mit molekularen Massen über m/z 202 Da eluieren also erst im nachfolgenden Modulationszyklus und erscheinen somit wieder am unteren Rand des 2D-Plots.

Durch eine Kombination aus verlängerter Modulationszeit und erhöhter Temperaturdifferenz zwischen den beiden Säulenöfen konnte die Trennung der 21 Analyten innerhalb eines Modulationszyklusses erreicht werden:

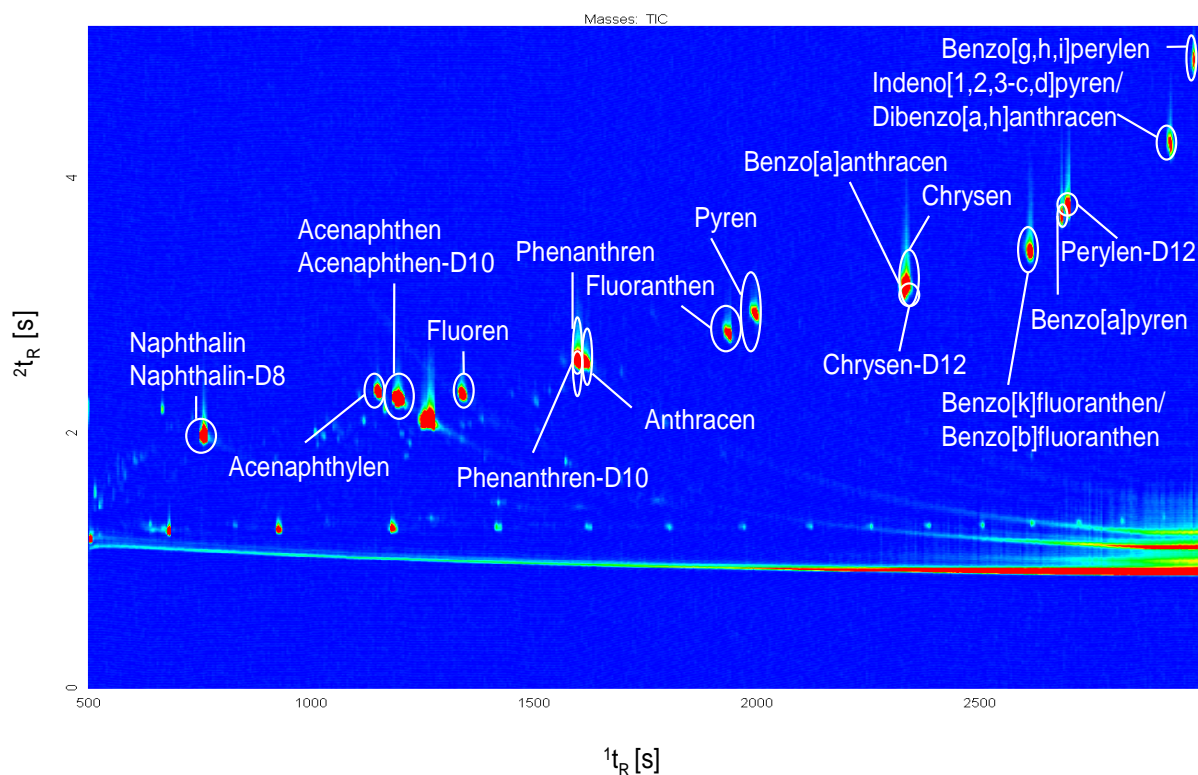


Abbildung 36: GCxGC-(TOF)MS-Analyse der 21 PAK, Konzentration 250 µg/L (Modulationszeit 5,2 s, Temperaturdifferenz der Säulenöfen 30 °C, TIC m/z 110 – 290 Da), LECO-System

Die 21 Analyten sind in diesem Chromatogramm gut getrennt und der zuvor aufgetretene wrap-around konnte behoben werden. Alle detektierten Analyten konnten mit diesem System quali- und quantifiziert werden.

Die aus den jeweiligen (5-Punkt)Kalibriergeraden ermittelten Validierungskenndaten der einzelnen Verbindungen sind in Tabelle 18 aufgelistet.

PAK	NG [µg/L]	EG [µg/L]	BG [µg/L]
Naphthalin	6,2	12,3	23,4
Acenaphthylen	9,2	18,4	34,1
Acenaphthen	12,9	25,8	47,6
Fluoren	26,7	53,4	90,5
Phenanthren	19,9	39,8	72,1
Anthracen	10,1	20,3	37,3
Fluoranthren	21,1	42,2	76,8
Pyren	16,3	32,6	60,1
Benzo[a]anthracen	9,0	17,9	33,2
Chrysen	9,4	18,9	34,9
Benzo[b]fluoranthren	12,1	24,2	47,5
Benzo[k]fluoranthren	8,2	16,4	30,6
Benzo[a]pyren	12,0	24,0	43,5
Indeno[1,2,3-c,d]pyren	23,5	46,9	80,1
Benzo[g,h,i]perylen	16,5	33,0	58,0
Dibenzo[a,h]anthracen	23,2	46,2	79,0

Tabelle 18: Validierungskenndaten aus der externen Kalibrierung der 16 EPA-PAK, LECO-System
NG = Nachweisgrenze
EG = Erfassungsgrenze
BG = Bestimmungsgrenze

Bei den für die optimierte Probenvorbereitungs- und Aufarbeitungsmethode vorgenommenen Einwaagen und entnommenen Aliquote konnte mit den ermittelten Kenndaten die geforderte Bestimmungsgrenze nach ZEK-Methode von 0,2 mg/kg erreicht werden [71].

Für eine Auswertung der Probenextrakte über die in dem Standardgemisch vorhandenen internen Standards wurden analog zur ZEK-Methode die deuterierten Verbindungen des Naphtalins, Phenanthrens und Perylens verwendet.

3.2.2.2 Analyse des schwarzen Kunststoffextraktes

Die Messung des Extraktes des schwarzen Steckers (s. Kap. 3.2.1.2) wurde auch mit dieser Systemanordnung wiederholt. Durch die abgeschlossene Optimierung der Extraktion und Aufreinigung wurde zu dem Zeitpunkt der Analyse bereits der Extrakt der optimierten Methode verwendet. Dieser wies bei den eindimensionalen Analysen immer noch kleinere Störungen für die Analyten mit mittelmolekularen Massen auf. Diese Interferenzen waren auch bei der Auswertung der eindimensionalen Analysen zur Qualifizierung am LECO-System festzustellen.

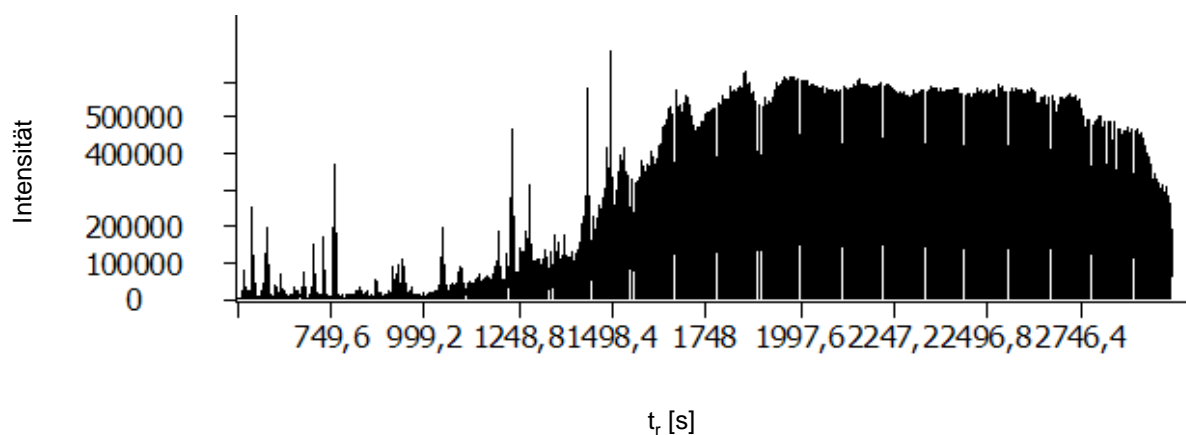


Abbildung 37: GC-(TOF)MS-Analyse (TIC) des Massenbereiches m/z 110 – 290 Da vom schwarzen Material, aufgearbeitet nach der optimierten Methode, LECO-System

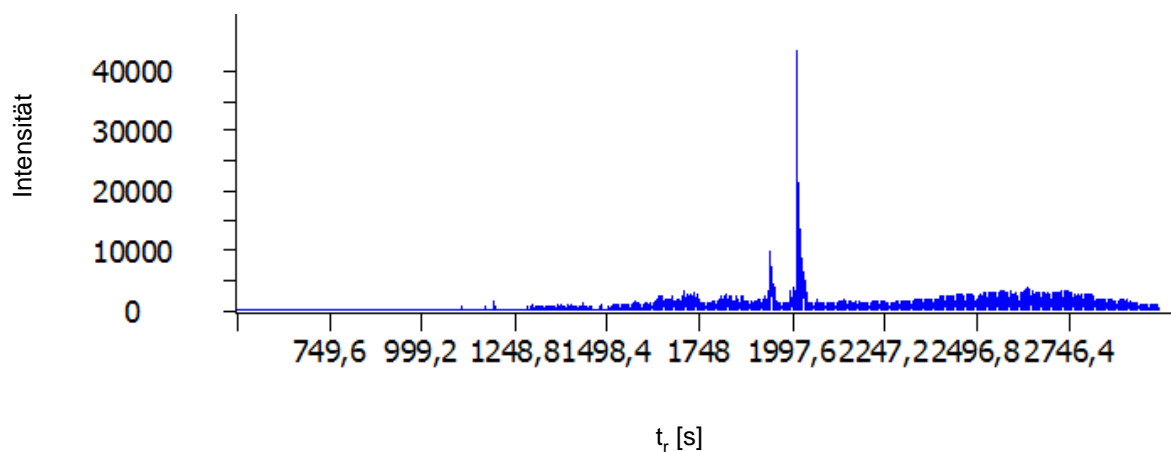


Abbildung 38: GC-(TOF)MS-Analyse (EIC) der Einzelmassenspur m/z 202 Da vom schwarzen Material, aufgearbeitet nach der optimierten Methode, LECO-System

Durch die zuvor vorgenommene Kalibrierung konnte neben der Quali- nun auch die Quantifizierung der detektierten Verbindungen vorgenommen werden.

Nachfolgende Abbildungen 39 und 40 zeigen den Massenbereich m/z 110 bis 290 Da und die Einzelmassenspur m/z 202 Da der für die comprehensive zweidimensionale Analyse jenes Extraktes erhalten wurde:

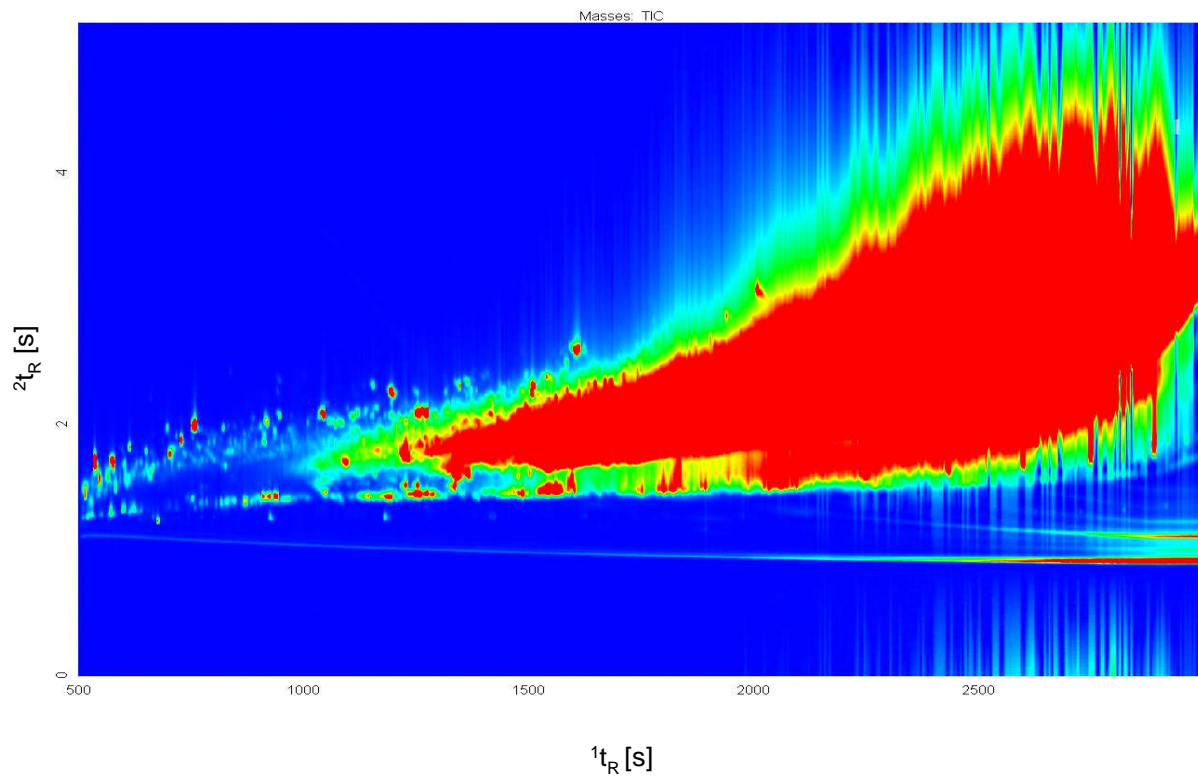


Abbildung 39: GCxGC-(TOF)MS-Analyse (TIC) des Massenbereiches m/z 110 – 290 Da vom schwarzen Material, aufgearbeitet nach der optimierten Methode, LECO-System

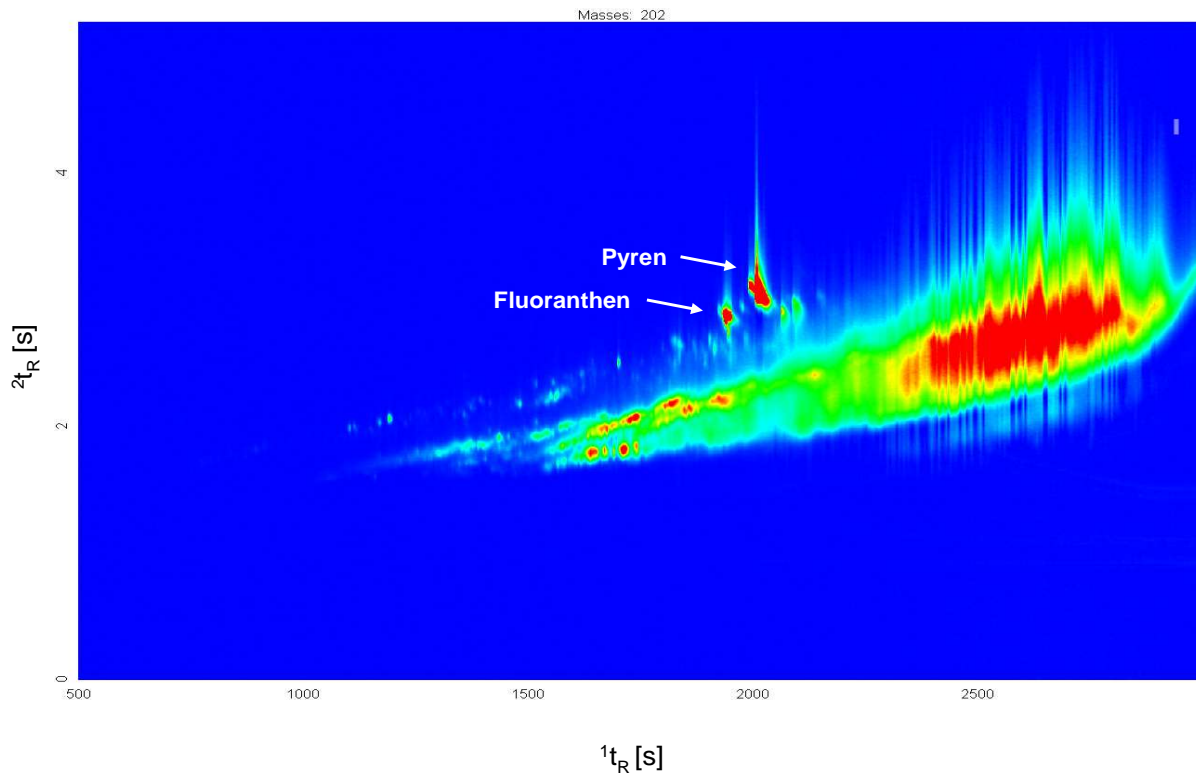


Abbildung 40: GCxGC-(TOF)MS-Analyse (EIC) der Einzelmassenspur m/z 202 Da vom schwarzen Material, aufgearbeitet nach der optimierten Methode, LECO-System

Das Chromatogramm des gesamten Massenbereichs zwischen m/z 110 bis 290 Da ist deutlich mit Matrix überladen. Diese Interferenzen konnten im Einzelnen nicht mittels Datenbank eindeutig qualifiziert werden.

Auf der Einzelmassenspur m/z 202 Da ist die Trennung der Matrix von den Analyten in der zweiten Dimension erkennbar. In dem Extrakt sind u.a. 0,128 mg/L Fluoranthen und 0,750 mg/L Pyren (bzw. in dem Kunststoff 0,32 mg/kg Fluoranthen und 1,88 mg/kg Pyren) enthalten. Daneben konnten auch die Aromaten Naphthalin (1,15 mg/kg), Acenaphthylen (0,2 mg/kg), Acenaphthen (< 0,2 mg/kg), Fluoren (< 0,2 mg/kg), Phenanthren (0,24 mg/kg) und Benzo[g,h,i]perylen (< 0,2 mg/kg) bestimmt werden.

3.2.2.3 Analyse von geruchsauffälligen Realproben aus einem Baumarkt und dem Einzelhandel

Da die meisten der zuvor untersuchten Proben im Vergleich zu den in den Nachrichten [7, 8] beschriebenen Materialien nur geringe Mengen an den polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen aufwiesen, wurden in diversen Einzelhandelskaufhäusern und Baumärkten nach besonders geruchsauffälligen Realproben gesucht, die bestimmungsgemäß mit der Haut oder den Schleimhäuten des Menschen in Kontakt kommen. Der teerähnliche Geruch ist ein häufig beschriebener Hinweis auf das Vorhandensein der polyzyklischen Aromaten (z.B. methylierten Naphthalinverbindungen).

Bei den Einzelhandelsbesuchen sind u.a. einige schwarze Gummigriffe diverser Werkzeuge und Küchenutensilien aufgefallen, die etwas nach Teer gerochen haben. Besonders auffällig waren jedoch eine Ballhupe für ein Fahrradlenkrad, bei der eine Verwendung durch Kinder (Kategorie 1) nicht ausgeschlossen werden kann, und eine Autolenkradhülle, bei dem der Hautkontakt über längere Zeit (Kategorie 2) erfolgt. Zudem besteht bei der Lenkradhülle noch ein erhöhtes Aufnahmerisiko der Verbindungen durch Schweißbildung bei erhöhten Temperaturen, durch Reibung der Haut bei Bewegung des Lenkrads und eventuell eingecremten, bzw. fettigen Händen. Besonders im Kontakt mit einem fettigen Medium kann es zu einer erhöhten Migrationsmenge der lipophilen Verbindungen in die Hautpartien kommen [7].

Die Proben wurden sowohl eindimensional als auch zweidimensional nach der optimierten Aufreinigungsmethode analysiert. Bei der eindimensionalen Analyse ergaben sich deutliche Schwierigkeiten bei der Auswertung aufgrund von Matrixinterferenzen. Eine Auswertung der ungestörten Analyten konnte erst nach deutlicher Verringerung der für die Extraktion verwendeten Probenmenge erfolgen, da, in Korrelation mit dem sehr intensiven Teergeruch, die Gehalte der interessierenden Verbindungen weit über denen der vorgenommenen Kalibrierung lagen. Die zweidimensionale Analyse der im Baumarkt erworbenen Proben wurde mit Hilfe des optimierten Temperatur-/Modulationsprogrammes durchgeführt. Nachfolgende Abbildungen 41 und 42 zeigen jeweils den TIC der GCxGC-(TOF)MS-Analyse der Extrakte der Ballhupe und der äußeren Lenkradhülle.

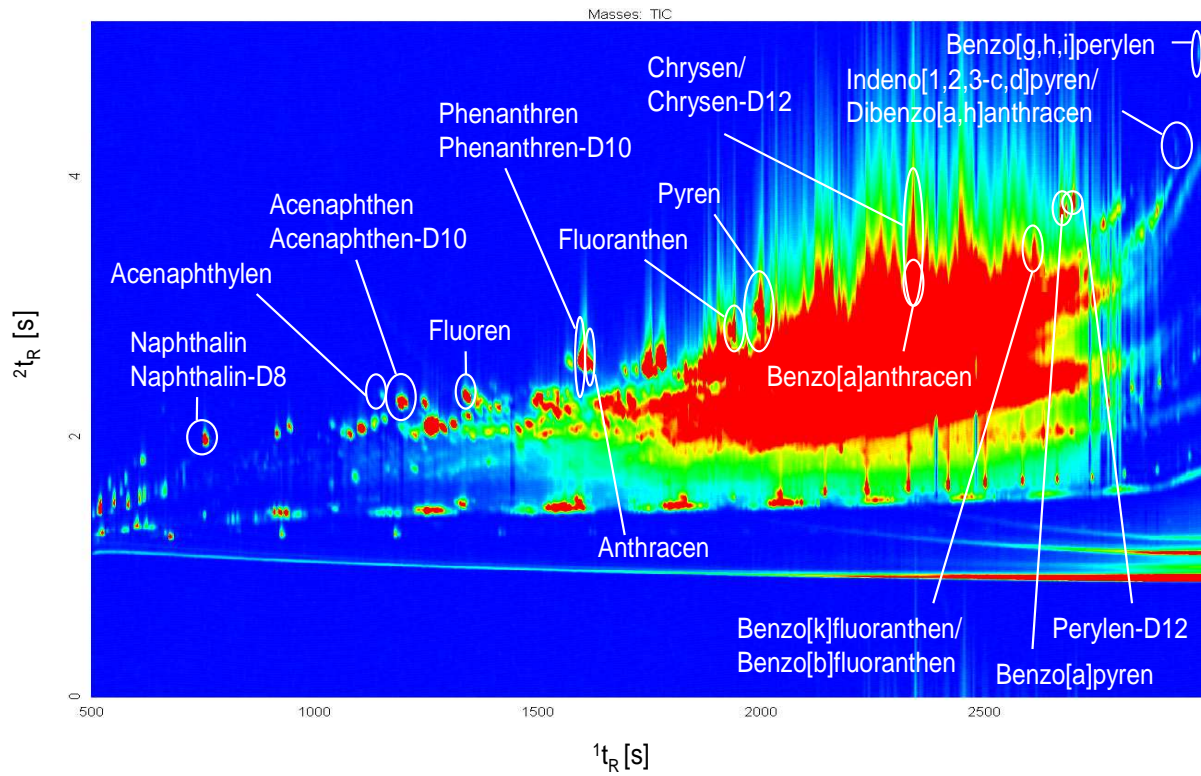


Abbildung 41: GCxGC-(TOF)MS-Analyse (TIC) des Massenbereiches m/z 110 - 290 Da vom Material der Lenkradaußenhülle, aufgearbeitet nach der optimierten Methode, LECO-System

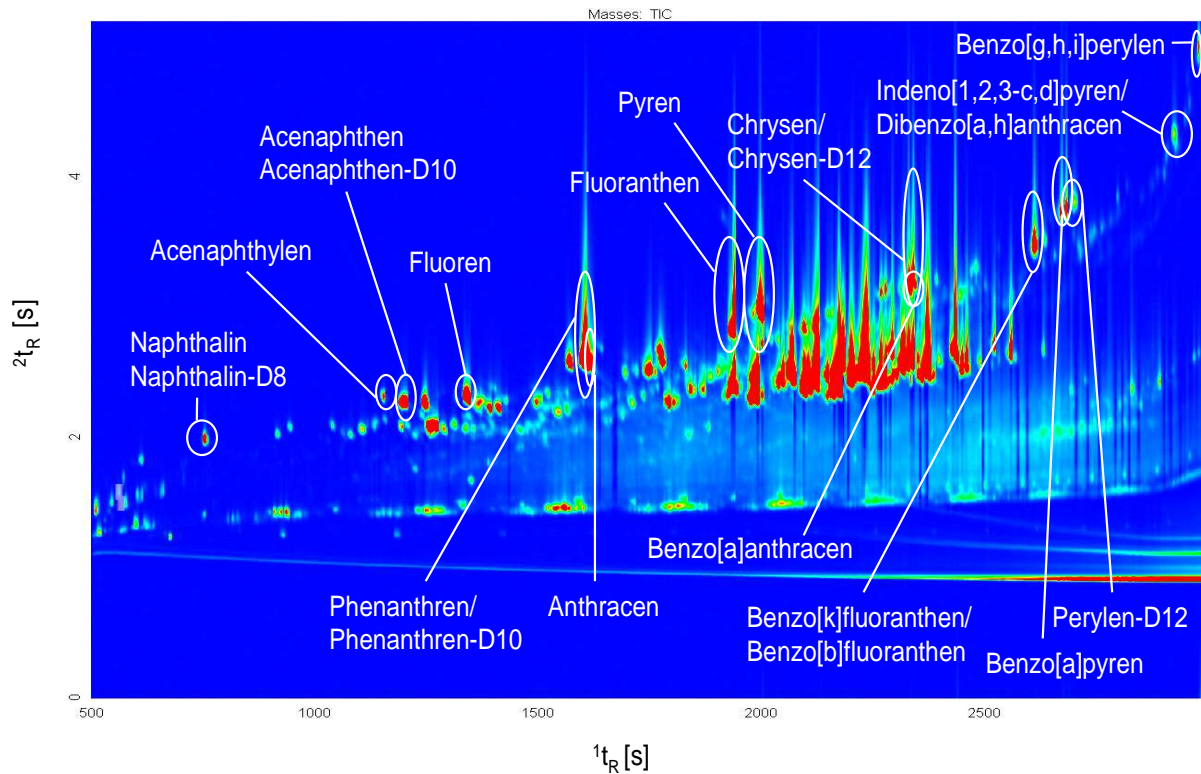


Abbildung 42: GCxGC-(TOF)MS-Analyse (TIC) des Massenbereiches m/z 110 - 290 Da vom Material der Ballhupe, aufgearbeitet nach der optimierten Methode, LECO-System

Der 2D-Plot der Analyse des Lenkradaußenhülle-Extraktes zeigte eine deutliche Überladung durch die aus dem Material mitextrahierten Substanzen. Eine Auswertung konnte jedoch auf den Einzelmassenspuren der Analyten erfolgen. Der 2D-Plot der Analyse der Ballhupe ist deutlich übersichtlicher.

PAK	Gehalt [mg/kg]	
	Lenkradaußenhülle	Ballhupe
Naphthalin	11,8 +/- 0,4	9,8 +/- 0,1
Acenaphthylen	45,9 +/- 0,1	45,0 +/- 4,4
Acenaphthen	40,3 +/- 4,7	146,5 +/- 6,7
Fluoren	93,5 +/- 5,0	507,7 +/- 21,1
Phenanthren	392,5 +/- 10,2	1619,3 +/- 14,3
Anthracen	140,5 +/- 1,6	501,3 +/- 9,4
Fluoranthren	301,9 +/- 0,8	1464,1 +/- 37,1
Pyren	745,0 +/- 72,6	1096,2 +/- 32,2
Benzo[a]anthracen	837,9 +/- 74,4	768,1 +/- 48,2
Chrysen	930,8 +/- 78,2	629,1 +/- 11,6
Benzo[b]fluoranthren	58,6 +/- 4,4	237,9 +/- 16,9
Benzo[k]fluoranthren	45,5 +/- 1,0	91,8 +/- 5,0
Benzo[a]pyren	112,0 +/- 0,5	266,7 +/- 6,6
Indeno[1,2,3-c,d]pyren	47,7 +/- 19,5	131,6 +/- 21,5
Benzo[g,h,i]perylen	47,2 +/- 1,0	41,8 +/- 7,6
Dibenzo[a,h]anthracen	25,1 +/- 0,9	84,6 +/- 15,5
Σ EPA-PAK	3876,0 +/- 236,5	7641,3 +/- 119,9

Tabelle 19: PAK-Gehalte in den Realproben (Lenkradaußenhülle, Ballhupe), aufgearbeitet nach optimierter Methode

Die zuvor in der eindimensionalen Untersuchung teilweise als Störmatrix klassifizierten Substanzen konnten in beiden Proben mittels der NIST-Datenbank größtenteils als Kongenere und Isomere der Zielsubstanzen identifiziert werden. Die Verteilung der Substanzen im 2D-Plot zeigt deutlich das für die GCxGC-Systeme typische Trennprinzip durch die Entkopplung der Einflüsse von Dampfdruck (Trennung in ¹D) und den Einflüssen aus der Wechselwirkung der Analyten mit der stationären Phase (Trennung in ²D). Als Beispiel wird dazu noch einmal das Chromatogramm der Analyse des Ballhupenextraktes (Abb. 43) betrachtet:

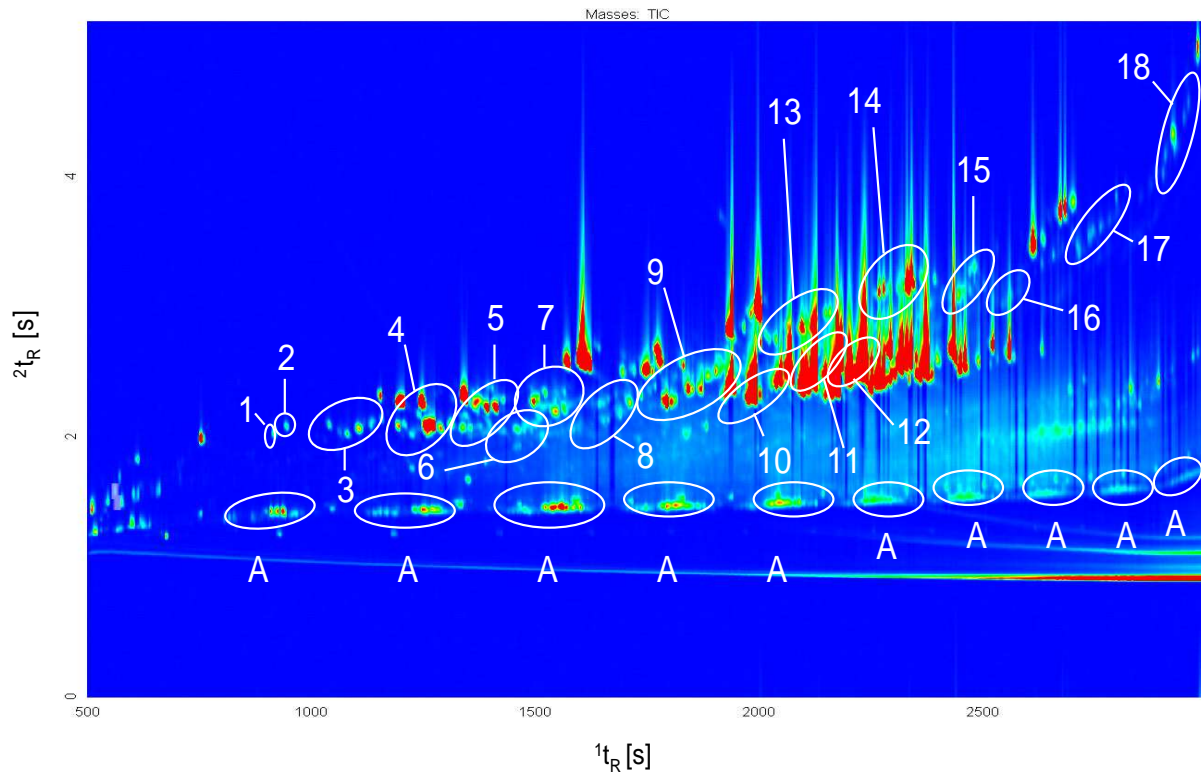
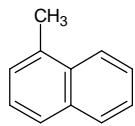
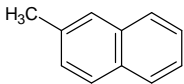
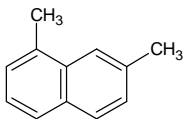
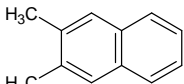
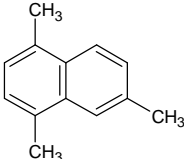
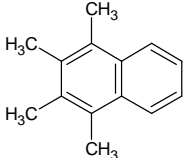
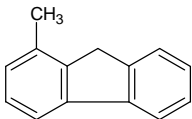
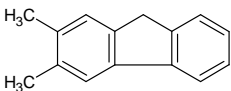
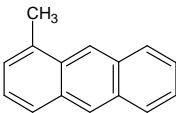
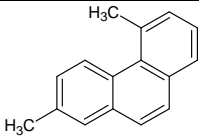
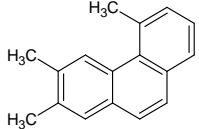


Abbildung 43: GCxGC-(TOF)MS-Analyse (TIC) des Massenbereiches m/z 110 - 290 Da vom Material der Ballhupe, aufgearbeitet nach der optimierten Methode, LECO-System

In nachfolgender Tabelle 20 sind einige der einzelnen Substanzklassen und Datenbanktreffer aus dem Chromatogramm der Abbildung 43 beispielhaft aufgelistet. Diese Zuordnung konnte auch für die Analyse des anderen Extraktes der Lenkradaußenhülle erfolgen. Da die entsprechenden Standards der spezifischen Verbindungen im Einzelnen fehlen, konnte eine Überprüfung der Datenbanktreffer nicht vorgenommen werden.

Nr.	Substanz	1t_R [s]	2t_R [s]	Similarity [%]	Struktur
A	Alkane (di-, tri- und tetra-alkyliert)	divers	divers	> 80	-
1	Naphthalin, 1-methyl-	916,0	2,035	97	
2	Naphthalin, 2-methyl-	947,2	2,085	97	
3	Naphthalin, 1,7-dimethyl-	1082,4	2,030	95	
4	Naphthalin, 2,3-dimethyl-	1108,4	2,070	98	
5	Naphthalin, 1,4,6-trimethyl-	1254,0	2,055	96	
6	Naphthalin, 1,2,3,4-tetramethyl	1477,6	2,110	90	
7	9H-Fluoren, 1-methyl-	1524,4	2,345	96	
8	9H-Fluoren, 2,3-dimethyl-	1680,4	2,335	93	
9	Anthracen, 1-methyl-	1763,3	2,510	97	
10	Phenanthren, 2,5-dimethyl-	1904,0	2,515	94	
11	Phenanthren, 2,3,5-trimethyl-	2086,0	2,560	86	

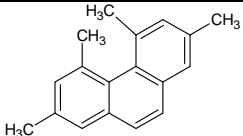
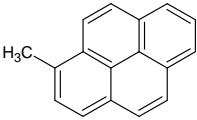
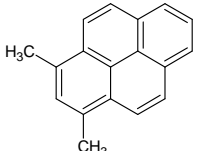
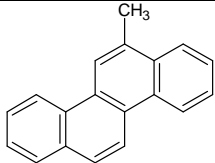
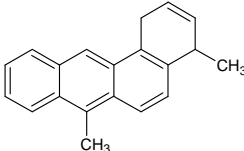
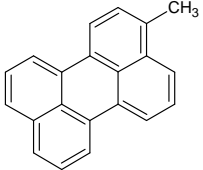
Nr.	Substanz	1t_R [s]	2t_R [s]	Similarity [%]	Struktur
12	Phenanthren, 2,4,5,7-tetramethyl-	2096,4	2,485	76	
13	Pyren, 1-methyl-	2127,6	2,920	97	
14	Pyren, 1,3-dimethyl-	2262,8	2,870	93	
15	Chrysen, 6-methyl-	2455,2	3,135	96	
16	Benzo[a]anthracen, 4,7-dimethyl-	2543,6	3,025	90	
17	Perylen, 3-methyl-	2782,8	3,675	89	
18	Indeno-Aromaten, alkyliert	divers	divers	> 75	-

Tabelle 20: Beispielverbindungen aus der Klassifizierung

Besonders die diversen mono-, di-, tri- und tetra-methylierten Naphthaline fallen ins Auge. Somit korreliert der intensive teerartige Geruchseindruck für die Erwerbsentscheidung mit ihrer qualitativen Bestimmung im Probenextrakt.

3.2.2.4 Diskussion der Ergebnisse

Mit der Systemanordnung der Firma LECO konnte der Vorteil von zwei getrennt voneinander steuerbaren Säulenöfen in einem GCxGC-System veranschaulicht werden. Durch die separate Temperaturführung erfolgte eine schnelle Elution der Analyten innerhalb eines Modulationszyklus unter Beibehaltung von scharfen und schmalen Signalen (besonders der höhermolekularen Analyten).

Mit dem vorliegenden System konnte neben der Quali- auch eine Quantifizierung aller 16 EPA-PAK und der fünf deuterierten Verbindungen vorgenommen werden. Obwohl die Analyse im Full-Scan-Modus zwischen m/z 110 – 290 Da vorgenommen wurde, konnten die vorgegebenen Bestimmungsgrenzen nach optimierter Aufarbeitungsmethode eingehalten werden. Eine erneute und erweiterte Analyse der Kalibrierung kann zu einer Verbesserung der Kenndaten aller Analyten führen. Da für die vorgenommenen Analysen aber auch ein Überblick aller mitextrahierten Substanzen angestrebt wurde, erfolgte die Kalibrierung zunächst ausschließlich im Full-Scan-Modus.

Die wiederholte Analyse des Extraktes des schwarzen, weichen Kunststoffes mit der Systemanordnung von LECO belegt die Trennleistung der zweidimensionalen comprehensiven Gaschromatographie. Mit Hilfe dieser Trenntechnik konnte somit nicht nur ein unbekanntes komplexes Substanzgemisch aufgeschlüsselt werden, sondern auch störende Matrixkomponenten auf instrumentelle Weise von den zu betrachtenden Analyten abgetrennt werden.

Durch die Untersuchung im Full-Scan-Modus war zusätzlich die Unterscheidung zwischen Störsubstanzen und weiteren Isomeren und Kongeneren der Aromaten möglich. Durch die für die comprehensive zweidimensionale Technik typische orthogonale Verteilung von Substanzgruppen ähnlicher Struktur wurde die Klassifizierung eines komplexen Gemisches ähnlicher Verbindungen möglich. Die bei der eindimensionalen Analyse vorzeitig als Interferenzen durch Störsubstanzen eingestuft Matrixprobleme konnten mit Hilfe dieser Technik besser beschrieben und identifiziert werden.

Weiterhin wurde deutlich, dass neben den fokussierten 16 EPA-PAK auch viele weitere polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe in einem Materialextrakt mit Hilfe der comprehensiven zweidimensionalen Technik identifiziert werden können. Einige der dabei nachgewiesenen Verbindungen wie z.B. das 6-Methylchrysen (Klasse 3; begrenzter Nachweis für karzinogene Wirkung; Initiatorwirkung) wurden

bereits von der IARC untersucht und eingestuft [33]. Diese Nebenprodukte dürfen bei einer Kategorisierung eines Materials nicht außer Acht gelassen werden. Die neue Methode ZEK1.04-8 hat nach Überarbeitung die Liste der zu untersuchenden EPA-PAK weiterhin um Benzo[e]pyren und Benzo[j]fluoranthren erweitert. Betrachtet man die vorliegenden Ergebnisse der Realproben so scheint die Summe der nunmehr 18 PAK immer noch nicht ausreichend zu sein, um stark belastete Proben ausreichend bewerten zu können. Die Summe der Gehalte aller polyzyklischer aromatischen Kohlenwasserstoffe kann, wie auch hier die Untersuchungen der Lenkradaußenhülle und der Ballhupe belegen, weit über dem Summengehalt der hauptsächlich betrachteten 16 EPA-Verbindungen liegen.

3.3 Ausblick: Einsatz der APLI-Ionisierungstechnik zur sensitiven und selektiven Bestimmung von polyzyklischen aromatischen Verbindungen

In der vorliegenden Arbeit werden Optimierungsversuche und Trennprozesse, beginnend von der Probenzerkleinerung bis hin zur comprehensive zweidimensionalen gaschromatographischen Trenntechnik, beschrieben. Der Einsatz der GCxGC ermöglicht die Analyse sehr komplexer Matrices. Mittels dieser Analysetechnik konnte gegenüber der eindimensionalen Trenntechnik der größte Teil der Interferenzen eliminiert und eine eindeutigere Auswertung ermöglicht werden.

In den komplexen Matrices, wie z.B. in denen der Realproben, konnten einige der unbekanntenen Verbindungen über die Datenbank nach der GCxGC-(TOF)MS-Analyse, weiteren, meist substituierten, polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen zugeordnet werden. Bei höheren Temperaturen und längeren Laufzeiten wird, besonders bei den höhersiedenden Analyten, sowohl die quantitative als auch qualitative Auswertung durch Überlagerung von Substanzen aus dem Säulenbluten teilweise erschwert.

Trotz Optimierung der GCxGC-Methode konnte für einige Matrices in einer der angewandten Geräteanordnungen keine vollständige Ab- bzw. Auftrennung der Analyten von sämtlichen ausblutenden Substanzen erfolgen (s. Abb. 41).

Ein Ansatz zur Lösung dieser festgestellten Probleme bietet als Ausblick eine Erweiterung der Analysetechnik in Hinblick auf den Parameter der Ionisierung, um eine selektivere und sensitivere Detektion zu ermöglichen.

Eine in letzter Zeit stetig weiterentwickelte Ionisierungstechnik ist die Ionisation mittels Laser unter Atmosphärendruck (APLI, Atmospheric Pressure Laser Ionization) [113 – 120].

Durch Auswahl geeigneter Parameter dieser Technik werden nur diejenigen Substanzen in einer komplexen Matrix angeregt und ionisiert, die über ein aromatisches Grundgerüst verfügen [117]. Durch Anwendung dieser Ionisierungstechnik kann die Selektivität der GCxGC-MS-Analyse von PAK vergrößert werden.

Bei der APLI handelt es sich um eine 2-Photonenionisation, ähnlich zur REMPI, allerdings bei Atmosphärendruck. Diese ist in Abbildung 44 schematisch dargestellt [113, 115, 117]:

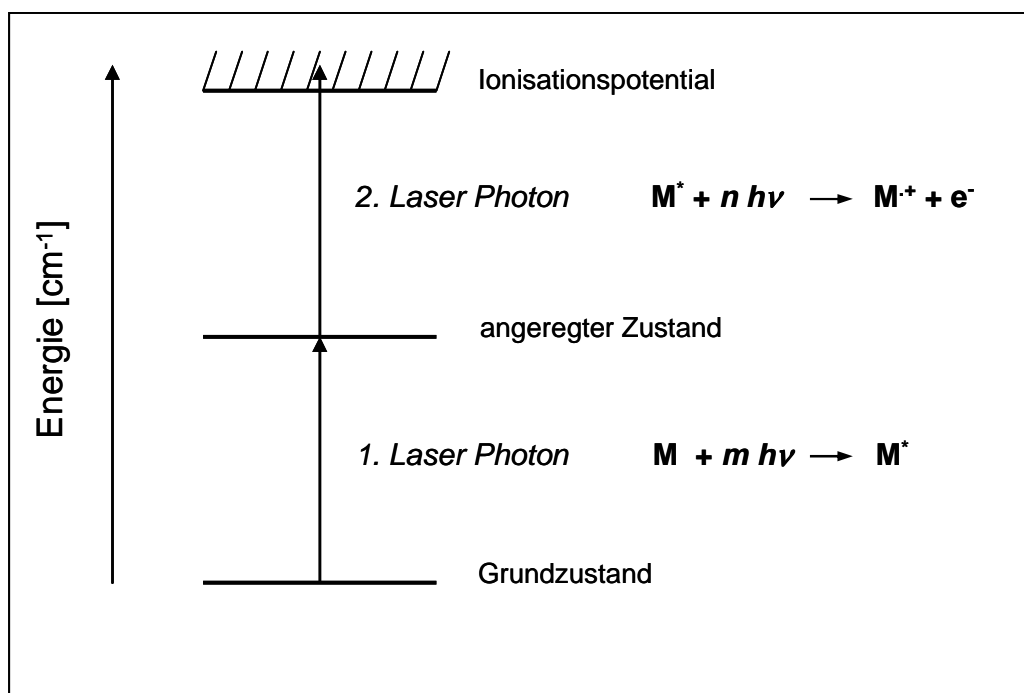


Abbildung 44: (1+1) REMPI-Prozess schematisch dargestellt [113, 115, 117]

Für die APLI wird ein gepulster Excimer-Laser verwendet. Dieser stellt die UV-Strahlung mit der benötigten Energie und Energiedichte zur Verfügung (z.B. ein KrF* Excimer-Laser, 248 nm, 5 eV) [113 – 117]. Die überschüssig zugeführte Energie ist

gering, eine Abgabe dieser, über Stöße mit anderen Molekülen in der Quelle ist möglich. APLI stellt somit eine sanfte Ionisierungsmethode dar [113, 117, 121].

Im nahen UV-Bereich weisen aromatische Verbindungen, besonders polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, einen höheren Absorptionsquerschnitt auf als andere Moleküle. Die Lebensdauer ihrer elektronisch angeregten S_1 oder S_2 Zustände ist hoch [115, 121].

Bei einer Wellenlänge von z.B. 248 nm werden die anderen, nicht-aromatischen Moleküle in der Quelle nicht angeregt. Es sind derzeit keine nicht-aromatischen Verbindungen bekannt, die unter den genannten Umständen ionisiert werden. Die Wechselwirkung zwischen Laserlicht und aromatischen Substanzklassen ist somit sehr selektiv [115].

In vorangegangenen Arbeiten wurden bereits polyzyklische aromatische Verbindungen erfolgreich mittels Laser-Ionisierungstechnik untersucht [115, 122, 123]. Die Ionisierungstechnik führt dabei zu einer Sensitivitätssteigerung um einen Faktor von 1000 gegenüber einer eindimensionalen GC-EI-(TOF)MS- und einem Faktor von 100 gegenüber der GCxGC-EI-(TOF)MS-Analytik. APLI als Ionisierungsmethode unter Atmosphärendruck ist momentan die sensitivste Technik für PAK [115]. Die Nachweisgrenze für die einzelnen Verbindungen liegt im amol – fmol Bereich [113, 115].

Obwohl mittels APLI nicht alle Substanzen in einer komplexen Mischung erfasst werden können, könnte bei den zuvor beschriebenen, durch Matrixinterferenzen auftretende Überladungen, gerade diese Selektivität dazu ausgenutzt werden, nur die aromatischen Analyten zu detektieren, um somit die erhaltenen Trennergebnisse aus den comprehensive zweidimensionalen Messungen weiter zu optimieren. Die beobachteten Störungen der höhersiedenden Analyten durch das Säulenbluten kann mit Hilfe dieser Ionisierungstechnik ebenfalls ausgeschlossen werden, da den ausblutenden Substanzen die aromatische Struktur zur Anregung mittels Laser fehlt [115, 119].

4 Zusammenfassung

Die in dem Dokument ZEK-01.2-08: „Prüfung und Bewertung von Polycyclischen Aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) bei der GS-Zeichen-Zuerkennung“ beschriebene gaschromatographische Bestimmungsmethode der 16 EPA-PAK wurde in einem Analysen-Labor eingeführt und validiert. Im Hinblick auf eine einfachere Handhabung und einer Effizienzsteigerung bei der Probenvorbereitung als auch -aufreinigung wurden einzelne Schritte der Methode systematisch optimiert. Die Probenzerkleinerung wurde durch Verwendung einer Schneidmühle automatisiert. Mit Hilfe dieses Werkmittels konnten sowohl sehr harte und groß dimensionierte Kunststoffe bis hin zu sehr weichen, elastischen Materialien schnell und homogen in die benötigten Probenpartikelgrößen zerkleinert werden. Die Robustheit des Gerätes erlaubte weiterhin die Zerkleinerung von zuvor zum Verspröden in flüssigen Stickstoff eingetauchten Elastomeren und Gummi-Produkten.

Die aufwendige Probenaufreinigung über die mit Kieselgel selbst zu befüllenden Glassäulen konnte auf maschinell gefertigte, dichter gepackte Kieselgel-Kartuschen für den angestrebten Analysenzweck und den zu erwartenden Konzentrationsbereich übertragen werden. Diese optimierte Aufreinigungsmethode erspart nun die aufwendige Vorbereitung des Sorbens und der Glaswaren für die Aufreinigung der Extrakte. Durch das nun einheitlicher und dichter gepackte Kartuschenmaterial konnte eine schnellere, Lösungsmittel sparende und vor Allem effektivere Aufreinigung erzielt werden.

Der Großteil der Analysen von Bedarfsgegenständen und Verbraucherprodukten ergab kaum nachweisliche bzw. nur geringe Gehalte an polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen in den Polymeren. Die Konzentrationen der Analyten liegen deutlich unter denen für die drei Materialkategorien in dem Dokument ZEK-01.2-08 festgelegten Höchstgehalte. Diese Analysenergebnisse belegen, dass es durchaus Materialien gibt, die nach guter Herstellungspraxis und mit geeigneten und reineren Rohstoffen hergestellt werden können.

Bei den im Rahmen dieser Arbeit vorgenommenen Analysen sind besonders Weich-Kunststoffe, Gummi-Materialien und Elastomere aufgefallen, aus denen bei der Extraktion mit dem Lösungsmittel Toluol zusätzlich Substanzen herausgelöst werden, die eine gaschromatographische Analyse nachweislich erschweren.

Diese ebenfalls aus den Materialien herausgelösten Inhaltsstoffe besitzen ähnliche Dampfdrücke wie die zu untersuchenden Analyten und stören eine eindeutige Auswertung der Aromaten bei der gaschromatographischen Analyse. Die Aufreinigung über modifizierte Sorbentien sowie polymeren Festphasen konnte bei den untersuchten Probenextrakten nicht für eine vollständige, erfolgreiche Abtrennung der Matrix herangezogen werden. Die beobachteten Interferenzen treten besonders im molekularen Massenbereich zwischen m/z 178 und 228 Da auf. Weder die in der ZEK-Methode noch die in dieser Arbeit optimierte Aufreinigung ermöglichten die vollständige Abtrennung der interferierenden Matrixkomponenten. Mittels fraktionierter Elution konnte gezeigt werden, dass diese Störverbindungen nicht nur den PAK ähnliche Dampfdrücke, sondern auch ähnlich unpolare Eigenschaften besitzen. Sie erfahren somit bei der Festphasenextraktion kaum Wechselwirkungen mit dem Sorbens und können somit nicht von den interessierenden aromatischen Kohlenwasserstoffen abgetrennt werden.

In einem zweiten Schwerpunkt wurde für die Analyse der komplexen Matrices die Trennleistung der comprehensive zweidimensionalen Gaschromatographie demonstriert. Mit Hilfe dieser äußerst effektiven Trenntechnik können komplexe Matrices nicht nur hinsichtlich Ihrer Zusammensetzung analysiert werden. Sie kann auch zur instrumentellen Abtrennung von Matrixinterferenzen von den zu bestimmenden Analyten verwendet werden. In mit Störsubstanzen belasteten Extrakten konnten so die enthaltenen polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe erfolgreich qualifiziert werden. Neben der Qualifizierung über die Detektion mittels Massenspektrometer konnte nach Kalibrierung auch eine Quantifizierung erfolgen.

Die Effizienz dieser zweidimensionalen Technik konnte bei weiteren Untersuchungen von ausgewählten Verbraucherprodukten im Kontakt mit der Haut des Menschen demonstriert werden. Die ausgewählten, geruchsauffälligen und im hohen Maße die EPA-PAK enthaltenden Polymere wurden mittels der optimierten Analystechnik untersucht. Durch die Entkopplung der Trennmechanismen der Kapillaren in der ersten und zweiten Dimension erfolgte die für die comprehensive zweidimensionale Technik typische Verteilung der Analyten in Clustern bzw. Substanzgruppen und deren Anordnung im 2D-Plot. Die Untersuchungsergebnisse der Realproben zeigten neben den hohen Gehalten an den 16 EPA-PAK auch eine Vielzahl anderer Isomere und Kongenere der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe.

5 Experimenteller Teil

5.1 Kalibrierungen

In der Mischlösung PAK-Mix 31 der Firma Ehrenstorfer sind die Aromaten Naphthalin-D8, Acenaphthen-D10, Phenanthren-D10, Chrysen-D12 und Perylen-D12 in einer Konzentration von jeweils 1000 ng/μL (in Toluol) enthalten. Aus dieser Stammlösung wurde zu Beginn eine verdünnte Standardlösung hergestellt. Dazu wurden 500 μL der Mischlösung in einen mit etwas Lösungsmittel vorgelegten 10 mL-Messkolben pipettiert und mit Lösungsmittel bis zur Eichmarke aufgefüllt (Konzentration $c_{IS\text{ verdünnt}} = 50\text{ ng}/\mu\text{L}$ je deuterierte Verbindung).

Für die Kalibrierung wurde ebenfalls ein Mischstandard der Firma Ehrenstorfer verwendet. Dieser PAK-Mix 9 enthält die 16 EPA-PAK in einer Konzentration von jeweils 10 ng/μL in Cyclohexan. Die Kalibrierlösungen im Konzentrationsbereich von 25 bis 1500 μg/L wurden wie nachfolgend tabelliert (Tab. 21) durch Verdünnung unterschiedlicher Volumina der PAK-Mix 9 Stamm-Lösung (V_{PAK}) in einem 10 mL-Messkolben angesetzt. Zu jeder der Lösungen wurde ebenfalls die verdünnte Standard-Lösung der deuterierten Verbindungen (V_{IS}) pipettiert.

Standard-Lösung	V_{PAK} [μL/10 mL]	V_{IS} [μL/10 mL]	C_{PAK} [μg/L]	C_{IS} [μg/L]
1	25	100	25	500
2	50	100	50	500
3	75	100	75	500
4	100	100	100	500
5	150	100	150	500
6	250	100	250	500
7	500	100	500	500
8	700	100	700	500
9	1000	100	1000	500
10	1500	100	1500	500

Tabelle 21: Ansatzschema für die Herstellung der Standard-Lösungen der 16 EPA-PAK und der deuterierten PAK für die Kalibrierung

Die arbeitstäglichen Kalibrierungen wurden mit den Standard-Lösungen 1, 2, 4, 6 und 7 im Konzentrationsbereich zwischen 25 und 500 µg/L vorgenommen.

Kalibrierungen für die comprehensive zweidimensionalen Messungen wurden in Konzentrationsbereichen zwischen 25 und 400 µg/L vorgenommen, wobei die Lösungen in den jeweiligen Konzentrationen in Anlehnung an das Schema (s. Tab. 21) angesetzt wurden (400 µL der PAK-9 Mix-Stammlösung + 100 µL der verdünnten Standard-Lösung aus PAK-Mix 31/10 mL iso-Hexan; $c_{400 + IS} = 400 \mu\text{g/L}$ je EPA-PAK und 500 µg/L je IS).

Analog können die Standards auch direkt im GC-Vial angesetzt werden. Dazu werden die einzelnen Volumina der Lösungen entsprechend additiv in die Vials pipettiert.

5.2 Kontrollstandard

Der Kontrollstandard wurde aus einem Mischstandard (Polynuclear aromatic hydrocarbons 16 solution) der Firma Fluka angesetzt. Gemäß Spezifikation sind die Konzentrationen der jeweiligen Analyten in Acetonitril wie in Tabelle 22 angegeben.

Der Kontrollstandard für die Analysen wurde durch Verdünnung der Stammlösung mit iso-Hexan hergestellt. Dazu wurden 100 µL der Kontrollstandard-Stammlösung und 100 µL der verdünnten deuterierten internen Standard-Lösung aus PAK-Mix 31 in einen mit etwas Lösungsmittel vorgelegten 10 mL-Messkolben pipettiert und dann mit Lösungsmittel bis zur Eichmarke aufgefüllt ($c_{\text{Kontrollstandard} + IS} = \text{ca. } 100 \mu\text{g/L}$ je EPA-PAK und 500 µg/L je IS).

PAK	C_{PAK} [ng/ μ L]
Naphthalin	9,1
Acenaphthylen	9,4
Acenaphthen	11,1
Fluoren	8,9
Phenanthren	9,7
Anthracen	11,3
Fluoranthen	9,9
Pyren	10,9
Benzo[a]anthracen	11,2
Chrysen	10,0
Benzo[b]fluoranthen	10,5
Benzo[k]fluoranthen	10,9
Benzo[a]pyren	11,0
Indeno[1,2,3-c,d]pyren	10,7
Benzo[g,h,i]perylene	11,8
Dibenzo[a,h]anthracen	9,0
Σ EPA-PAK	165,4

Tabelle 22: Konzentrationen der 16 EPA-PAK in der Stammlösung des Kontrollstandards

5.3 Probenvorbereitung gemäß Methode ZEK-1.02-8

Das zu analysierende Probenmaterial wurde mit diversen Werkzeugen von allen metallischen und anderen anhaftenden, jedoch nicht zu untersuchenden, Materialien getrennt. Beschichtungen wurden entsprechend vom Trägermaterial gekratzt bzw. abgezogen. Anschließend wurde das Probengut auf eine Partikelgröße von maximal 3 mm zerkleinert. Bei der Probenvorbereitung wurde besonders darauf geachtet, Erwärmung und Befeuchtung des Materials zu vermeiden.

In einen mit Toluol vorgelegten 100 mL-Messkolben wurden 10 μ L der Mischlösung PAK-Mix 31 ($C_{\text{Stammlösung}} = 1000 \text{ ng}/\mu\text{L}$ je IS) pipettiert und mit Toluol zur Marke aufgefüllt ($C_{\text{Extraktionslösung}} = 100 \text{ ng}/\text{mL}$ je IS).

500 mg (+/- 0,1 mg) des Probenmaterials wurden in ein tariertes Headspace-Vial eingewogen, mit 10 mL der Extraktionslösung versetzt und mit der Bördelkappe verschlossen. Mit Hilfe einer Styroporplatte wurde das Vial mit dem Extraktionsgut in das Ultraschallbad gehängt. Dabei wurde das Vial so tief montiert, dass der Lösungsmittelspiegel bis unter die Wasseroberfläche reicht. Die Probe wurde für 1 Stunde bei 60 °C extrahiert. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur und Absetzen möglicher Probenpartikel wurde ein Aliquot von 5 mL des Extraktes in einen zuvor mit Aceton gespülten und getrockneten Spitzkolben (graduiert) überführt und schonend am Rotationsverdampfer (40 °C Wasserbadtemperatur, ca. 80 mbar angelegtem Druck, 150 U/min) [106] auf ein Volumen von 1 mL einrotiert. In Fällen in denen sich die Probenpartikel beim Abkühlen nicht absetzten, konnte mittels Zentrifuge und „short spin“-Funktion eine Klärung erreicht werden.

5.4 Probenaufreinigung gemäß Methode ZEK-1.02-8

Alle für die Aufreinigung verwendeten Glaswaren wurden vor der Verwendung mit Aceton vorgespült und anschließend getrocknet.

In einen 250 mL Rundkolben wurden 100 g Kieselgel eingewogen und unter Schwenken portionsweise mit 10 g dest. Wasser versetzt. Das Gemisch wurde ohne angelegten Druck bei Raumtemperatur ohne Eintauchen ins Wasserbad 1 Stunde am Rotationsverdampfer (100 U/min) homogenisiert und im Anschluss verschlossen gelagert.

Die Chromatographiesäulen mit Schliff wurden mit etwas Glaswolle befüllt. 4 g (+/- 0,1 mg) abgewogene Portionen des desaktiviertem Kieselgels wurden über einen Glastrichter in die Säulen gefüllt. Beim Befüllen wurde das Material durch stetiges, leichtes Klopfen, möglichst dicht gepackt. Zum Schluss wurde das Sorbens mit einer ca. 1 cm hohen Schicht wasserfreiem Natriumsulfat überschichtet. Bis zur Analyse wurden die Glassäulen mit einem Glasstopfen verschlossen aufbewahrt.

Vor der Aufreinigung wurden die Glassäulen mit jeweils 10 mL Petrolether konditioniert, wobei die Säulen nicht trocken laufen durften. Ein mögliches erstes Eluat wurde direkt verworfen. Der aufkonzentrierte Extrakt wurde quantitativ auf die Glassäule überführt und kurz einwirken gelassen. Mit jeweils 5 mL Petrolether wurde der Spitzkolben vier Mal nachgespült. Abschließend erfolgte die Elution mit weiteren

50 mL Petrolether. Durch Anlegen eines leichten Drucks mittels Handpumpe kann der restliche Petrolether von der Säule gewaschen werden. Das gesamte Eluat wurde sofort in 100 mL-Spitzkolben mit Reservoir (graduiert) aufgefangen. Nach der Aufreinigung wurde zu diesem Petrolethereluat 1 mL Toluol hinzupipettiert. Da keine TurboVap zur Verfügung stand, wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer (40 °C Wasserbadtemperatur, ca. 800 mbar angelegtem Druck, 150 U/min) [106] auf ein Endvolumen von 1 mL aufkonzentriert und in die GC-Vials zur Analyse überführt. Die Konzentration der internen Standards in der Analysenlösung betrug analog zu den Kalibrierstandards jeweils 500 µg/L.

5.5 Optimierte Probenvorbereitung

Nachdem alle metallischen und irrelevanten, anhaftenden Stoffe von dem Kunststoff zur Analyse entfernt worden waren, wurde das Material mittels Schneidmühle SM 300 und eingesetztem Sieb mit 4,0 mm Quadratlochung mit einer Rotorzahl von 1300 min⁻¹ zerkleinert. Weiches Material wurde zur Versprödung mit einer Zange für einige Minuten in flüssigen Stickstoff getaucht und anschließend sofort in den Zufuhrschacht der Schneidmühle überführt und zerkleinert. Nach jeder Zerkleinerung wurde der Schneidgang gereinigt. Beschichtungen, Lacke und Folien wurden weiterhin von Hand zerkleinert.

500 mg (+/- 0,1 mg) des Probenmaterials wurden in ein tariertes Headspace-Vial eingewogen, mit 5 mL Toluol und 25 µL der verdünnten internen Standard-Lösung (Konzentration $c_{IS \text{ verdünnt}} = 50 \text{ ng}/\mu\text{L}$ je deuterierte Verbindung) versetzt, mit einer Bördekkappe verschlossen und 1 Stunde bei 60 °C im Wasserbad hängend (Styroporplatte) extrahiert.

5.6 Optimierte Probenaufreinigung

Alle für die Aufreinigung verwendeten Glaswaren wurden vor der Verwendung mit Aceton vorgespült und anschließend getrocknet.

Nach Abkühlen der Extrakt-Lösung auf Raumtemperatur und Absetzen der Probenpartikel (Flugpartikel eventuell mittels „short spin“-Funktion abzentrifugieren) wurde ein Aliquot von 1 mL zur Aufreinigung entnommen.

Für die Aufreinigung wurden die Kieselgel-Kartuschen (1 g Sorbens, Polypropylen-Kartusche, 6 mL) auf die Vakuumstation aufgesetzt und mit 10 mL iso-Hexan konditioniert. Dieses erste Eluat wurde verworfen. Anschließend wurde 1 mL des Extraktes auf die Kartusche gegeben und langsam auf das Säulenbett gezogen. Die Elution erfolgte langsam (1 – 2 mL/min) mit 20 mL iso-Hexan. Die im Spitzkolben (graduiert) vereinigten Eluate werden am Rotationsverdampfer schonend (40 °C Wasserbadtemperatur, zunächst ca. 800 mbar, dann bis ca. 80 mbar angelegtem Druck, 150 U/min) [106] auf ein Endvolumen von 0,5 mL aufkonzentriert. Nach Überführung in ein Vial mit Insert erfolgte die gaschromatographische Analyse. In der Analysenlösung betrug die Konzentration der internen Standards analog zu den Kalibrierstandards jeweils 500 µg/L.

5.7 Fraktionierte Elution

Für die Untersuchung der fraktionierten Elution wurde die Probe wie im Kapitel 5.3 beschrieben vorbereitet. Nach Aufgabe des Extraktes auf die Kieselgelsäule (Durchführung bis zur Elution analog wie in Kapitel 5.4 beschrieben) wurden Fraktionen zu 10 mL Eluat in den graduierten Spitzkolben gesammelt. In jeden dieser sieben Kolben wurde 1 mL Toluol hinzupipettiert und die Petroletherfraktion auf ein Endvolumen von 1 mL einrotiert (s. Kapitel 5.4) und analysiert.

5.8 Bestimmung der Wiederfindungen

Für die Bestimmung der Wiederfindungen über die selbstgepackten Kieselgelsäulen und die Kartuschen wurde zur Analyse der Kalibrierstandard 7 (s. Tab. 21) herangezogen. Die Vorbereitung der Sorbentien, deren Konditionierung, die Elution und die Aufkonzentrierung erfolgte analog zu einem Probenextrakt (s. Kapitel 5.4 und 5.6). Die Bestimmung der Wiederfindung erfolgte als Dreifachbestimmung.

5.9 Probenaufreinigung über CN/SiOH-Kartuschen

In Anlehnung an eine Applikationsvorschrift für die PAK-Bestimmung in Bodenproben [109] wurden 0,5 g des zerkleinerten und nach der optimierten Methode vorbereitete Probenmaterial (s. Kap. 5.5) mit 10 mL Cyclohexan und IS für eine Stunde bei 60 °C im Ultraschallbad extrahiert. Nach Einengen eines Aliquots von 5 mL des Extraktes am Rotationsverdampfer (40 °C Wasserbadtemperatur, ca. 240 mbar angelegtem Druck, 150 U/min) auf ein Endvolumen von 1 mL erfolgte die Aufreinigung über die modifizierte Kieselgelphase. Dazu wurde diese im Vorfeld mit 5 mL Dichlormethan und 5 mL Cyclohexan konditioniert. Beide Lösungsmittel wurden verworfen. Der aufkonzentrierte Cyclohexanextrakt wurde auf die Säule gegeben, einwirken gelassen, zweimal mit jeweils 2 mL Cyclohexan gewaschen und zuletzt mit fünf Mal mit je 1 mL Acetonitril eluiert. Das Eluat wurde mit 1 mL Toluol versetzt und auf 1 mL eingengt (40 °C Wasserbadtemperatur, ca. 240 mbar angelegtem Druck, 150 U/min) und analysiert [106].

5.10 Probenaufreinigung über Florisil®-Kartuschen

Gemäß der Applikation für die Aufreinigung von Rohöl zur Bestimmung von PAK [110] wurden die Proben mit iso-Hexan extrahiert (0,5 g Material in 10 mL iso-Hexan, s. Kap. 5.3 zur Probenvorbereitung und für die Extraktion). Das auf ein Endvolumen von 1 mL einrotierte Aliquot (5 mL Extrakt, 40 °C Wasserbadtemperatur, ca. 340 mbar angelegtem Druck, 150 U/min) wurde nach Konditionierung der Florisil®-Kartusche (zunächst 10 mL Methanol, dann 20 mL iso-Hexan), auf das

Sorbens aufgezogen und anschließend mit 20 mL iso-Hexan eluiert. Mit 1 mL Toluol als Keeper wurde für die Analyse auf 1 mL aufkonzentriert (40 °C Wasserbadtemperatur, ca. 240 mbar angelegtem Druck, 150 U/min) [106].

5.11 Probenaufreinigung über Polymer-Kartuschen

Komplexe Matrices können zur Bestimmung der PAK über Polystyrol-Divinylbenzol-Sorbentien (hypercrosslinked Polystyrene) aufgereinigt werden [108].

Dazu wurden diese Polymer-Kartuschen vor der Verwendung mit zunächst 20 mL Dichlormethan und anschließend mit 20 mL iso-Hexan konditioniert.

Die Probenvorbereitung und Extraktion erfolgte analog der Vorgehensweise (beschrieben unter Kap. 5.5), wobei 500 mg der Probe zur Extraktion nur mit 2,5 mL Toluol und 12,5 µL der verdünnten internen Standard-Lösung (Konzentration $c_{IS\text{ verdünnt}} = 50\text{ ng}/\mu\text{L}$ je deuterierte Verbindung) vorgenommen wurde.

1 mL des Extraktes wurde auf die konditionierten Säulen überführt und kurz einwirken gelassen. Anschließend wurde die Kartusche mit 10 mL iso-Hexan gewaschen. Die Elution der PAK erfolgte mit 20 mL Dichlormethan. Nach Zugabe von 0,5 mL Toluol wurde auf ein Endvolumen von 0,5 mL am Rotationsverdampfer eingeeengt (40 °C Wasserbadtemperatur, ca. 800 mbar angelegtem Druck, 150 U/min) und gaschromatographisch analysiert.

5.12 Chemikalien

5.12.1 Lösungsmittel

Aceton, SupraSolv®, ≥ 99,8%, Merck, Darmstadt, D

Acetonitril, LC-MS Chromasolv®, ≥ 99,9 %, Riedel de Haen, SIGMA Aldrich, Steinheim, D

Cyclohexan, Picograde®, ≥ 99,0 %, LGC Promochem, Wesel, D

Dichlormethan, Picograde®, ≥ 99,5 %, LGC Promochem, Wesel, D

Iso-Hexan, SupraSolv®, ≥ 99,8 %, Merck, Darmstadt, D

Iso-Octan, ROTIPURAN®, ≥ 99,5 %, Roth, Karlsruhe, D

Methanol, LC-MS LiChrosolv®, ≥ 99,9 %, Merck, Darmstadt, D

Petroleumbenzin, SupraSolv®, Siedebereich 40 – 60 °C, > 90 Vol%, Merck,
Darmstadt, D

Toluol, Picograde®, ≥ 99,8 %, LGC Promochem, Wesel, D

5.12.2 Standard-Lösungen

PAK-Mix 31 deuteriert, Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, D

PAK-Mix 9, Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, D

Polynuclear aromatic hydrocarbons 16 solution, OEKANAL® EPA-method 610,
Fluka, Buchs, CH

5.12.3 Weitere Chemikalien

Helium 5.0, Air Liquide, Düsseldorf, D

Helium 5.0, Messer, Sulzbach, D

Natriumsulfat, wasserfrei, ≥ 99,0 % Puder, Baker Analyzed, J.T.Baker, Deventer, NL

Kieselgel 60 (0,063 mm – 0,200 mm), AppliChem, Darmstadt, D

Stickstoff 5.0, Air Liquide, Düsseldorf

Stickstoff 5.0, Gase.de, Sulzbach, D

Stickstoff, flüssig, PRAXAIR, Düsseldorf, D

Stickstoff, flüssig, Air Liquide, Düsseldorf, D

Wasser, deionisiert

5.13 Materialien

5.13.1 Materialien zur Probenvorbereitung und Analytik

603 Cellulose Extraktionshülsen, 33 x 80 mm, Whatman International, Maidstone, UK

Bördelkappen mit Loch, Aluminium, N20, PTFE, Pharmafixscheibe, 3 mm, LABC-
Labortechnik, Hennef, D

Eimer zur Aufbewahrung, PP, Größen divers, VWR, Darmstadt, D
 ep T.I.P.S, 100 – 5000 µL (farblos), Eppendorf, Hamburg, D
 Eppendorf Reference®, 1000 µL, Hamburg, D
 Eppendorf Research®, 20 – 200 µL, Hamburg, D
 Eppendorf Research®, 500 – 5000 µL, Hamburg, D
 GC-Vial N9, flach, Gewinde, klar, 1,5 mL, Macherey-Nagel, Düren, D
 Glastrichter, 45 mm, Fleischhacker, Schwerte, D
 Headspace-Vial N20, flach, klar, 20 mL, LABC-Labortechnik, Hennef, D
 Inserts, 9 mm Spitze, klar, 0,15 mL, Macherey-Nagel, Düren, D
 Mehrzweckbecher, PP, Ringschraubverschluss, 100 mL, graduiert, natur,
 Greiner Bio One, Frickenhausen, D
 Mikroliter Spritze 10µL, Hamilton, Bonaduz, CH
 Pasteurpipetten, Glas, 230 mm, Brand, Wertheim, D
 Pasteurpipetten, Glas, Hirschmann Laborgeräte, Eberstadt, D
 Pipettenspitzen für Eppendorf Reference®, 1000 µL (blau), Sarstedt, Nümbrecht, D
 Pipettenspitzen für Eppendorf Research®, 20 – 200 µL (gelb), Sarstedt,
 Nümbrecht, D
 Pipettenspitzen für Eppendorf Research®, 500 – 5000 µL (blau), Sarstedt,
 Nümbrecht, D
 Pipettenspitzen RAININ® C-10, 1 – 10 µL, Oakland, USA/Mettler-Toledo, Gießen, D
 Pipettenspitzen RAININ® C-100, 10 – 100 µL, Oakland, USA/Mettler-Toledo,
 Gießen, D
 RAININ® Pos D MR-10, 1 – 10 µL, RAININ Instrument, Oakland, USA/Mettler-
 Toledo, Gießen, D
 RAININ® Pos D MR-100, 10 – 100 µL, RAININ Instrument, Oakland, USA/
 Mettler-Toledo, Gießen, D
 Schraubkappen N8, schwarz, Loch, Sil. weiß, PTFE rot, 1,3 mm, Macherey-Nagel,
 Düren, D
 Siebe für Hochleistungs-Schneidmühle SM 300, Quadratlochgrößen von 2, 4 und
 10 mm, Retsch, Haan, D
 Styroporplatten, 20 cm x 10 cm, gelocht (Ø 23 mm)
 Zentrifugengläser, langkonisch, klar, 10 mL, graduiert, Schliff, NS 14/23
 Zentrifugenröhren, PP, klar, 50 mL, roter Schraubverschluss, Sarstedt Nümbrecht, D

5.13.2 Materialien zur Probenaufarbeitung

Chromabond® CN/SiOH, (500 mg/ 1 g), Polypropylen-Kartusche, Macherey-Nagel, Düren, D

Chromabond® SiOH, (1 g), Polypropylen-Kartusche, Macherey-Nagel, Düren, D

Chromabond® SiOH, (10 g), Polypropylen-Kartusche, Macherey-Nagel, Düren, D

Chromabond® SiOH, (2 g), Polypropylen-Kartusche, Macherey-Nagel, Düren, D

Chromabond® SiOH, (5 g), Polypropylen-Kartusche, Macherey-Nagel, Düren, D

Chromabond® Vakuumkammer, Macherey-Nagel, Düren, D

Chromatographie-Säule, Glas, Glasfritte, PTFE- Hahn, 300 mm x 10 mm, NS14/23, Lenz Laborglas, Wertheim, D

ISOLUTE® ENV+, 200 mg, 6 mL, Polypropylen-Kartusche, Biotage, Upsala, S

ISOLUTE® SI, 1 g, 6 mL, Polypropylen-Kartusche, Biotage, Upsala, S

Quarzwolle

Spitzkolben mit Reservoir, 100 mL, graduiert, NS14/23, Sonderanfertigung

Sep-Pak® Florisil 6cc Vac (1 g), Polypropylen-Kartusche, Waters, Eschborn, D

STRATA-X, 200 mg, 3 mL, Polypropylen-Kartusche, Phenomenex, Aschaffenburg, D

Wasserstrahlpumpe, Brand, Wertheim, D

5.13.3 Geräte

Hochleistungs-Schneidmühle SM 300, Retsch, Haan, D

Präzisionswaage BL-2200H, 2200 g/max, d = 0,01 g, Shimadzu, Makati City, Ph

Präzisionswaage SAE 80/200, 210 g/max, d = 0,1 mg, Bosch, Gerlingen, D

Rotationsverdampfer VV2000, Heidolph, Schwabach, D

Ultraschallbad Sonorex® Super, 240 W, Bandelin, Berlin, D

Vortexer VF-2, Jahnke & Kunkel, Staufen, D

Wärmeschrank UT 50/50/E, HERAEUS®, Hanau, D

Wasserbad WB2000, Heidolph, Schwabach, D

Zentrifuge Universal 30F, Hettich, Tuttlingen, D

5.13.4 PC-Systeme und Software

PC-Systeme:

Intel® Pentium® 4 CPU, 3,00 GHz, 2,99 GHz, 2,00 GB RAM

Intel® Core™ 2 Duo CPU T5250, 1,5 GHz, 2,00 GB RAM

Software:

ACD/ChemSketch, Version 12.01, Advanced Chemistry Development

Office 2003 Professional, Microsoft

SQS 2000, Software zur statistischen Qualitätskontrolle analytischer Daten, für Excel
97 unter Windows 95- Windows 99 – Windows NT 4.0, Dr. Joachim Kleiner,
Moos, D

Windows XP Professional, Microsoft

5.14 GCxGC-qMS-System

Shimadzu GCMS-QP2010 Plus, Shimadzu Corporation, Kyoto, J

Gaschromatograph GC2010 Gas Chromatograph, Shimadzu, Kyoto, J

Detektor GCMS-QP2010 Plus, Gas Chromatograph Mass
Spektrometer, Shimadzu, Kyoto, J

Autosampler AOC-20i Auto Injektor, Shimadzu, Kyoto, J

Modulator ZX1 LN2 cooled loop Modulator, Zoex, Houston, USA

Software GCMS Solution 2.50 SU3, Shimadzu, Kyoto, J

GC Image 1.9, Shimadzu, Kyoto, J

GC Image 2.0, Shimadzu, Kyoto, J

MS-Datenbank NIST 05

NIST 05s

WILEY 229

PC-System Inter Dell (Intel® Core™ 2 CPU, 2,13 GHz, 2,0 GB RAM)

GC-Kapillaren Zebron™ ZB-5HT Inferno (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)
5 % Phenylpolysiloxan, 95 % Dimethylpolysiloxan,
Phenomenex®, Aschaffenburg, D

Varian VF-17 μ s (1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m),
50% Phenylpolysiloxan, 50 % Dimethylpolysiloxan,
Darmstadt, D

5.14.1 Optimierte Methode für die Bestimmung der EPA-PAK

System: Shimadzu GCMS-QP2010 Plus,
Shimadzu Corporation, Kyoto, J

Trennparameter

Trennkapillare ¹D: Zebron™ ZB-5HT Inferno
(30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m),
Phenomenex®, Aschaffenburg, D

Trennkapillare ²D: Varian VF-17 μ s
(1 m x 0,1 mm x 0,1 μ m),
Varian, Darmstadt, D

Injektion: split (1:20)

Injektionsvolumen: 1 μ L

Injektortemperatur: 300 °C

Temperaturprogramm Ofen: 120 °C – 1 min
4 °/min – 320 °C
320 °C – 1 min

Trärgas: Helium

Trärgasfluss: 1,54 mL/min (Modus: konstanter Fluss)

Modulation: flüssiger Stickstoff
3 s

MS-Parameter

Modus: EI (70 eV)

Massenbereich: m/z 120 – 310 Da

Scangeschwindigkeit: 10000 amu/s

Scanrate:	25 Hz
Temperatur Ionenquelle:	300 °C
Temperatur Interface:	300 °C
Detektorspannung:	1,4 kV
Solvent Delay:	3,5 min

5.15 GCxGC-(TOF)MS-System

LECO® Pegasus III, LECO® Corporation, St. Joseph, USA

Gaschromatograph	GC 6890 N, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, USA
Detektor	Flugzeitmassenspektrometer, LECO® Corporation, St. Joseph, USA
Autosampler	7683, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, USA
Modulator	LECO® Thermal Modulation System, LECO® Corporation, St. Joseph, USA
Software	LECO® ChromaTOF™ Version 3.22, LECO® Corporation, St. Joseph, USA
MS-Datenbank	NIST 05 NIST 05s WILEY 229
PC-System	Dell Workstation PWS 370 (Intel® Pentium® 4 CPU, 2,99 GHz, 1,0 GB RAM) Dell Optiplex GX 620 (Intel® Pentium® 4 CPU, 3,19 GHz, 2,0 GB RAM)
GC-Kapillaren	FactorFour VF-5ms (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), Arylen-/Methyl- modifiziertes Äquivalent zu 5 % Phenylpolysiloxan, 95 % Dimethylpolysiloxan, Varian, Darmstadt, D BPX 50 (1,0 m x 0,1 mm x 0,1 µm) , 50% Phenylpolysiloxan, 50 % Dimethylpolysiloxan, SGE, Darmstadt, D

5.15.1 Optimierte Methode für die Bestimmung der EPA-PAK

System: LECO Pegasus III GCxGC-(TOF)MS

Trennparameter

Trennkapillare ¹D: FactorFour VF-5ms
(30 m x 0,25 mm x 0,25 µm),
Varian, Darmstadt, D

Trennkapillare ²D: BPX 50
(1,0 m x 0,1 mm x 0,1 µm),
SGE, Darmstadt, D

Injektion: splitless

Injektionsvolumen: 2 µL

Injektortemperatur: 330 °C

Temperaturprogramm Ofen 1: 40 °C - 1min
20 °/min – 100 °C
5 °/min – 320 °C
320 °C – 2 min

Temperaturprogramm Ofen 2: 70 °C – 1 min
20 °/min – 130 °C
5 °/min – 350 °C
350 °C – 2 min

Trägergas: Helium

Trägergasfluss: 1,4 mL/min (Modus: konstanter Fluss)

Modulation: flüssiger Stickstoff
5,2 s (hot pulse: 1,1 s; cool time: 1,5 s)

MS-Parameter

Modus: EI (- 70 V)

Massenbereich: m/z 110 – 290 Da

Scangeschwindigkeit: 200 Spektren/s

Scanrate: 20 Hz

Temperatur Ionenquelle:	250 °C
Temperatur Interface:	300 °C
Detektorspannung:	1600 V
Solvent Delay:	500 s

5.16 GC- Ion Trap MS-System

Gaschromatograph	Trace-GC-Ultra®, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA
Detektor	Polaris Q®, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA
Autosampler	AI/AS 3000, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA
Software	Xcalibur®, Version 2.0.7, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA
MS-Datenbank	NIST 2.0g
PC-System	Dell Optiplex 755 (Intel® Core™ 2 Duo CPU E6550, 2,33 GHz, 1,95 GB RAM)
GC-Kapillaren	OPTIMA-35-MS-0,25 µm (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), Silarylenphase, Polarität ähnlich 35 % Diphenylpolysiloxan, 65 % Dimethylpolysiloxan, Macherey-Nagel, Düren, D

5.16.1 Optimierte Methoden für die Bestimmung der EPA-PAK

Methode 1:

System:	Trace-GC-Ultra® gekoppelt mit Polaris Q®, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA
---------	--

Trennparameter

Trennkapillare:	OPTIMA-35-MS-0,25 μm (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm), Macherey-Nagel, Düren, D
Injektion:	splitless (PTV)
Injektionsvolumen:	1 μL
Injektortemperatur:	280 °C
Temperaturprogramm Ofen:	70 °C – 2 min 8 °/min – 240 °C 4 °/min – 310 °C 310 °C – 5 min
Trärgas:	Helium
Trärgasfluss:	1,0 mL/min (Modus: konstanter Fluss)

MS-Parameter

Modus:	EI (70 eV)
Massenbereich:	SIM Segment 1 – start time: 8,00 min m/z 128 Da, 136 Da Segment 2 – start time: 12,00 min m/z 152 Da, 153 Da, 166 Da, 178 Da, 188 Da, 202 Da, 228 Da, 240 Da Segment 3 – start time: 30,00 min m/z 252 Da, 264 Da, 276 Da, 278 Da
Micro Scans:	3
Max Ion Time:	25 ms
Polarität:	POS
Temperatur Ionenquelle:	250 °C
Temperatur Interface:	280 °C
Delay:	8 min

Method 2:

System: Trace-GC-Ultra® gekoppelt mit Polaris Q®,
Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA

Trennparameter

Trennkapillare: OPTIMA-35-MS-0,25 µm
(30 m x 0,25 mm x 0,25 µm),
Macherey-Nagel, Düren, D

Injektion: splitless

Injektionsvolumen: 1 µL

Injektortemperatur: 280 °C

Temperaturprogramm Ofen: 90 °C – 2 min
8 °/min – 220 °C
4 °/min – 300 °C
300 °C – 10 min

Trägergas: Helium

Trägergasfluss: 1,1 mL/min (Modus: konstanter Fluss)

MS-Parameter

Modus: EI (70 eV)

Massenbereich: SIM

Segment 1 – start time: 6,00 min
m/z 128 Da, 136 Da

Segment 2 – start time: 9,00 min
m/z 152 Da, 153 Da, 164 Da, 166 Da, 178 Da,
188 Da, 202 Da, 228 Da, 240 Da

Segment 3 – start time: 31,00 min
m/z 252 Da, 264 Da, 276 Da, 278 Da

Micro Scans: 3

Max Ion Time: 25 ms

Polarität: POS

Temperatur Ionenquelle: 250 °C

Experimenteller Teil

Temperatur Interface: 280 °C
Delay: 7 min

Methode 3:

System: Trace-GC-Ultra® gekoppelt mit Polaris Q®,
Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA

Trennparameter

Trennkapillare: OPTIMA-35-MS-0,25 µm
(30 m x 0,25 mm x 0,25 µm),
Macherey-Nagel, Düren, D

Injektion: splitless

Injektionsvolumen: 1 µL

Injektortemperatur: 280 °C

Temperaturprogramm Ofen: 70 °C – 2 min
8 °/min – 220 °C
4 °/min – 300 °C
300 °C – 10 min

Trägergas: Helium

Trägergasfluss: 1,1 mL/min (Modus: konstanter Fluss)

MS-Parameter

Modus: EI (70 eV)

Massenbereich: SIM

Segment 1 – start time: 7,00 min
m/z 128 Da, 136 Da

Segment 2 – start time: 12,00 min
m/z 152 Da, 153 Da, 164 Da, 166 Da, 178 Da,
202 Da, 228 Da, 240 Da

Segment 3 – start time: 34,00 min
m/z 252 Da, 264 Da, 276 Da, 278 Da

Micro Scans:	3
Max Ion Time:	25 ms
Polarität:	POS
Temperatur Ionenquelle:	250 °C
Temperatur Interface:	280 °C
Delay:	7 min

6 Anhang

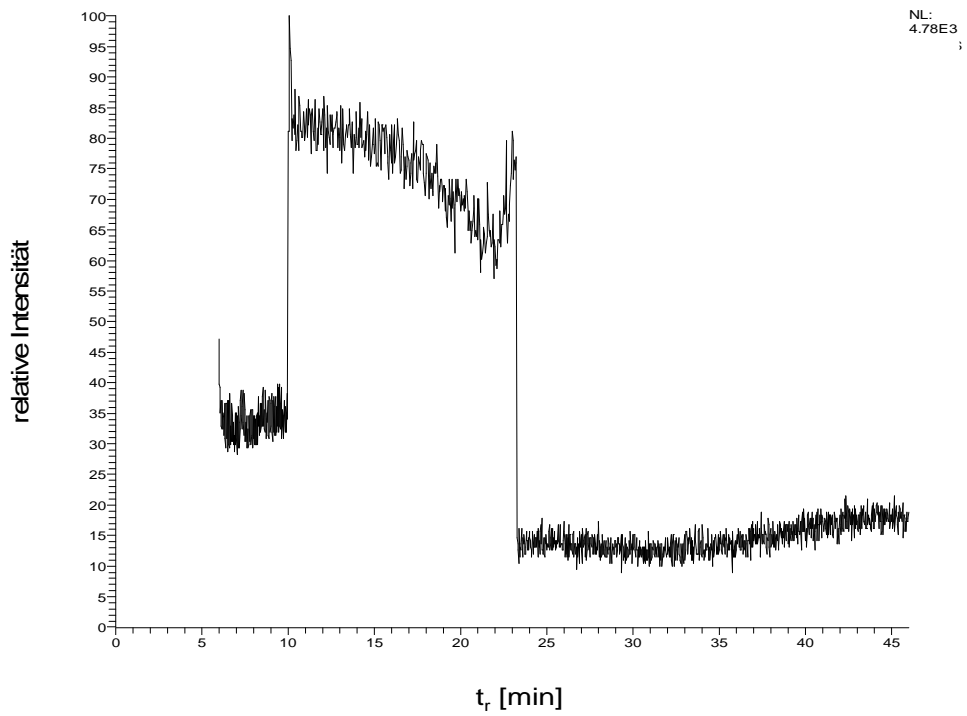


Abbildung 45: GC-MS-Analyse (SIC) vom Blindwert Toluol, Thermo-System

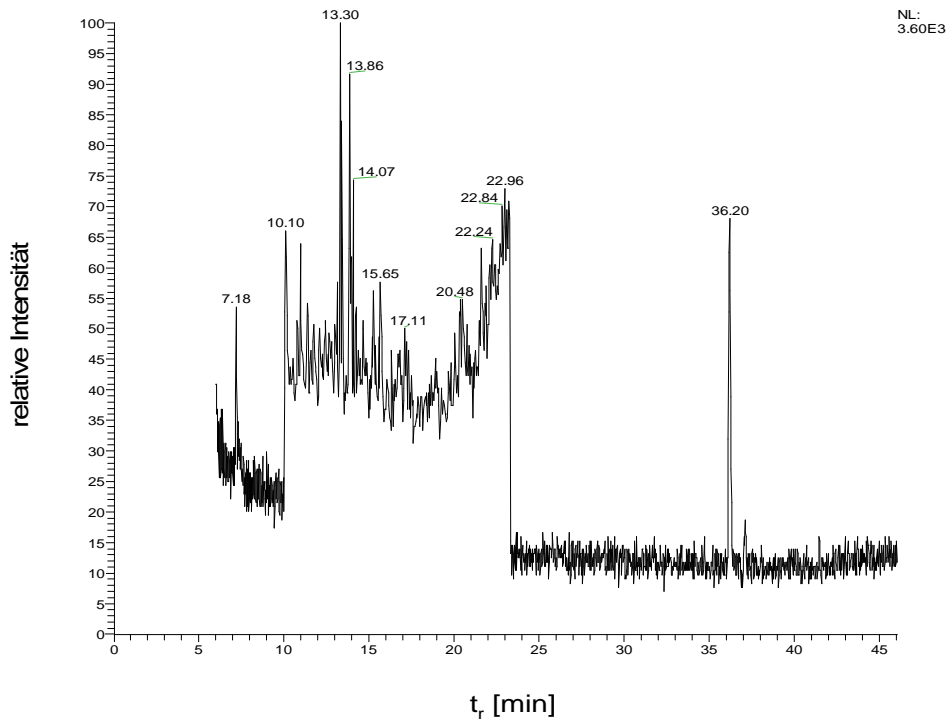


Abbildung 46: GC-MS-Analyse (SIC) vom Reagenzienblindwert nach Aufreinigung über die 1 g-Kartuschen, Thermo-System

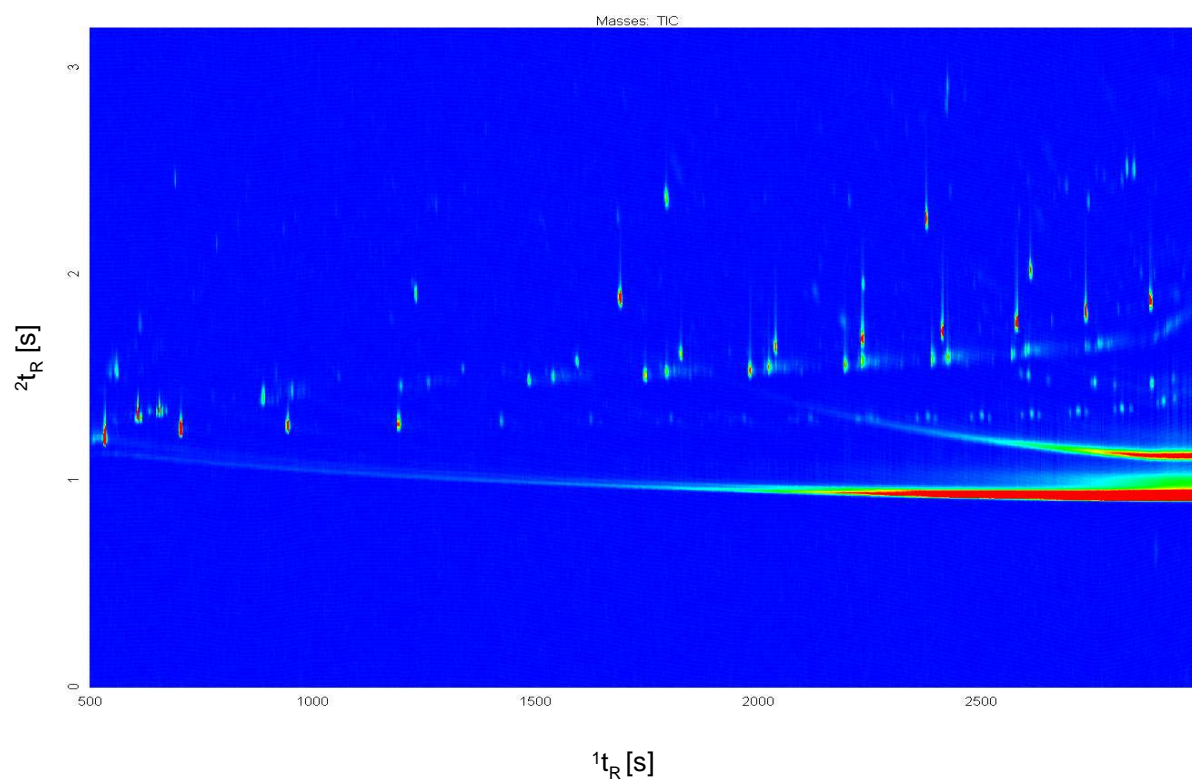


Abbildung 47: GCxGC-(TOF)MS-Analyse des Blindwertes Toluol (Modulationszeit 3,2 s, Temperaturdifferenz der Säulenöfen 30 °C, TIC m/z 110 – 290 Da), LECO-System

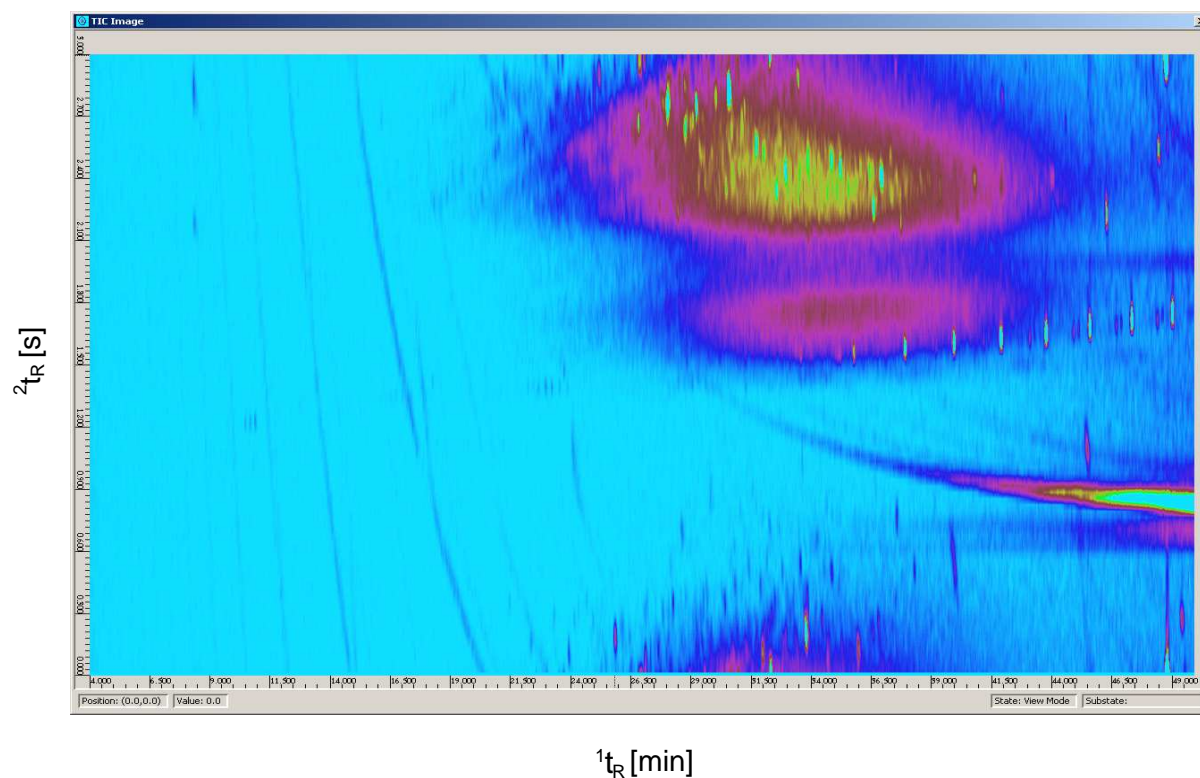


Abbildung 48: GCxGC-MS-Analyse (TIC) des Massenbereiches m/z 120 – 310 Da vom schwarzen Schaumgummi-Extrakt, aufgearbeitet nach Methode ZEK 01.2-08 [71], Shimadzu-System

6.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Strukturen und Summenformeln der 16 EPA-PAK	2
Abbildung 2:	Fließschema für die Probenvorbereitung gemäß ZEK 01.2-08.....	15
Abbildung 3:	Fließschema für das clean-up gemäß ZEK 01.2-08	16
Abbildung 4:	Schematische Darstellung der eindimensionalen Gaschromatographie	19
Abbildung 5:	Schematische Darstellung der zweidimensionalen Gaschromatographie	21
Abbildung 6:	Schematische Darstellung der comprehensive zweidimensionalen Gaschromatographie (GCxGC)	23
Abbildung 7:	Loop Modulator der Firma ZOEX.....	25
Abbildung 8:	Quad-Jet-Modulator LN ₂ der Firma LECO	26
Abbildung 9:	Datenverarbeitungsprinzip in der GCxGC.....	29
Abbildung 10:	GC-MS-Analyse (SIC) der 16 EPA-PAK, Thermo-System.....	34
Abbildung 11:	Kalibriergeraden für Naphthalin, Anthracen, Benzo[b]fluoranthen und Benzo[g,h,i]perylen	37
Abbildung 12:	Kalibriergeraden für Phenanthren, Benzo[a]anthracen, Pyren und Fluoren.....	37
Abbildung 13:	Kalibriergeraden für Chrysen, Acenaphthen, Benzo[a]pyren und Indeno[1,2,3-c,d]pyren.....	38
Abbildung 14:	Kalibriergeraden für Acenaphthylen, Fluoranthen, Benzo[k]fluoranthen und Dibenzo[a,h]anthracen	38
Abbildung 15:	Fließschema für die optimierte Probenvorbereitung für Proben mit geringen Konzentrationen der EPA-PAK	43
Abbildung 16:	Öliger Abdampfrückstand eines optisch unscheinbaren Aliquots nach Extraktion eines schwarzen Elastomers im Ultraschallbad ...	45
Abbildung 17:	GC-MS-Analyse des über Glassäulen aufgereinigten Extraktes einer grau eingefärbten Gummiprobe (Kat. 3), Thermo-System....	50
Abbildung 18:	GC-MS-Analyse des über Glassäulen aufgereinigten Extraktes eines farblos weißen, weichen Kunststoffes (Kat. 3), Thermo-System	51

Abbildung 19:	GC-MS-Analysen (SIC) der einzelnen Eluatfraktionen eines rot eingefärbten Weich-PVC-Material-Extraktes bei der Aufreinigung über die selbstgepackten Glassäulen, Thermo-System.....	53
Abbildung 20:	Qualitativer Vergleich der GC-MS-Analysen (SIC) für eine Aufreinigung eines Extraktes eines unbekanntes Elastomers über die manuell mit Kieselgel gepackten Glassäulen und den Kieselgel-Kartuschen, Thermo-System	56
Abbildung 21:	Qualitativer Vergleich der GC-MS-Analysen (Einzelmassenspur m/z 202 Da) für eine Aufreinigung eines Extraktes einer weichen Kunststoffprobe über die manuell mit Kieselgel gepackten Glassäulen und den Kieselgel-Kartuschen, Thermo-System.....	57
Abbildung 22:	Fließschema für die optimierte Probenvorbereitung für Proben mit geringen Konzentrationen der 16 EPA-PAK	58
Abbildung 23:	GC-MS-Analyse (SIC) eines Weich-Kunststoff-Extraktes, aufgearbeitet gemäß optimierter Aufreinigungsmethode über 1 g-Kieselgel-Kartuschen, Thermo-System	59
Abbildung 24:	GC-MS-Analyse (SIC) eines Weich-Kunststoff-Extraktes, aufgearbeitet über eine Kombi-Phase aus Cyanopropoyl/SiOH, Thermo-System	60
Abbildung 25:	GC-MS-Analyse (SIC) eines Weich-Kunststoff-Extraktes, aufgearbeitet über eine 1 g-Florisil-Kartusche, Thermo-System....	61
Abbildung 26:	Zerkleinerung mit der Schneidmühle SM 300 der Firma Retsch....	64
Abbildung 27:	GCxGC-MS-Analyse (TIC) der 18 PAK, Konzentration 500 µg/L, Shimadzu-System.....	72
Abbildung 28:	Zwei elastische Materialien nach Versprödung und Zerkleinerung mittels Schneidmühle SM 300	74
Abbildung 29:	GC-MS-Analyse (TIC) des Massenbereiches m/z 120 – 310 Da vom schwarzen Material, aufgearbeitet nach Methode ZEK 01.2-08, Shimadzu-System.....	75
Abbildung 30:	GC-MS-Analyse (EIC) der Einzelmassenspur m/z 202 Da vom schwarzen Material, aufgearbeitet nach Methode ZEK 01.2-08, Shimadzu-System.....	75

Abbildung 31:	GCxGC-MS-Analyse (TIC) des Massenbereiches m/z 120 – 310 Da vom schwarzen Material, aufgearbeitet nach Methode ZEK 01.2-08, Shimadzu-System.....	76
Abbildung 32:	GCxGC-MS-Analyse (EIC) der Einzelmassenspur m/z 202 Da vom schwarzen Material, aufgearbeitet nach Methode ZEK 01.2-08, Shimadzu-System.....	77
Abbildung 33:	GCxGC-MS-Analyse (TIC) des Massenbereiches m/z 120 –j 310 Da vom farblos weißen Material, aufgearbeitet nach Methode ZEK 01.2-08, Shimadzu-System.....	78
Abbildung 34:	GCxGC-MS-Analyse (EIC) der Einzelmassenspur m/z 202 Da vom farblos weißen Material, aufgearbeitet nach Methode ZEK 01.2-08, Shimadzu-System.....	79
Abbildung 35:	GCxGC-(TOF)MS-Analyse der 21 PAK, Konzentration 250 µg/L (Modulationszeit 3,2 s, Temperaturdifferenz der Säulenöfen 20 °C, TIC m/z 110 – 290 Da), LECO-System.....	81
Abbildung 36:	GCxGC-(TOF)MS-Analyse der 21 PAK, Konzentration 250 µg/L (Modulationszeit 5,2 s, Temperaturdifferenz der Säulenöfen 30 °C, TIC m/z 110 – 290 Da), LECO-System.....	82
Abbildung 37:	GC-(TOF)MS-Analyse (TIC) des Massenbereiches m/z 110 – 290 Da vom schwarzen Material, aufgearbeitet nach der optimierten Methode, LECO-System	84
Abbildung 38:	GC-(TOF)MS-Analyse (EIC) der Einzelmassenspur m/z 202 Da vom schwarzen Material, aufgearbeitet nach der optimierten Methode, LECO-System.....	84
Abbildung 39:	GCxGC-(TOF)MS-Analyse (TIC) des Massenbereiches m/z 110 – 290 Da vom schwarzen Material, aufgearbeitet nach der optimierten Methode, LECO-System	85
Abbildung 40:	GCxGC-(TOF)MS-Analyse (EIC) der Einzelmassenspur m/z 202 Da vom schwarzen Material, aufgearbeitet nach der optimierten Methode, LECO-System	86
Abbildung 41:	GCxGC-(TOF)MS-Analyse (TIC) des Massenbereiches m/z 110 - 290 Da vom Material der Lenkradaußenhülle, aufgearbeitet nach der optimierten Methode, LECO-System.....	88

Abbildung 42:	GCxGC-(TOF)MS-Analyse (TIC) des Massenbereiches m/z 110 – 290 Da vom Material der Ballhupe, aufgearbeitet nach der optimierten Methode, LECO-System	89
Abbildung 43:	GCxGC-(TOF)MS-Analyse (TIC) des Massenbereiches m/z 110 - 290 Da vom Material der Ballhupe, aufgearbeitet nach der optimierten Methode, LECO-System	91
Abbildung 44:	(1+1) REMPI-Prozess schematisch dargestellt	96
Abbildung 45:	GC-MS-Analyse (SIC) vom Blindwert Toluol, Thermo-System	120
Abbildung 46:	GC-MS-Analyse (SIC) vom Reagenzienblindwert nach Aufreinigung über die 1 g-Kartuschen, Thermo-System	120
Abbildung 47:	GCxGC-(TOF)MS-Analyse des Blindwertes Toluol (Modulationszeit 3,2 s, Temperaturdifferenz der Säulenöfen 30°C, TIC m/z 110 - 290 Da), LECO-System.....	121
Abbildung 48:	GCxGC-MS-Analyse (TIC) des Massenbereiches m/z 120 – 310 Da vom schwarzen Schaumgummi, aufgearbeitet nach Methode ZEK 01.2-08, Shimadzu-System.....	121

6.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Einteilung von 7 EPA-PAK gemäß VO (EG) 1272/2008 und RL 67/548/EWG	3
Tabelle 2:	Klassifizierung der 16 EPA-PAK nach IARC	4
Tabelle 3:	Kanzerogenität der diversen Ölarnten.....	6
Tabelle 4:	Spezifikationen für Ruß in diversen Empfehlungen des BfR	10
Tabelle 5:	Empfohlene PAK-Höchstgehalte.....	11
Tabelle 6:	Vorgegebene Auswahl und Bezugnahme der internen Standards auf die einzelnen 16 EPA-PAK.....	14
Tabelle 7:	Gaschromatographische Messbedingungen gemäß ZEK 01.2-08.....	17
Tabelle 8:	Beispielhafte gaschromatographische Messbedingungen für die Analyse.....	34
Tabelle 9:	Retentionszeiten der 16 EPA-PAK der GC-MS-Analyse mit den in Tabelle 8 beschriebenen Einstellungen.....	35
Tabelle 10:	Kalibrierdaten der 16 EPA-PAK gemäß DIN 32645	36

Tabelle 11:	Validierungskenndaten gemäß DIN 32645 aus der externen Kalibrierung der 16 EPA-PAK.....	39
Tabelle 12:	Statistische Kenndaten ermittelt aus den Wiederholmessungen des Kontrollstandards.....	40
Tabelle 13:	Bestimmung der Wiederfindung nach Aufreinigung eines Mischstandards (500 µg/L) über die Glassäulen (4 g Kieselgel, Elution mit Petrolether)	48
Tabelle 14:	Bestimmung der Wiederfindung nach Aufreinigung eines Mischstandards (500 µg/L) über die Kartuschen (1 g Kieselgel, Elution mit iso-Hexan)	55
Tabelle 15:	Ergebnisse der Gehaltsbestimmung für die Zerkleinerungsversuche .	66
Tabelle 16:	Unterschiede zwischen den beiden verwendeten GCxGC-Systemen.	70
Tabelle 17:	Qualifizierung der 18 PAK, Konzentration 500 µg/L, Shimadzu-System	73
Tabelle 18:	Validierungskenndaten aus der externen Kalibrierung der 16 EPA-PAK, LECO-System	83
Tabelle 19:	PAK-Gehalte in den Realproben (Lenkradaußenhülle, Ballhupe), aufgearbeitet nach optimierter Methode	90
Tabelle 20:	Beispielverbindungen aus der Klassifizierung.....	93
Tabelle 21:	Ansatzschema für die Herstellung der Standard-Lösungen der 16 EPA-PAK und der deuterierten PAK für die Kalibrierung.....	100
Tabelle 22:	Konzentrationen der 16 EPA-PAK in der Stammlösung des Kontrollstandards.....	102

7 Literaturverzeichnis

- [1] Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch vom 22. August 2011 (BGBl. I Nr. 47 vom 08.09.2011 S.1770), zuletzt geändert durch Artikel 3 des Gesetzes zur Änderung des Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuches vom 15. März 2012 (BGBl. I Nr. 14 S. 481)
- [2] World Health Organization, Toxicological and Health Aspects of Bisphenol A, Report, 2011;
http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/97892141564274_eng.pdf
- [3] BfR 2008: Neue Studien zu Bisphenol A stellen die bisherige Risikobewertung nicht in Frage. Information Nr. 036/2008 vom 19. September 2008
- [4] BfR 2010: Bisphenol A: Studien von Stump et al. (2010) und Ryan et al. (2010) ergeben keine Hinweise für nachteilige Auswirkungen auf die neurologische Entwicklung und das Verhalten. Stellungnahme Nr. 035/2010 vom 29. Juli 2010
- [5] Pressedienst des BGVV 1997: Weichmacher in Spielzeug für Kleinkinder deutlich minimieren oder alternative Materialien einsetzen! Presseinformation 30/1997 vom 12. Dezember 1997
- [6] BfR 2004: Gesundheitsschädliche Stoffe in Scoubidou-Bändern. Aktualisierte Stellungnahme vom 13. September 2004
- [7] BfR 2009: PAK in verbrauchernahen Produkten müssen so weit wie möglich minimiert werden. Aktualisierte Stellungnahme Nr. 025/2009 vom 08. Juni 2009
- [8] BfR 2009: Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) in Spielzeug. Aktualisierte Stellungnahme Nr. 051/2009 vom 14. Oktober 2009, aktualisiert am 21. Dezember 2009
- [9] Stiftung Warentest, Das ist der Hammer, Haus + Garten, Schnelltest vom 17.06.2005
<http://www.test.de/themen/haus-garten/schnelltest/Hammerset-von-Aldi-Das-ist-der-Hammer-1269956-2269956/>
- [10] Stiftung Warentest, Giftiges Zeug, Haus + Garten, Schnelltest vom 17.06.2005
<http://www.test.de/themen/haus-garten/schnelltest/Billig-Werkzeug-von-Lidl-und-Plus-Giftiges-Zeug-1291896-2291896/>
- [11] Srogi K., Monitoring of environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a review, *Environmental Chemistry Letters* **2007**, 5,169-195
- [12] WHO Regional Publications, Air Quality guidelines for Europe, second Edition, European Series ; No. 91, **2000**, World Health Organization, Regional Office for Europe in Copenhagen, Denmark
http://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0005/74732/E71922.pdf

- [13] McGowin A.E., Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Chromatographic Analysis of the Environment, Chromatographic Science Series, 3rd Edition, Volume 93, **2006**, edited by Nollet L.M.L, Taylor & Francis Group, LCC, USA
- [14] Henner P., Schiavon M., Morel J.-L., Lichtfouse E., Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) occurrence and remediation methods, revised version, *Analisis Magazine* **1997**, 25, M56-M59
- [15] International Agency for Research on Cancer, IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Polynuclear aromatic compounds, Part 3, Industrial exposures in aluminium production, coal gasification, coke production, and iron and steel founding, **1984**, Volume 34, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France
- [16] International Agency for Research on Cancer, IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Polynuclear aromatic compounds, Part 1, Chemical, environmental and experimental data, **1972**, Volume 32, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France
- [17] International Agency for Research on Cancer, IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Certain polycyclic aromatic hydrocarbons and heterocyclic compounds, **1983**, Volume 3, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France
- [18] Jacob J., The significance of polycyclic aromatic hydrocarbons as environmental carcinogens, *Pure and Applied Chemistry* **1996**, 68, 2, 301-308 IUPAC, Great Britain
- [19] Informationsstelle Humanbiomonitoring, Human-Biomonitoring: Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK), Helmholtz Zentrum München – Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt, Juli 2008, Neuherberg
- [20] McClean M.D., Rinehart R.D., Ngo L., Eisen E.A., Kelsey K.T., Wiencke J.K., Herrick R.F., Urinary 1-Hydroxypyrene and Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Exposure Among Asphalt Paving workers, *Annals of Occupational Hygiene* **2004**, 48, 565-578
- [21] Nilsson R., Nordlinder R., Moen B.E., Øvrebo S., Bleie K., Skorve A.H., Hollund B.E., Tagesson C., Increased urinary excretion of 8-hydroxydeoxyguanosine in engine room personnel exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons, *Journal of Occupational and Environmental Medicine* **2004**, 61, 692-696
- [22] McClean M.D., Rinehart R.D., Ngo L., Eisen E.A., Kelsey K.T., Herrick R.F., Inhalation and Dermal Exposure among Asphalt Paving Workers, *Annals of Occupational Hygiene* **2004**, 18, 8, 663-671
- [23] Christopheer Y., van Tongeren M., Urbanus J., Cherrie J.W., An Assessment of Dermal Exposure to Heavy Fuel Oil (HFO) in Occupational Settings, *Annals of Occupational Hygiene* **2011**, 55, 3, 319-328

- [24] Reineke W., Schlömann M., Umweltmikrobiologie, 1. Auflage, **2007**, Elsevier GmbH, München
- [25] Eisenbrand G., Metzler M., Hennecke F.J., Toxikologie, 3. aktualisierte Auflage, **2005**, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim
- [26] World Health Organization, International Agency for Research on cancer, Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures, IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (2005: Lyon, France), IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human **2010**, Volume 92, France
- [27] Kim H-Y, Harvey R.G., Penning T.M., Blair I., May B., Studies of PAH Metabolic Activation Pathways by LC/MS, *Chemical Research in Toxicology* **2003**, 16, 1661-1688
- [28] Penning T.M., Mechanisms of Carcinogenesis: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH), *Chemical Research in Toxicology* **2005**, 18, 1967-1991
- [29] Park J. H., Penning T.M., PAH o-Quinones Produced by the AKR Pathway Predominantly generate abasic sites and 8-Oxo-dGuo via reactive oxygen, *Chemical Research in Toxicology* **2005**, 18, 1967-1991
- [30] Tacka K.A., Penning T.M., Measuring PAH-induced oxidative stress in human lung cells, *Chemical Research in Toxicology* **2005**, 18, 1967-1991
- [31] Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Dezember 2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und Aufhebung der Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG und zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006, zuletzt geändert durch Verordnung (EG) 286/2011 (Abl. Nr. L 83 vom 30.03.2011 S.1, ber. L 183 S. 66, ber. L 246 S. 34)
- [32] Richtlinie 67/548/EWG des Rates vom 27. Juni 1967 zur Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften für die Einstufung, Verpackung und Kennzeichnung gefährlicher Stoffe (aufgehoben durch VO (EG) 1272/2008)
- [33] International Agency for Research on Cancer, Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–102, last updated 17. Juni 2011, <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsAlphaOrder.pdf>
- [34] Hamm S., Frey T., Wienand R., Moninot G., Petiniot N., Investigations on the extraction and migration behaviour of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from cured rubber formulations containing Carbon Black as reinforcing agent, *Rubber Chemistry and Technology* **2009**, 82, 2, 214-228
- [35] BfR 2006: 1.Sitzung der Ad-hoc-Arbeitsgruppe PAK der Vorläufigen Kunststoffkommission des BfR, Bericht vom 13. Dezember 2006

- [36] BfR 2007: 2.Sitzung der Ad-hoc-Arbeitsgruppe PAK der Vorläufigen Kunststoffkommission des BfR, Bericht vom 10. Dezember 2007
- [37] International Agency for Research on Cancer, IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Polynuclear Aromatic Hydrocarbons, Part 2, Carbon Blacks, Mineral Oils (Lubricant Base Oils and Derived Products) and Some Nitroarenes **1998**, Volume 33, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France
- [38] Grandella M., Clonfero E., The mutagenic activity and polycyclic aromatic hydrocarbon content of mineral oils, *International Archive of Occupational and Environmental Health* **1991**, 63, 149-153,
- [39] Grimmer G., Jacon J., Naujack K.-W., Profile of the Polycyclic Aromatic Compounds from Crude Oils, Part 3, *Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie* **1983**, 314, 29-36
- [40] Doak S.M.A, Brown V.K.H., Hunt P.F., Smith J.D., Roe F.J.C, The carcinogenic potential of twelve refined mineral oils following long-term topical application, *British Journal of Cancer* **1983**, 48, 429-436
- [41] Roy T.A., Johnson S.W., Blackburn G.R., Mackerer C.R., Correlation of mutagenic and dermal carcinogenic activities of mineral oils with polycyclic aromatic compound content, *Fundamental and Applied Toxicology* **1988**, 10, 3, 466-476
- [42] Cruickshank C.N.D., Squirb J.R., Skin cancer in the engineering industry from the use of mineral oil, *British Journal of industrial medicine* **1950**, 7, 1-11
- [43] Tolbert P.E., Oils and cancer, *Cancer Causes and Control* **1997**, 8, 386-405
- [44] Müller A., Einfärben von Kunststoffen, **2002**, Carl Hanser Verlag, München, Wien
- [45] Charvat R.A., Colouring of plastics, second edition, **2003**, John Wiley & Sons Incorporation, New Jersey
- [46] International Carbon Black Association, Carbon Black User's Guide, **2004**, International Carbon Black Association
- [47] Röthemeyer F., Sommer F., Kautschuk Technologie, 2. überarbeitete Auflage, **2006**, Carl Hanser Verlag, München
- [48] International Carbon Black Association, "Statement Regarding the Presence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) in Carbon Black", **2006**, published online unter <http://www.carbon-black.org/ICBA%20PAH%20Statement.pdf>

- [49] International Agency for Research on Cancer, IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Printing Processes and Print inks, Carbon black and Some Nitro Compounds, **1997**, Volume 65, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France
- [50] Gardiner K., Trethowan N.W., Harrington J.M., Rossiter C.E., Calvert I.A., Respiratory health effects of carbon black: a survey of European carbon black workers, *British Journal of Industrial Medicine* **1993**, 50, 1082-1096
- [51] Gardiner K., Tongeren M. v., Harrington M., Respiratory health effects from exposure to carbon black: results of the phase 2 and 3 cross sectional studies in the European carbon black manufacturing industry, *Journal of Occupational and Environmental Medicine* **2001**, 58, 496-503
- [52] Harber P., Muranko H., Solis S., Torossian A., Merz B., Effect of Carbon Black Exposure on Respiratory Function and Symptoms, *Journal of Occupational and Environmental Medicine* **2003**, 45,144-155
- [53] Verordnung (EG) Nr. 1935/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 27. Oktober 2004 über Materialien und Gegenstände, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen und zur Aufhebung der Richtlinien 80/590/EWG und 89/109/EWG (ABl. Nr. L 338 vom 13.11.2004 S. 4), zuletzt geändert durch VO (EG) Nr. 596/2009 (ABl. Nr. L 188 vom 18.07.2009 S. 14)
- [54] Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (TrinkwV 2001 – Trinkwasserverordnung) vom 28. November 2011, zuletzt geändert durch BGBl. I Nr. 61 vom 06.12.2011 S. 2370, 22.12.2011, Gl.-Nr.: 2126-13-1
- [55] Verordnung über Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer (AbwV – Abwasserverordnung) vom 17. Juni 2004, zuletzt geändert durch BGBl. I Nr. 28 vom 24.02.2012 S. 212, Gl.-Nr.: 753-1-5
- [56] 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 (ABl. Nr. L 23 vom 26.01.2005 S. 3) zuletzt geändert durch VO (EG) 219/2009 (ABl. Nr. L 87 vom 31.03.2009 S. 109)
- [57] Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 der Kommission vom 19. Dezember 2006 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln (ABl. Nr. L 364 vom 20.12.2006 S. 5) zuletzt geändert durch VO (EU) Nr. 1259/2011 (ABl. Nr. L 320 vom 03.12.2011 S. 18)
- [58] Gesetz über technische Arbeitsmittel und Verbraucherprodukte (GPSG) vom 6. Januar 2004 zuletzt geändert durch BGBl. I Nr. 1 vom 07.03.2011 S. 338, Gl.-Nr.: 8053-7

- [59] Gesetz über die Bereitstellung von Produkten auf dem Markt (Produktsicherheitsgesetz – ProdSG) vom 8. November 2011 (BGBl. I S. 2179; 2012 I S. 131)
- [60] Verordnung des Bundesministers für Gesundheit über die Sicherheit von Spielzeug (Spielzeugverordnung 2011) StF: BGBl. II Nr. 203/2011, Auf Grund des § 19 des Lebensmittelsicherheits- und Verbraucherschutzgesetzes - LMSVG, BGBl. I Nr. 13/2006, zuletzt geändert durch das Bundesgesetz BGBl. I Nr. 95/2010
- [61] Verordnung (EU) Nr. 10/2011 der Kommission vom 14. Januar 2011 über Materialien und Gegenstände aus Kunststoff, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen (ABl. Nr. L 12 vom 15.01.2011 S. 1) zuletzt geändert durch VO (EU) Nr. 321/2011 (ABl. Nr. L 87 vom 02.04.2011 S. 1); (ber., ABL. Nr. L 278 vom 25.10.2011 S. 13)
- [62] 82. Mitteilung zur Untersuchung von Kunststoffen [Bundesgesundhbl. 15 (1972) 268]
- [63] Datenbank BfR-Empfehlungen zu Materialien für den Lebensmittelkontakt, LII. Füllstoffe, Stand vom 01.01.2012 unter <http://bfr.zadi.de/kse/faces/resources/pdf/520.pdf>
- [64] Datenbank BfR-Empfehlungen zu Materialien für den Lebensmittelkontakt, IX. Farbmittel zum Einfärben von Kunststoffen und anderen Polymeren für Bedarfsgegenstände, Stand vom 01.01.2010 unter <http://bfr.zadi.de/kse/faces/resources/pdf/090.pdf>
- [65] Datenbank BfR-Empfehlungen zu Materialien für den Lebensmittelkontakt, XXI. Bedarfsgegenstände auf Basis von Natur- und Synthetikgummi, Stand vom 01.03.2011 unter <http://bfr.zadi.de/kse/faces/resources/pdf/210.pdf>
- [66] 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 Chemikalienagentur, 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 - REACH-Verordnung - , zuletzt geändert durch VO (EU) Nr. 412/2012 (ABl. Nr. L 128 vom 16.05.2012 S. 1)
- [67] BfR 2010, 2. Sitzung des Ausschusses Spielzeug der BfR-Kommission Bedarfsgegenstände, Protokoll vom 2. Dezember 2010 unter http://www.bfr.bund.de/cm/343/2_sitzung_des_ausschusses_spielzeug_der_bfr_kommission_fuer_bedarfsgegenstaende.pdf

- [68] Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA), ANNEX XV RESTRICTION REPORT PROPOSAL FOR A RESTRICTION, Version Number 1, 31.05.2010 unter http://www.bfr.bund.de/cm/343/pak_annex_XV_restriction_report_proposal_for_a_restriction.pdf
- [69] BfR 2010, Krebserzeugende polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) in Verbraucherprodukten sollen EU-weit reguliert werden – Risikobewertung des BfR im Rahmen eines Beschränkungs-vorschlages unter REACH, Stellungnahme Nr. 032/2010 des BfR vom 26. Juli 2010 unter http://www.bfr.bund.de/cm/343/krebserzeugende_polyzyklische_aromatische_kohlenwasserstoffe_pak_in_verbraucherprodukten_sollen_eu_weit_reguliert_werden.pdf
- [70] BfR 2011, 7. Sitzung der BfR-Kommission für Bedarfsgegenstände, Protokoll der Sitzung vom 14. April 2011 unter http://www.bfr.bund.de/cm/343/2_sitzung_des_ausschusses_spielzeug_der_bfr_kommission_fuer_bedarfsgegenstaende.pdf
- [71] Zentralstelle der Länder für Sicherheitstechnik, ZEK 01.2-08, Prüfung und Bewertung von Polycyclischen Kohlenwasserstoffen (PAK) bei der GS-Zeichen-Zuerkennung (2008)
- [72] Zentralstelle der Länder für Sicherheitstechnik, ZEK 01.3-08, Prüfung und Bewertung von Polycyclischen Kohlenwasserstoffen (PAK) bei der GS-Zeichen-Zuerkennung (2011)
- [73] Zentralstelle der Länder für Sicherheitstechnik, ZEK 01.4-08, Prüfung und Bewertung von Polycyclischen Kohlenwasserstoffen (PAK) bei der GS-Zeichen-Zuerkennung (2011)
- [74] Schwedt G., Vogt C, *Analytische Trennmethoden*, **2010**, WILEY-VCH Verlag Weinheim
- [75] Hübschmann H.-J., *Handbook of GC/MS*, **2009**, WILEY-VCH Verlag Weinheim
- [76] Gey M. H, *Instrumentelle Analytik und Bioanalytik*, **2008**, Springer Verlag Berlin Heidelberg
- [77] Poster D.L, Schantz M.M, Sander L.S, Wise S.A., Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in environmental samples: a critical review of gas chromatographic (GC) methods, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2006**, 386, 859-881
- [78] Martin A.J.P., Syngé R.L.M., A new form of chromatogram employing two liquid phases, *Biochemical Journal* **1941**, 35(12), 1358 – 1368
- [79] James A.T., Martin A.J.P., Gas-Liquid Partition Chromatography – A Technique for the Analysis of Volatile Materials, *The Analyst* **1952**, 77, 915 – 932

- [80] Adlard E.R., 50 Years of Gas Chromatography, Historical Review, *Chromatographia Supplement* **2003**, 75, S-13 – S-18
- [81] Golay M.J.F, Gas Chromatography (*Amsterdam Symposium, 1958*), Desty D.H, Ed. (Butterworths, London, 1958), 36-55
- [82] Dandeneau R.D., Zerenner E.H., An investigation of glasses for capillary chromatography, *Journal of High Resolution Chromatography & Chromatography Communications* **1979**, 2, 351 - 356
- [83] Demedts P., van der Verren J., Heyndrickx A., Recent developments in GC column technology – An illustration of its interest in forensic toxicology, *Forensic Science International* **1983**, 23, 137 – 142
- [84] Ettre L.S., Evolution of capillary columns for gas chromatography, *LC GC* **2001**, 19, 48 – 59
- [85] Deans D.R., A New Technique for Heart Cutting in Gas Chromatography, *Chromatographia* **1968**, 1, 18 – 22
- [86] Schomburg G., Two-dimensional gas chromatography: principles, instrumentation, methods, *Journal of chromatography A* **1995**, 703, 309 – 325
- [87] Ramos L., Brinkmann U.A.Th., Multidimensionality in Gas Chromatography: General Concepts, *Comprehensive Analytical Chemistry* **2009**, 55, 3 – 14
- [88] Schomburg G., Husmann H., Weeke F., Aspects of double-column gas chromatography with glass capillaries involving intermediate trapping, *Journal of Chromatography* **1975**, 112, 205 – 217
- [89] Bertsch W., Anderson E., Holzer G., Two-Dimensional High Resolution GLC Environmental Analysis, Preliminary Results, *Chromatographia* **1977**, 10, 449 – 454
- [90] Ryan D., Mariott P., Comprehensive two-dimensional gas chromatography, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2003**, 376, 295 – 297
- [91] Schoenmakers P., Mariott P., Beens J., Nomenclature and Conventions in Comprehensive Multidimensional Chromatography, *LC GC Europe* **2003**, June 1, 1 – 4
- [92] Mariott P., Schoenmakers P., Wu Z-y., Nomenclature and Conventions in Comprehensive Multidimensional Chromatography – An Update, *LC GC Europe* **2012**, May 1, 266 – 275
- [93] Mac Namara K., Leardi R., Hoffmann A., Developments in 2D GC with Heartcutting, *LC GC Europe* **2003**, Dec 2, 14 – 22
- [94] Mariott J.P, Morrison P.D., Shellie R.A., Dunn M.S., Sari E., Ryan D., Multidimensional and Comprehensive – Two-Dimensional Gas Chromatography, *LC GC Europe* **2003**, Dec 2, 2 – 10

- [95] Schomburg G., Weeke F., Multidimensional Gas chromatography (MDC) in Capillary Columns Using double Oven Instruments and a Newly Designed Coupling Piece for Monitoring Detection After Pre-Separation, *Chromatographia* **1982**, 16, 87 – 91
- [96] Beens J., Brinkmann U.A.Th., Comprehensive two-dimensional gas chromatography – a powerful and widely applicable technique, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2004**, 278, 1939 – 1943
- [97] Liu Z.; Phillips J.B., Comprehensive Two-dimensional Gas Chromatography using an On-Column Thermal Modulator Interface, *Journal of Chromatographic Science* **1991**, 29, 227 - 231
- [98] Hinshaw J.V., Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography, *LC GC Europe* **2004**, Feb 1, 2 – 7
- [99] Dallüge J., Beens J., Brinkmann U.A.Th., Comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC): a powerful and versatile analytical tool, *Journal of Chromatography A* **2003**, 1000, 1 – 2, 69 - 108
- [100] Marriott P. J., Chin S.-T., Maikhunthod B., Schmarr H.-G., Bieri S., Multidimensional Gaschromatography: From historical perspectives to future opportunities, *TRAC-TRENDS IN ANALYTICAL CHEMISTRY* **2012**, 34, 1-21
- [101] Edwards M., Mostafa A., Gorecki T., Modulation in comprehensive two-dimensional gas chromatography: 20 years of innovation, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, published online, 29. Mai, **2011**
- [102] Phillips J.B., Luu D., Pawliszyn J. B., Carlo G.C., Multiplex Gas Chromatography by Thermal Modulation of a Fused Silica Capillary Column, *Analytical Chemistry* **1985**, 57, 2779 – 2787
- [103] Pursch M., Sun K., Winniford B., Cortes H., Weber A., McCabe T., Luong J., Modulation techniques and applications in comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC), *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2002**, 373, 356 – 367
- [104] Ledford E. B, TerMaat J. R., Billesbach C. A., Technical Note KT030606-1: What is Loop Modulation?, 2008, Zoex Corporation
- [105] LECO Corporation, *Instruction Manual*, USA 7-33-2003
- [106] Schneberger M., Optimierung und Anwendung von GC-Verfahren zur Bestimmung von EPA-PAK in Kunststoffen, Diplomarbeit eingereicht an der Fachhochschule Aachen, Campus Jülich, Fachbereich Chemie und Biotechnologie, Studiengang Bioingenieurwesen, August **2009**
- [107] DIN 32645:2008-11; Chemische Analytik – Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen – Begriffe, Verfahren, Auswertung, Beuth Verlag, Berlin

- [108] Sychoy C. S., Davankov V. A., Proskurina N. A., Mikheeva A. J., The Unique Selectivity Of p-Interactions for Solid-Phase Extraction, *LC GC Europe* **2009**, January 1, 1 – 8
- [109] Clean-up of PAHs from Soil, Application-No.: 303860, Macherey-Nagel, Düren D
<http://www.mn-net.com/DesktopModules/TabID/8929/default.aspx>
- [110] PAH from Crude Oil, Application-Nr.: 301300, Macherey-Nagel, Düren D
<http://www.mn-net.com/DesktopModules/TabID/7796/default.aspx>
- [111] Produktinformation, Schneidmühle SM 300 unter
www.retsch.com
- [112] Taheri R., Analyse polycyclischer aromatischer Kohlenwasserstoffe und Tenside in komplexer Matrix mittels comprehensiver zweidimensionaler Gaschromatographie,
urn:nbn:de:hbz:468-20060105
[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn%3Anbn%3Ade%3Ahbz%3A468-20060105>]
- [113] Constapel M., Schellenträger M., Schmitz O.J., Gäb S., Brockmann K.J., Giese R., Benter Th., Atmospheric-pressure laser ionization: a novel ionization method for liquid chromatography/mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **2005**, 19, 326 – 336
- [114] Droste S., Schellenträger M., Constapel M., Gäb S., Lorenz M., Brockmann K.J., Benter Th., Lubda D., Schmitz O.J., A silica-based monolithic column in capillary HPL and CEC coupled with ESI-MS or electrospray-atmospheric-pressure laser ionization-MS, *Electrophoresis* **2005**, 26, 4098-4103
- [115] Schiewek R., Schellenträger M., Mönnikes R., Lorenz M., Giese R., Brockmann K.J., Gäb S., Benter Th., Schmitz O.J., Ultrasensitive Determination of Polycyclic Aromatic Compounds with Atmospheric-Pressure Laser Ionization as an Interface for GC/MS, *Analytical Chemistry* **2007**, 79, 4135-4140
- [116] Lorenz M., Schiewek R., Brockmann K.J., Schmitz O.J., Gäb S., Benter Th., The Distribution of Ion Acceptance in Atmospheric Pressure Ion Sources: Spatially Resolved APLI Measurements, *Journal of American Society for Mass Spectrometry* **2008**, 19, 400 – 410
- [117] Schieweck R., Entwicklung einer Multi-Purpose Ionenquelle für die AP-MS sowie Design und Anwendung von APLI-Ionisationslabeln,
urn:nbn:de:hbz:468-20090039
[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=urn%3Anbn%3Ade%3Ahbz%3A468-20090039>]

- [118] Schmitt-Kopplin P., Englmann M., Rossello-Mora R., Schieweck R., Brockmann K.J., Benter Th., Schmitz O.J., Combining chip-ESI with APLI (cESILI) as a multimode source for analysis of complex mixtures with ultrahigh-resolution mass spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2008**, 391, 2803-2809
- [119] Boesl U., Laser mass spectrometry for environmental and industrial chemical trace analysis, *Journal of mass spectrometry* **2000**, 35, 289-304
- [120] Schiewek R., Lorenz M., Giese R., Brockmann K.J., Benter Th., Gäb S., Schmitz O.J., Development of a multipurpose ion source for LC-MS and GC-API MS, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2008**, PAPER IN FOREFRONT
- [121] Schiewek R., Mönnikes R., Wulf V., Gäb S., Brockmann K.J., Benter Th., Schmitz O.J., A Universal Ionization Label for the APLI-(TOF)MS Analysis of Small Molecules and Polymers, *Angewandte Chemie* **2008**, 47, 9989-9992
- [122] Schmidt S., Appel M.F., Garnica R.M., Schindler R.N., Benter Th., Atmospheric Pressure Laser Ionization. An Analytical Technique for Highly Selective Detection of Ultralow Concentrations in the Gas Phase, *Analytical Chemistry* **1999**, 71, 3721-3729
- [123] Zimmermann R., Heger H.J., Kettrup A., Boesl U., A Mobile Resonance-enhanced Multiphoton Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry Device for On-line Analysis of Aromatic Pollutants in Waste Incinerator Flue Gases: First Results, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **1997**, 11, 1095-1102