

**Entwicklung neuer Derivatisierungsmethoden für die
GC-MS Analyse von Perfluorcarbonsäuren in
variablen Probenmatrices.**

von

Monika Stróżyńska
aus Czarnków

Angenommene Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
Fachbereich 7: Natur- und Umweltwissenschaften
Universität Koblenz-Landau

Berichterstatter:

Dr. Katrin Schuhen, Landau
Prof. Dr. Gabriele E. Schaumann, Landau
Dr. Jürgen H. Gross, Heidelberg

Tag der Disputation: 08.09.2020

ERKLÄRUNG

Ich versichere, dass ich diese Arbeit selbstständig verfasst, keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt sowie alle wörtlich oder sinngemäß übernommenen Stellen in der Arbeit gekennzeichnet habe. Die Arbeit wurde noch keiner Kommission zur Prüfung vorgelegt und verletzt in keiner Weise Rechte Dritter.

Landau in der Pfalz,

Ort, Datum

Unterschrift
(Monika Stróżyńska)

TEILE DER DISSERTATION UND VERÖFFENTLICHTE ERGEBNISSE

Die vorliegende Dissertation besteht aus zehn Kapiteln und beschreibt die Untersuchung, Entwicklung und Optimierung zweier verschiedener Derivatisierungsreaktionen für Perfluorcarbonsäuren. Sie wurde in der Zeit von November 2015 bis Dezember 2019 an der Universität Koblenz-Landau und bei der Firma SAS haggmann GmbH & Co. KG in Horb am Neckar angefertigt. Teile der vorliegenden Arbeit wurden in drei unten genannten internationalen Zeitschriften mit peer-Review-Verfahren veröffentlicht.

Kapitel 6

Stróżyńska, Monika; Schuhen, Katrin

Dispersive solid-phase extraction followed by triethylsilyl derivatization and gas chromatography mass spectrometry for perfluorocarboxylic acids determination in water samples. Journal of Chromatography A, 1597, S. 1-8, 2019.

DOI:10.1016/j.chroma.2019.03.008

Monika Stróżyńska konzipierte, gestaltete und führte alle Experimente außer LC-MS² Analysen durch (Vergleich mit externem Labor). Das Manuskript wurde federführend von Monika Stróżyńska erstellt und gemeinsam mit Dr. Schuhen überarbeitet.

Kapitel 7

Stróżyńska, Monika; Gross, Jürgen H.; Schuhen, Katrin

Structural Investigation of Perfluorocarboxylic Acid Derivatives Formed in the Reaction with N,N-Dimethylformamide Dialkylacetals. European Journal of Mass Spectrometry, 26(2), S. 131-143, 2019.

DOI: 10.1177/1469066719880546

Monika Stróżyńska konzipierte und gestaltete die Experimente. Die Messungen wurden von Monika Stróżyńska und Dr. Gross durchgeführt. Das Manuskript wurde federführend von Monika Stróżyńska erstellt. Alle Autoren haben den Artikel gemeinsam überarbeitet.

Stróżyńska, Monika; Schuhen, Katrin

Derivatization of perfluorocarboxylic acids with N,N-dimethylformamide dimethylacetal prior to GC-MS analysis. Chromatographia, 83(3), S.477-482, DOI: 10.1007/s10337-019-03850-6.

Monika Stróżyńska konzipierte, gestaltete und durchführte alle Experimente außer LC-MS² Analysen (Vergleich mit externem Labor). Das Manuskript wurde von Monika Stróżyńska erstellt und gemeinsam mit Dr. Schuhen überarbeitet.

Abkürzungsverzeichnis

1HUnDA	1H-Perfluorundekansäure
2HUnDA	2H,2H,3H,3H-Perfluorundekansäure
ACN	Acetonitril
BSG	Bestimmungsgrenze
DART	Direct Analysis in Real Time
DLLME	Dispersive Flüssig-Flüssig-Mikroextraktion
DMF-DMA	Dimethylformamid Dimethylacetal
d-SPE	Dispersive Festphasenextraktion
EI	Elektronenstoßionisation
ESI	Elektrosprayionisation
EtOH	Ethanol
eV	Elektronenvolt
FD	Felddesorption
FI	Feldionisation
GC	Gaschromatographie
HF-LPME	Hohlfaser-Flüssigphasen Mikroextraktion
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
IS	Interner Standard
LIFDI	Liquid Injection Field Desorption/Ionization
LLE	Flüssig/Flüssig Extraktion
MeOH	Methanol
MS	Massenspektrometrie
m/z	Masse zu Ladung (-Verhältnis)
NCI	Negativ-Ionen-Chemische Ionisation
NFHA	Nonafluoro-3,6-dioxaheptansäure
NWG	Nachweisgrenze

PFB	Pentafluorbenzoesäure
PFBA	Perfluorbutansäure
PFDA	Perfluordekansäure
PFDoDA	Perfluordodekansäure
PFUnDA	Perfluorundekansäure
PFHpA	Perfluorheptansäure
PFHxA	Perfluorhexansäure
PFNA	Perfluornonansäure
PFOA	Perfluoroktansäure
PFPA	Perfluorpentansäure
PFPrA	Perfluorpropionsäure
PFOS	Perfluoroktansulfonsäure
R	Korrelationskoeffizient
R ²	Bestimmtheitsmaß
RSD	Relative Standardabweichung (engl. <i>relative standard deviation</i>)
RT	Retentionszeit (engl. <i>retention time</i>)
σ	Standardabweichung
SIM	Selektive Ionendetektion (engl. <i>selected ion monitoring</i>)
SPE	Festphasenextraktion
TES-Methode	Derivatisierung mit Triethylsilanol
TIC	Totalionenchromatogramm (engl. <i>total ion chromatogram</i>)
WFR	Wiederfindungsrate (engl. <i>recovery</i>)
UPLC-MS/MS	Ultrahochleistungsflüssigkeitschromatographie gekoppelt mit hochauflösender Massenspektrometrie

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Beispiele der organischen Spurenstoffen und deren Zusammenhänge [7,10]...	16
Abbildung 2 Struktur der Perfluoroktansäure (PFOA).....	18
Abbildung 3 Funktionsprinzip der SPE für eine Stressoren-beladene (schwarze und graue Punkte) wässrige Probe [71].	24
Abbildung 4 Die häufigsten Anwendungen von Derivatisierung in der Gaschromatographie [99].	28
Abbildung 5 Schema der Trimethylsilylierung an einer Hydroxylgruppe (nach [99])	29
Abbildung 6 Die Struktur von Dimethylformamid-dimethylacetal.....	30
Abbildung 7 Schematische Darstellung des Standard-Additionsverfahrens [Quelle: eigene Darstellung].	45
Abbildung 8 Schematische Darstellung der Methodenentwicklung zur Untersuchung von PFCA.	47
Abbildung 9 Ein Schema der Reaktion von Triphenylsilanol mit Fluorid.	50
Abbildung 10 Mechanismus einer Reaktion von Triphenylsilanol mit PFOA unter sauren Bedingungen (eigene Darstellung nach [159]).	50
Abbildung 11 HPLC-UV Chromatogramm nach der Reaktion von PFOA mit TPSiOH.	51
Abbildung 12 Massenspektrum des PFOA-TMS Derivates.....	52
Abbildung 13 Fragmentierung des PFOA-TMS-Derivates (nach [92]).	53
Abbildung 14 GC-MS Chromatogramm mit PFCA-TMS Ester im SIM Modus (m/z 77).....	53
Abbildung 15 PFOA bei der Konzentration von 1 $\mu\text{g/l}$ nach der SPE und Derivatisierung. .	54
Abbildung 16 Ein extrahiertes Ionenchromatogramm eines PFCA Gemisches mit Kettenlängen C3-C12 nach der Derivatisierung mit TESiOH.....	55
Abbildung 17 Das Massenspektrum der PFOA-TES Derivates [164].	56
Abbildung 18 Die Fragmentierung des PFOA-TES-Derivates [164].....	57
Abbildung 19 Massenspektren von drei Produkten nach der Derivatisierung: 11H-Perfluorundekansäure (HFUnDA), 2H,2H,3H,3H-Perfluorundekansäure (2HunDA) und Nonafluoro-3,6-dioxaheptansäure (NFHA) mit TESiOH.....	59
Abbildung 20 Chromatogramme der Blindprobe und einer Probe nach der Derivatisierung von PFOA und Oktansäure mit TESiOH.....	60
Abbildung 21 GC-MS Chromatogramm mit n-PFNA und iso-PFNA TES-Derivaten.....	61
Abbildung 22 Fragmentierung des PFNA-Isomers und Massenspektrenvergleich für iso-PFNA (A) und n-PFNA (B) [164].	61
Abbildung 23 Die Fragmentierung des verzweigten PFNA-Derivats	62
Abbildung 24 NCI Massenspektren von PFOA nach der Derivatisierung mit TESiOH (oben) und TMSiOH (unten).....	64
Abbildung 25 Chromatogramme einer Brunnenwasserprobe und Standardlösung in einer Konzentration von 0.5 $\mu\text{g/l}$	67
Abbildung 26 Einfluss der zugegebenen Säure auf die Peakflächen von PFBA, PFOA und PFDoDA [164].....	69

Abbildung 27 Chromatogramme mit PFCA Derivaten nach dem Waschen mit destillieren Wasser (A) und ohne Waschen des Extraktes (B). Die gestrichelten Linien zeigen den Unterschied in Peakhöhen zwischen A und B.	70
Abbildung 28 Chromatogramme der Reaktion von PFCA mit TESiOH. A: die Reaktion einer Probe in Wasser. B: die Reaktion in Wasser nach der Zugabe von NH ₄ OH, Salz und Ethanol. Die gestrichelten Linien zeigen den Unterschied in Peakhöhen zwischen A und B.	72
Abbildung 29 Veränderung der Peakflächen von PFCA bei der Umstellung der Verweilzeit von 50 mSek auf 100 mSek.	74
Abbildung 30 Chromatogramme mit PFCA Peaks nach der SPE mit Oasis- und Strata-Phase bei pH 6.5.	77
Abbildung 31 Chromatogramme von Blindproben für entsalztes Wasser (A) nach dem Austausch der Patrone in der Anlage und Leitungswasser (B).	79
Abbildung 32 Peaks von PFPA, PFOA und PFUnDA in Konzentrationen von 8 ng/l und die Blindwerte – Analyse nach der SPE.	84
Abbildung 33 Kalibrierung von PFBA im Bereich von 8-10.000 ng/l [164].	86
Abbildung 34 Kalibrierungsdiagramm für PFBA und PFOA im Bereich von 8-10.000 ng/l [164].	86
Abbildung 35 Die Reaktionsprodukte der Derivatisierung mit DMF-DEA. A: Blindprobe, B: Derivatisierung von Oktansäure, C: Derivatisierung von PFOA [166].	93
Abbildung 36 70 eV EI-Massenspektren extrahiert aus GC-MS-Daten. A: Ein Massenspektrum von Oktansäureethylester, MW = 172 u, und B: Ein Massenspektrum von PFOA-Ethylester, MW 442 u [166].	94
Abbildung 37 Das EI-Massenspektrum des unbekanntes PFOA-Derivatisierungsproduktes, korreliert mit dem Peak 9 im Chromatogramm in der Abbildung 35 [166].	95
Abbildung 38 Chromatogramme zweier Proben nach der Derivatisierung von PFOA mit DMF-DEA (oben) und DMF-DMA (unten).	96
Abbildung 39 PCI Messung von PFOA nach der Reaktion mit DMF-DEA mit Methan als Reagenzgas.	97
Abbildung 40 ESI-Massenspektren des Derivatisierungsproduktes. A: Ein ESI-Spektrum mit positiven Ionen, B: ein ESI-Spektrum mit negativen Ionen, C: Isolierung des Vorläuferions bei m/z 927 ergibt bereits einen Fragment-Ionenpeak mit niedriger Intensität bei m/z 413 und D: Tandem-Massenspektrum des Ions bei m/z 927 bei einer Kollisionsspannung von 5 V [166].	98
Abbildung 41 DART-Massenspektren des Derivatisierungsproduktes. Ein positives DART-Ionenspektrum, B-Tandem-Massenspektrum des Ions bei m/z 615 bei 5 V Kollisionsoffset-Spannung, C negatives DART-Ionenspektrum [166].	101
Abbildung 42 LIFDI-Massenspektrum des vermuteten Salzes, welches bei der Derivatisierung von PFOA gebildet wird. Der intensivste Peak bei m/z 101.12 entspricht dem Iminium-Kation [C ₅ H ₁₃ N ₂] ⁺ . Die anderen bei m/z 615.15 und m/z 1129.20 können [(C ₅ H ₁₃ N ₂) ₂ PFOA] ⁺ und [(C ₅ H ₁₃ N ₂) ₃ PFOA ₂] ⁺ Cluster-Ionen	

zugeordnet werden. Die Einschübe zeigen vergrößerte Ansichten der Cluster-Ionen-Peaks [166].	102
Abbildung 43 FI-Massenspektrum von DMF-DMA. Das Molekül-Ion $[C_5H_{13}NO_2]^+$ wird bei m/z 119.10 beobachtet, der Peak bei m/z 88.10 kann durch Verlust von CH_3O^+ einem Fragment-Ion zugeordnet werden. Bei m/z 101 ist kein Signal sichtbar [166].	103
Abbildung 44 Chromatogramm der Reaktionsprodukte der PFOA mit DMF-DEA.	104
Abbildung 45 Chromatogramme der Produkte der PFOA Reaktion mit DMF-DMA und DMF-DEA nach der Trennung in einer DB-WAXetr Säule.	105
Abbildung 46 FTIR-Spektrum von PFOA, PFOA-Methylester und Reaktionsprodukten von PFOA mit Tetrabutylammoniumhydroxid und DMF-DMA.	107
Abbildung 47 Überlagerung der extrahierten Ionenchromatogramme der PFCA von C4 bis C12 nach deren Reaktion mit DMF-DMA [166]. Für jeden Peak wurde ein Signal $[M-NMe_2]^+$ ausgewählt.	111
Abbildung 48 Einfluss der Injektionstemperatur auf die Peakflächen von PFCA nach der Reaktion mit DMF-DMA.	112
Abbildung 49 Die DMF-DMA Derivatisierung von PFCA nach der Zugabe von Aceton.	113
Abbildung 50 TIC-Chromatogramm mit PFCA-BSTFA-Reaktionsprodukten.	115
Abbildung 51 Chromatogramm nach der Reaktion von PFCA-Lösung mit Benzylbromid. Oberes Chromatogramm - Blindprobe, unteres Chromatogramm: Die Probe mit dem PFCA-Gemisch nach der Derivatisierung.	116

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Nachweise von PFCA in Alltagsprodukten und Lebensmittel.	19
Tabelle 2 Zusammenstellung der Methode zur GC-MS Analyse von PFCA.	33
Tabelle 3 Vergleich von GC und HPLC Techniken.	36
Tabelle 4 Zusammenstellung von Ionisationsmethoden für Massenspektrometer [144,145]	38
Tabelle 5 Säuren für welchen TESiOH als Derivatisierungsmittel getestet wurde.	58
Tabelle 6 Ergebnisse der PFCA-Analyse von Brunnenwasserproben, 14 Tage Test.	65
Tabelle 7 Durchschnittliche Konzentrationen von PFCA in Brunnenwasser und deren Bestimmungsgrenze.	66
Tabelle 8 Wiederfindungsraten nach der SPE mit Oasis und Strata Phase bei pH ~ 3. Berechnet als prozentualer Peakflächenunterschied zwischen der Probe nach der SPE und ohne SPE.	78
Tabelle 9 Ergebnisse der PFCA-Analysen für zwei Proben (Ablauf aus der Kläranlage) mit und ohne Filtration durch SPARTAN 13/0.45 RC Spritzenfilter.	81
Tabelle 10 Wiederfindungsraten für 100 ml Lösung aufgestockt mit 30 ng PFCA nach der Filtration mit Whatman® Papierfilter und silanisierter Glaswolle.	82
Tabelle 11 Derivatisierungsausbeute der Reaktion von Perfluorcarbonsäuren mit TESiOH.	83
Tabelle 12 Bestimmungsgrenzen für PFCA mit und ohne Festphasenextraktion.	84
Tabelle 13 Wiederholbarkeit für PFCA in einer Konzentration von 100 ng/l nach der SPE.	85

Tabelle 14 Bestimmung von PFCA in 250 ml Leitungswasser, Flusswasser und Zulauf aus der Kläranlage (80 ng/l) [164].....	87
Tabelle 15 Bestimmung von PFCA in Standardlösungen vorbereiteten durch ein externes Labor - 250 ml aufgestockt auf eine Konzentration von 15 ng/250 ml [164].....	88
Tabelle 16 Ergebnisse der Probenanalyse mit GC-MS und LC-MS/MS [164].	89
Tabelle 17 EI-Fragmentierungsmuster von derivatisierter PFOA	109
Tabelle 18 Nachweis- und Bestimmungsgrenze für PFCA-Derivate, ermittelt für Standardlösungen in MTBE.....	117
Tabelle 19 Retentionszeiten, Quantifizierungen, R^2 und RSD% [181].....	117
Tabelle 20 Wiederfindungsraten für aufgestockten Proben mit 10 ng je PFCA.....	118
Tabelle 21 Einfluss der Matrix auf Peakfläche des Standards.....	119
Tabelle 22 Einfluss der Matrix auf Peakfläche des Standards. Aufgestockte Konzentrationen: 0.5 ng/ml PFCA Lösung für die Extrakte von Zahnseide und Klärschlamm und 1 ng/ml PFCA Lösung für der Extrakt von Teflondichtung.....	120
Tabelle 23 Ergebnisse der Analyse von Textilien. Die Werte in Klammern sind kleiner als die Bestimmungsgrenze (Tabelle 18).....	122
Tabelle 24 Wiederfindungsraten (WFR) für Klärschlammproben aufgestockt mit PFCA..	122
Tabelle 25 Vergleich der Ergebnisse der GC-MS Methode mit LC-MS/MS Analyse eines aufgestockten Extraktes.	123
Tabelle 26 Vergleich der Ergebnisse von Textilien mittels LC-MS/MS und GC-MS. Die Werte in Klammern sind kleiner als die Bestimmungsgrenze (Tabelle 18).....	124
Tabelle 27 Die LC-MS/MS Ergebnisse von Methanol und MTBE Extrakten zweier Textilproben.	125
Tabelle 28 Verwendete Chemikalien mit CAS Nummer, Reinheit und Herstellerangaben.	133
Tabelle 29 Gradienten der mobilen Phasen für HPLC-UV.	138
Tabelle 30 Technische Informationen zu dem Agilent GC-MS System.....	138
Tabelle 31 Die Retentionszeiten und quantitative Ionen für die SIM Messung der TES Methode.	139
Tabelle 32 Retentionszeiten und quantitative Ionen für die DMF-DMA Methode.	140
Tabelle 33 Technische Informationen zu dem Varian GC-MS System.....	141

Inhaltsverzeichnis

Abstract (Deutsch).....	12
Abstract (English).....	13
1. Einleitung.....	15
1.1. Wasserverschmutzung	15
1.2. Perfluorierte Chemikalien	17
1.3. Perfluorcarbonsäuren	17
1.3.1. Chemische und physikalische Eigenschaften.....	18
1.3.2. Übersicht über die Toxikologie der PFC	18
1.3.3. Nachweise von PFCA in Alltagsprodukten und Lebensmittel.....	18
1.3.4. PFCA in der Umwelt.....	20
2. Probenvorbereitung für die PFCA-Analyse.....	21
2.1. Extraktionstechniken für wässrigen Proben.....	21
2.2. Extraktionstechniken für feste Proben	26
2.3. Derivatisierung.....	27
3. Analytische Verfahren zur Bestimmung von PFCA.....	32
3.1. Kapillargaschromatographie	32
3.2. Hochleistungsflüssigkeitschromatographie.....	35
3.3. Kapillarelektrophorese	37
3.4. Massenspektrometrie	38
4. Grundlagen der Methodvalidierung in der Chromatographie	42
5. Ziel der Arbeit.....	48
6. Entwicklung einer Methode zur Derivatisierung von PFCA mit Silanolen.....	50
6.1. Untersuchung der TESiOH Derivatisierungsreaktion.....	56
6.2. Optimierung der Derivatisierung mit TESiOH für PFCA	67
6.3. Optimierung der Injektions- und Messbedingungen.....	72
6.4. Reaktion in größeren Probenvolumen.....	74
6.5. Optimierung der Festphasenextraktion	75
6.6. Einfluss der Filtration auf die Ergebnisse	80
6.7. Validierung der TES Methode	82
7. Entwicklung einer Derivatisierungsmethode mit Dialkylacetalen.....	91
7.1. Untersuchung der Reaktion von DMF-Dialkylacetalen mit Carbonsäuren	91
7.2. Identifizierung des Reaktionsproduktes.....	97
7.3. Optimierung der Derivatisierungsreaktion.....	110
7.4. Reaktion von DMF-DMA mit Pentafluorbenzoesäure	114
7.5. Vergleich mit anderen Derivatisierungsmethoden.....	114
7.6. Beurteilung der Methode	116
7.7. Quantitative PFCA Analyse in verschiedenen Probenmatrizes	120

8.	Zusammenfassung	126
9.	Experimenteller Teil.....	133
9.1.	Verweis auf ein elektronisches Zusatzmaterial	133
9.2.	Verwendete Chemikalien	133
9.3.	Allgemeine Vorkehrungen zur Blindwertreduktion	134
9.4.	Vorbereitung den Stammlösungen	134
9.5.	Methode zur Derivatisierung mit Triphenylsilanol und Trimethylsilanol.....	134
9.6.	Optimierte Methode zur Derivatisierung mit TESiOH nach der d-SPE.....	135
9.7.	Optimierte Derivatisierungsmethode mit DMF-DMA und DMF-DEA	135
9.8.	Die Derivatisierung von PFOA und Oktansäure mit DMF-DEA.....	135
9.9.	Die Derivatisierung von PFOA mit DMF-DEA und DMF-DMA.	135
9.10.	Vorbereitung von festen Proben für die DMF-DMA Methode	136
9.11.	Die Derivatisierung von PFCA mit Benzylbromid	136
9.12.	Festphasenextraktion	137
9.12.1.	SPE für die Derivatisierung mit TMSiOH	137
9.12.2.	Optimierte d-SPE für die Derivatisierung mit TESiOH.....	137
9.13.	HPLC-UV	137
9.14.	GC-MS Agilent	138
9.14.1.	GC-MS Parameter für die TES Methode	138
9.14.2.	GC-MS Parameter für die DMF-DMA Methode	139
9.14.3.	GC-MS-NCI	140
9.14.4.	GC-MS-PCI.....	140
9.15.	GC-MS Varian	141
9.16.	LC-MS/MS	141
9.17.	ESI-FT-ICR-MS	142
9.18.	DART-FT-ICR-MS	143
9.19.	LIFDI-TOF-MS	144
9.20.	FTIR	145
	Literaturangaben	146

Abstract (Deutsch)

Perfluorcarbonsäuren (PFCA) sind Substanzen anthropogenen Ursprungs und werden seit mehreren Jahrzehnten verwendet. In der Literatur werden diese Verbindungen als eine neue Klasse von Umweltschadstoffen beschrieben. Ihre hohe thermische Stabilität, Oberflächenaktivität, Amphipathizität und schwache intermolekulare Wechselwirkungen führen zur Persistenz dieser organisch-chemischen Verbindungen und zur Bioakkumulation. Um diese Stoffgruppe sicher nachzuweisen, müssen zuverlässige analytische Methoden eingesetzt werden. GC-MS stellt eine kostengünstige Alternative und Ergänzung zu etablierten LC-MS/MS Methoden dar. Um jedoch die GC-MS erfolgreich einsetzen zu können, müssen die PFCA derivatisiert werden. Viele der bisher veröffentlichten Derivatisierungsreaktionen für PFCA, sind zeitaufwändig und erfordern hohe Reaktionstemperaturen und/oder toxische Reagenzien.

In der vorliegenden Dissertation wurden zwei neue Derivatisierungsreaktionen methodologisch entwickelt und optimiert. Der erste Teil der Arbeit beschreibt die Entwicklung und Optimierung der Derivatisierung mit Triethylsilanol in Wasser. Zusätzlich zur Reaktionsoptimierung, wurde die klassische Festphasenextraktion modifiziert, um die Probenvorbereitung zu vereinfachen.

Im zweiten Teil der Arbeit, wurden die Reaktionsprodukte von Perfluoroktansäure (PFOA) mit Dimethylformamid-dimethylacetal (DMF-DMA) und -diethylacetal (DMF-DEA) identifiziert. Zu diesem Zweck, wurden verschiedene massenspektrometrische Techniken angewandt. Anhand der Messergebnisse konnte gezeigt werden, dass sowohl DMF-DMA als auch DMF-DEA in Gegenwart von PFOA ein Iminium-Kation bildet, was zur Salzbildung führt. Dieses PFOA-Salz reagiert im GC-Injektor weiter zu einem entsprechenden Amin.

Abschließend, im letzten Teil der Arbeit, wurden reale Proben mit der neu entwickelten Methode auf Basis der DMF-DMA Reaktion analysiert. Die Matrixeffekte wurden ausführlich beschrieben. Die Methode wurde erfolgreich für drei Arten von Proben verwendet: Zahnseide, Textilien und Klärschlamm. Die Ergebnisse wurden mittels LC-MS/MS in einem externen Labor verifiziert. Die Unterschiede zwischen den PFCA-Werten, für eine aufgestockte Probe, wurden mittels GC-MS und LC-MS/MS gemessen und waren kleiner als 10 %.

Abstract (English)

Perfluorocarboxylic acids (PFCA) are substances of anthropogenic origin and have been used for several decades. These compounds are a new class of environmental pollutants. Their high surface activity, thermal stability, amphipathicity and weak intermolecular interactions lead to persistence and bioaccumulation. Therefore, there is a great need for reliable analytical methods for detecting the presence and determination of concentration in both environmental samples and everyday products. GC-MS is a cost-effective alternative and supplement to established LC-MS/MS methods. The greatest challenge in the method development is the derivatization reaction. Many of the previously published derivatization reactions for PFCA are time consuming and require high reaction temperatures or toxic reagents.

In the present dissertation, two new derivatization reactions for PFCA have been developed and optimized. The first part of the thesis shows the development and optimization of the reaction with triethylsilanol in water. In addition to optimizing the reaction, classical solid-phase extraction was modified to simplify the sample preparation.

In the second part of the work, the reaction products of perfluorooctanoic acid (PFOA) with N,N-dimethylformamide dimethyl acetal (DMF-DMA) and -diethyl acetal (DMF-DEA) were identified. From these measurements, it follows that both DMF-DMA and DMF-DEA in the presence of PFOA form an iminium cation, which leads to salt formation. This PFOA salt react further in the GC injector and a corresponding amine is produced.

In the last part of the thesis, an analytical method based on the DMF-DMA reaction was developed. The matrix effects have been described in detail. The method has been successfully applied for three different types of samples: dental floss, textiles and sewage sludge. The results were verified by LC-MS/MS analysis in an external laboratory. The differences between the PFCA values for a spiked sample measured by GC-MS and LC-MS/MS were less than 10%.

Danksagung:

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von November 2015 bis Dezember 2019 an der Universität Koblenz-Landau und bei der Firma SAS hagmann GmbH & Co. KG in Horb am Neckar unter Anleitung von Dr. Katrin Schuhen.

Meiner Doktormutter, Frau Dr. Katrin Schuhen danke ich herzlich für die Betreuung der Arbeit und den vielen Freiheiten, die sie mir gewährt hat. Sie hat von Beginn an großes Vertrauen in mich gesetzt und mich jederzeit fachlich beraten.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dipl. Ing. Manfred Hagmann für die fachliche Betreuung, die rege Diskussionsbereitschaft und für das zur Verfügung gestellte GC-MS System. Besonders bedanken möchte ich mich für stetige Unterstützung bei jeglichen Problemen.

Ebenso danken möchte ich Prof. Dr. Gabriele E. Schaumann für die Begutachtung dieser Arbeit.

Ein großer Dank gilt Herrn Dr. Jürgen H. Gross vom Organisch-Chemischen Institut der Universität Heidelberg für die Durchführung der massenspektrometrischen Messungen und seine hervorragende fachliche Unterstützung bei der Strukturaufklärung.

Für die sehr angenehme und freundliche Arbeitsatmosphäre sowie die vielen Gespräche und Anregungen möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der Firma SAS hagmann GmbH & Co. KG bedanken. Besonders möchte ich auf Herrn Dr. Bernd Görlach und Herrn Dr. Philipp Langenbach für die großzügige Unterstützung in wissenschaftlichen und organisatorischen Fragen hinweisen.

Sehr herzlich möchte ich mich auch bei allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Organische und Ökologische Chemie und des Projekts Wasser 3.0 für die gute Zusammenarbeit bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Wolfgang Löffler und Frau Natascha Cloos für das geduldige und sorgfältige Korrekturlesen dieser Arbeit.

Nicht zuletzt möchte ich das Vertrauen und die große Geduld meiner Eltern anerkennen, die sie mir stets entgegengebracht haben.

Mein besonderer Dank gilt meinem Mann Manuel Breithaupt, der mich über den langen Weg der Promotion hinweg begleitet hat. Er hat mir stets zur Seite gestanden und mich beraten. Danke, dass du nicht zugelassen hast, dass ich mein Ziel aus den Augen verliere.

1. Einleitung

1.1. Wasserverschmutzung

Jede chemische Verbindung, die von Menschen produziert, verwendet und entsorgt wird, hat einen direkten Einfluss auf unsere Umwelt. Ein wachsendes Problem stellt dabei der Eintrag von Schadstoffen in die Gewässer dar. Die aus nicht natürlichen Quellen kommenden Substanzen, können unsere Wasserqualität erheblich verschlechtern. Mehr als ein Drittel des auf der Erde zugänglichen Süßwassers wird für landwirtschaftliche, industrielle und Haushaltszwecke verbraucht [1]. Industrie und Kommunen erzeugen einen Abwasserstrom, der in Flüsse, Seen, Grundwässer oder die Küstenmeere fließt [2]. Mikroverunreinigungen sind allgegenwärtig und es ist schwierig, die Quelle dieser Verbindungen in der Wasserumgebung zu kontrollieren [3]. Deren Emission in Gewässer erfolgt durch Punktquellen und diffuse Quellen. Zu den Punktquellen gehören unter anderem die Einträge aus kommunalen Kläranlagen und aus der Industrie (Produktion). Diese können relativ gut kontrolliert werden, beispielweise durch fortlaufende Überwachung des Abwassers in der Kläranlage. Zu den diffusen Quellen gehören unter anderem der Verkehr und die Haushalte. Eine Hauptursache für die diffuse Wasserverschmutzung ist die Landwirtschaft, die zur Eutrophierung und Kontamination der Oberflächen- und Grundwasserressourcen mit Pestiziden und Tierarzneimitteln führt [1]. Diese diffusen Einträge können lediglich durch eine regelmäßige Kontrolle und Analyse von Umweltproben nachgewiesen werden.

Trotz einer aufwändigen Reinigung in der Kläranlage werden organische Mikroverunreinigungen nicht oder nur unzureichend während des Reinigungsprozesses entfernt und gelangen somit in den Wasserkreislauf [4,5]. Diese Verunreinigungen treten üblicherweise in Gewässern in Spurenkonzentrationen von wenigen ng/l bis einigen µg/l auf [6]. Bis vor einigen Jahren konnte einige Substanzen wegen ihrer geringen Konzentration und der fehlenden bzw. limitierter Detektionsmethoden nicht nachgewiesen werden. Erst durch den kontinuierlichen Fortschritt in der Entwicklung von Analysegeräten, geht eine Verbesserung der Messgrenzen einher [7].

Zu den organischen Mikroschadstoffen gehören beispielweise Pestizide, Biozide, Medikamente, Veterinärprodukte, Körperpflegeprodukte aber auch deren Transformationsprodukte und von Mensch oder Tier ausgeschiedene Metaboliten [8].

Für die Bezeichnung dieser Substanzen und Substanzgruppen wurde der Begriff ‚neuartige organische Spurenstoffe‘ (engl. *emerging organic contaminants* (EOC)) eingeführt (Abbildung 1). In der Umweltforschung wird zusätzlich eine andere wichtige Gruppe von Verunreinigungen klassifiziert, die sich durch sehr lange Verweilzeiten in der Umwelt auszeichnet. Diese Gruppe wird als persistente organische Schadstoffe (eng. *persistent organic pollutants*, POP) bezeichnet [9]. Zu dieser Substanzklasse gehören u.a. polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, polychlorierte Naphthalin, polybromierte Biphenyle und einige Pestizide [10]. Diese Verbindungen sind häufig halbflüchtig und können zudem toxisch sein [9].

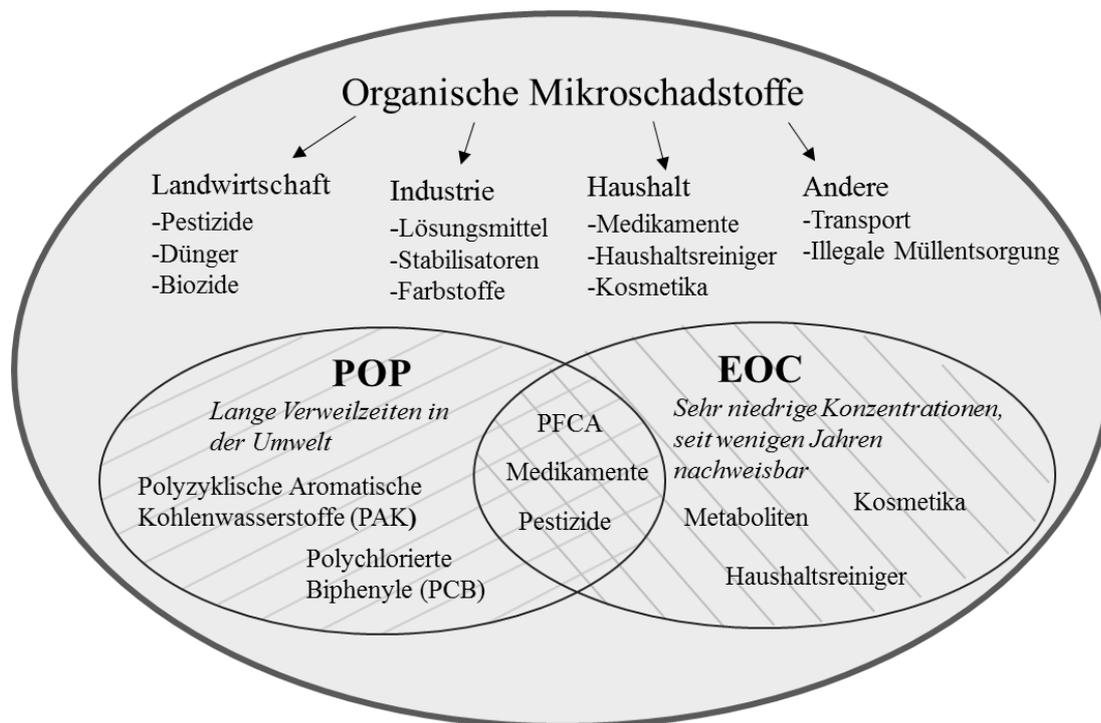


Abbildung 1 Beispiele der organischen Spurenstoffen und deren Zusammenhänge [7,10].

Neben der Kontamination selbst, können auch die Verdünnung, Adsorption, Umwandlung und Abbauraten die Konzentration der Verunreinigungen beeinflussen. Darüber hinaus beeinflussen die Flüchtigkeit, Polarität, Persistenz und Adsorptionseigenschaften den Transport zu Gewässern [11]. Obwohl diese Chemikalien in sehr niedrigen Konzentrationen (ng/l) im Wasser vorliegen, können sie negative Effekte induzieren [12]. Derzeit ist der Wissensstand über Toxizität, langzeitigen Auswirkungen und negative Effekte von Mikroschadstoffen im Wasser unbefriedigend [11]. Aufgrund ihrer Komplexität ist es schwierig, die Auswirkungen aller synthetischen und natürlichen Mikroverunreinigungen auf die aquatische Umwelt zu beurteilen [1].

1.2. Perfluorierte Chemikalien

Perfluorierte Chemikalien (PFC) sind synthetisch hergestellte Substanzen, bei denen alle Wasserstoffatome an der Kohlenstoffkette durch Fluoratome ersetzt worden sind. Alle diese Verbindungen enthalten sehr starke Kohlenstoff-Fluor-Bindungen (ca. C-F 460 kJ/mol) [13], welche eine hohe Stabilität induzieren [14]. Diese Substanzen bilden seit einigen Jahren eine eigene neue Klasse der Umweltschadstoffe. Aufgrund der einzigartigen physikalisch-chemischen Eigenschaften eignen sich perfluorierte Verbindungen hervorragend sowohl für industrielle als auch für alltägliche Anwendungen [15]. Hierzu gehören unter anderem Papierverpackungen, Textilien, Feuerlöschschäume und Farben [16]. Die positiven Eigenschaften werden jedoch von negativen Umweltauswirkungen begleitet, zu denen unter anderem Persistenz und Bioakkumulation in der Umwelt zählen [15]. Manche dieser Verbindungen enthalten in der Struktur sowohl fluorierte hydrophobe als auch hydrophile Anteile. Der perfluorierte Rest reduziert ihre Oberflächenspannung und erhöht die Effizienz dieser Verbindungen im Vergleich zu klassischen Tensiden. Die Verbindungen werden oftmals auch als ‚Supertenside‘ bezeichnet [13].

1.3. Perfluorcarbonsäuren

1.3.1. Chemische und physikalische Eigenschaften

Perfluorcarbonsäuren (PFCA) gehören zu allen oben genannten Gruppen der EOC, POP, PFC sowie zu den perfluorierten Tensiden. Diese Verbindungen bestehen aus einer perfluorierten Kohlenstoffkette, üblicherweise mit 4-12 Kohlenstoffatomen, und einer Carboxylgruppe. Die pKs Werte von Perfluorcarbonsäuren sind wesentlich niedriger als die pKs Werte entsprechender nicht fluorierter Carbonsäuren [17 bis 20]. PFCA mit sieben oder mehr perfluorierten Kohlenstoffatomen werden als langkettig bezeichnet [21]. Die Kettenlänge der Perfluorcarbonsäuren kann deren physikalischen Eigenschaften, wie Dissoziationskonstanz, die Löslichkeit in Wasser oder das Verteilungsverhalten beeinflussen [22]. In mehreren Studien wurde bewiesen, dass kurzkettige PFCA ($C < 7$) hauptsächlich in der wässrigen Phase verbleiben, währenddessen langkettige PFCA (C_7 - C_{11}), eine höhere Adsorption an Feststoffe wie Sedimente, Schwebeteilchen und Böden aufweisen [23 bis 25].

1.3.2. Übersicht über die Toxikologie der PFC

Die meisten toxikologischen Studien von PFCA konzentrieren sich auf den bekanntesten und weit verbreitetsten Vertreter dieser Gruppe – Perfluoroktansäure (PFOA) (Abbildung 2).

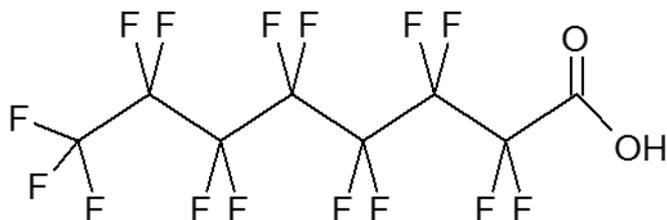


Abbildung 2 Struktur der Perfluoroktansäure (PFOA).

Aufgrund seiner weithin beschriebenen negativen Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit steht PFOA seit 2013 auf der Liste der besonders besorgniserregenden Stoffe (SVHC) [26]. Zu diesen negativen Effekten von PFCA gehören unter anderen Immuntoxizität, Reproduktions- und Entwicklungstoxizität sowie Neurotoxizität [27]. PFOA wurde von der Environmental Chemicals Agency (ECHA) als giftig bei wiederholter Exposition, krebserzeugend und fortpflanzungsgefährdend klassifiziert [28]. Außerdem wurde PFOA 2017 in die REACH-Liste für verbotene Stoffe (REACH Anhang XVII) aufgenommen [29]. Dies führt dazu, dass ab 2020 PFOA, ihre Salze und Vorläuferverbindungen nicht mehr hergestellt, verwendet oder importiert werden dürfen. Wegen des Verbots wächst der Bedarf an Substanzen, die PFOA ersetzen könnten. Eine mögliche Alternative zu der PFOA, sind kurzkettige Perfluorcarbonsäuren. Diese fluorierten Säuren sind in der Regel mobile als ihre analogen C8-Verbindungen, haben eine geringe akute Toxizität, können jedoch ebenfalls Risiken in der Zukunft darstellen [30]. Um die PFCA Belastung im menschlichen Körper zu bestimmen, wurden in vielen Studien Blut- und Serumproben untersucht. Dazu wurden Bevölkerungsproben aus vielen Ländern, wie zum Beispiel China [31], USA [32], Brasilien, Belgien, Italien, Polen und Korea entnommen, und analysiert [33]. In diesen Studien war Perfluoroktansulfonat, die am häufigsten vorkommende gemessene Verbindung.

1.3.3. Nachweise von PFCA in Alltagsprodukten und Lebensmittel

In mehreren Studien wurden PFCA in alltäglichen Produkten nachgewiesen (Tabelle 1). Kotthoff et al. [34] haben hohe PFCA Werte in Skiwachsen, Lederproben,

Outdoor-Textilien und einigen Backpapieren identifiziert. Im Jahr 2009 haben Guo et al. [35] 116 Handelsartikel untersucht, um den Perfluorcarbonsäure-Gehalt zu bestimmen. Die PFCA wurden in Teppichboden, Kleidung, Polster, Heimtextilien, Industriebodenwachs, Wachsentsferner, Zahnseide und Gewindedichtband nachgewiesen [35]. PFOA wurde auch in Imprägnierungsmitteln, Feuerlöschschäumen und Pestizidlösungen gefunden [36]. Zudem wurden die Analysen von Lebensmittel auf das Vorhandensein von Perfluoralkylsäuren durchgeführt. Während in Getreide, Gemüse und Kartoffeln kurzkettige PFCA (PFHxA und PFHpA) nachgewiesen wurden, wurden die langkettigen PFCA (PFOA, PFNA, PFUnDA und PFTrDA) in Fisch- und Fleischproben detektiert [37]. In den Jahren 2010-2011 wurden 20 verschiedene Gemüsesorten in Belgien, der Tschechischen Republik, Italien und Norwegen untersucht. PFCA bildeten die Hauptgruppe der nachgewiesenen Perfluoralkylsubstanzen. Die am häufigsten vorkommende Perfluoralkylsäure war PFOA gefolgt von PFHxA und PFNA [38]. In einer anderen Veröffentlichung wurden 12 Perfluoralkylsäuren in Früchten, Getreide, Süßigkeiten und Salz bestimmt. Auch in diesen Analysen war PFOA die am häufigsten vorkommende Verbindung [39]. In Südkorea wurden Perfluoralkylsäuren in 397 Proben von 66 Lebensmitteltypen und 34 Leitungswasserproben analysiert. Während Fisch die Hauptquelle von PFOS war, waren PFOA der größte Anteil bei den Milchprodukten [40]. In dieser Studie leistete auch Leitungswasser einen wichtigen Beitrag zur PFOA-Aufnahme.

Tabelle 1 Nachweise von PFCA in Alltagsprodukten und Lebensmittel.

Nr.	Untersuchte Proben (u. a.)	Ergebnis	Quelle
1	Skiwachs, Leder, Outdoor-Textilien Backpapier	PFOA wurde in fast allen Produktgruppen gefunden. Außerdem wurden auch PFBA, PFPA, PFHxA und PFDA gefunden.	[34]
2	Teppichboden, Zahnseide, Polster, Heimtextilien, Industriebodenwachs, Wachsentsferner	Der Gehalt an PFOA lag zwischen nicht nachweisbar und 6750 ng/g. Der Gesamtwert von PFCA(C5-C12) erreichte maximal 47100 ng/g.	[35]
3	Imprägnierungsmitteln, Feuerlöschschäumen und Pestizidlösungen	PFOA wurde in allen drei Arten von Proben nachgewiesen, mit maximalem Wert von 14.5 µg/ml	[36]
4	Getreide, Gemüse und Kartoffeln, Fisch und Fleisch	Die meisten PFCA wurden in Fisch und Fleisch nachgewiesen. PFOA wurde in fast allen Proben detektiert.	[37]

5	Verschiedene Gemüsesorten	Die am häufigsten vorkommende Perfluoralkylsäure war PFOA gefolgt von PFHxA und PFNA	[38]
6	Früchten, Getreide, Süßigkeiten und Salz	10 von 12 untersuchten Perfluoralkylsäuren wurden in 67% der Proben nachgewiesen. PFOA die am Häufigsten vorkommende Verbindung	[39]
7	Leitungswasser und Lebensmittel	Die Hauptquellen von PFOA waren Milchprodukte (0.261 ng/g) und Leitungswasser (12.87 ng/l).	[40]

1.3.4. PFCA in der Umwelt

Aufgrund der großen Verbreitung von PFCA in alltäglichen Produkten, ist der Transport in die Umwelt unvermeidbar. Perfluorcarbonsäuren können indirekt und direkt in die Umwelt gelangen. Unter direkten PFCA Quellen versteht man deren Herstellung und Verwendung. PFCA werden hauptsächlich als Prozesshilfsmittel, bei der Herstellung von Fluorpolymeren verwendet. Die typischen Konzentrationen von PFCA, die in der Industrie verwendet werden, liegen zwischen 100 und 5000 ppm [41]. Indirekte PFCA Quellen sind diejenigen, in denen PFCA als Verunreinigungen vorliegen oder wo sich die Substanzen in PFCA umwandeln können. Beispielsweise ist bekannt, dass Fluortelomeralkohole (FTOH) eine signifikante globale Quelle für Perfluorcarbonsäure-Verunreinigungen darstellen [42]. Viele Untersuchungen deuten darauf hin, dass Perfluoroktylethanol (8:2 FTOH) in der Atmosphäre zu Perfluoroktansäure (PFOA) und anderen Perfluorcarbonsäuren abgebaut wird [42,43].

Die Verteilung von PFCA in Oberflächenböden, wurde an 62 Standorten auf allen Kontinenten mittels UPLC-MS/MS bestimmt. Quantifizierbare Mengen an Perfluoralkylcarboxylaten wurden in allen Proben beobachtet [44]. Auch die Übertragung von Perfluoroktansäure und Perfluoroktansulfonat aus Böden zu Pflanzen wurde untersucht. Ein Transfer von mit verunreinigtem Klärschlamm vermischtem Boden auf alle getesteten Pflanzen - Kartoffel, Karotte und Gurke konnte festgestellt werden [45]. In vielen Studien wurden die PFCA in wässrigen Proben gemessen. Neben Fluss- [46], Meer- [47] und Seewasserproben [48], wurden auch der Ablauf aus Kläranlagen [49] und Trinkwasserproben [50] untersucht. Die Perfluorcarbonsäuren wurden sogar in Eisproben von hohen arktischen Eiskappen nachgewiesen [51].

Das Problem der Wasserverschmutzung durch PFCA ist in Deutschland sehr aktuell. In der Region Rastatt/Baden-Baden wurde durch die Bodenbelastung das Grundwasser verunreinigt [52]. Vor einigen Jahren konnten in diesem Bereich auch erhöhte Werte für perfluorierte Substanzen im Trinkwasser nachgewiesen werden [53]. Aktuell werden die Blutproben von Bewohnern auf PFC-Belastungen untersucht. Im Jahr 2009 wurden per- und polyfluorierte Substanzen im Ablauf aus der Kläranlage und in den Oberflächengewässern der Elbe untersucht. Verschiedene Verbindungen, einschließlich perfluorierte Sulfonate und Sulfinat, Fluortelomersulfonat sowie Perfluorcarbonsäuren wurden quantifiziert [54]. Llorca et al. analysierten 148 Wasserproben, darunter Mineralwasser, Leitungswasser und Flusswasser unter anderem aus Deutschland. Achtundachtzig Prozent der analysierten Wasserproben zeigten mindestens eine der Perfluoralkylsubstanzen in quantifizierbaren Konzentrationen [55]. Im Jahr 2012 wurden Leitungswasserproben aus Deutschland untersucht. In 12 von 26 Proben (46 %) wurde mindestens eine Perfluoralkylsäure in Konzentration höher als 1 ng/l detektiert [56].

2. Probenvorbereitung für die PFCA-Analyse

Die Probenvorbereitung ist ein wesentlicher Schritt in der Analyse, der die Zuverlässigkeit und Genauigkeit des Ergebnisses stark beeinflussen kann. Zwei sehr wichtige Teile dieses Prozesses sind die Extraktion (mit gleichzeitiger Anreicherung) der Analyten aus der Matrix und die Derivatisierung.

2.1. Extraktionstechniken für wässrigen Proben

Eine Analyse der polaren organischen Spurenstoffe wie PFCA, stellt eine große Herausforderung dar, weil sich diese Verbindungen oft von der wässrigen Matrix nicht einfach abtrennen lassen. Beispielsweise sind die Wiederfindungsraten von vielen polaren Analyten unter Verwendung von LLE niedrig, weil sie eine relativ hohe partielle Löslichkeit in Wasser aufweisen [57]. Aus diesem Grund ist eine adäquate Probenvorbereitung eine der wichtigsten und manchmal auch der aufwändigste Teil in der Analyse von Umweltproben [58]. Üblicherweise werden die zu untersuchenden Proben vor einem Extraktionsprozess filtriert. Zu den häufig verwendeten Extraktionsmethoden gehören: Flüssig-flüssig Extraktion (LLE), Festphasenextraktion (SPE) und Festphasenmikroextraktion (SPME).

a) Flüssig-flüssig Extraktion (LLE)

Flüssig-Flüssig-Extraktion (LLE, eng. *liquid-liquid extraction*) ist eine der ältesten Extraktionsmethoden. In diesem Verfahren wird eine wässrige Probe, die zu extrahierende Substanzen enthält in Kontakt mit einer anderen, nicht mischbaren flüssigen Lösungsmittelphase gebracht. Die Extraktion basiert auf der unterschiedlichen Löslichkeit der Substanzen in diesen zwei flüssigen Phasen. Zu den oft verwendeten organischen Lösungsmitteln gehören unter anderem Hexan, Dichlormethan oder Toluol aber auch andere Extraktionsmittel wie zum Beispiel ionische Flüssigkeiten können verwendet werden [59]. Die Extraktion soll solange durchgeführt werden, bis sich das Gleichgewicht zwischen den zwei Phasen einstellt. Nach dem Ablauf der Extraktionszeit kommt es zur Phasentrennung. Die organische Phase kann direkt in das GC-MS-System injiziert werden. Alternativ können weitere Probenvorbereitungsschritte durchgeführt werden. Bei der Extraktion von Perfluorcarbonsäuren aus Wasser, ist die Verwendung von Ionenpaar-Lösungen sehr effektiv. Quartäre Ammoniumverbindungen wie zum Beispiel Tetrabutylammonium Salze, können verwendet werden, um ein Ionenpaar mit PFCA zu bilden und in die organische Phase zu transportieren [60 bis 63].

Flüssig-flüssig Extraktion für Wasserproben mit PFCA wurde in mehreren Studien beschrieben. Eine LLE Methode für Perfluoralkylsubstanzen im Ablauf aus der Kläranlage wurde von González-Barreiro et al. entwickelt und mit SPE bei zwei verschiedenen pH-Werten verglichen. Die LLE Methode lieferte die besten Ergebnisse für PFCA mit Kettenlängen kleiner als sieben Kohlenstoffatomen, während die SPE-Methode in seinen Versuchen am besten für Perfluorcarboxylaten mit mehr als zehn Kohlenstoffatomen in der Kette geeignet war. Die Nachweisgrenze lag bei beiden Methoden im selben Bereich (0.2-0.6 ng/l) [64]. Schon 1980 nutzten Belisle und Hagen eine Hexan/Ether Mischung als Extraktionsmittel für Serum und Plasma, um PFOA nachzuweisen [65]. Die Ionenpaar-Flüssig-Extraktion wurde auch für Leberproben von Polardorsch und Eismöwen verwendet, jedoch ist die Methode sehr zeit- und kosteneffizient [66]. Moderne Anwendungen von LLE entwickeln sich in die Richtung einer Mikroextraktion. Goh et al. entwickelten eine Hohlfaser-Flüssigphasen Mikroextraktion (HF-LPME) für die Analyse von PFCA in Wasser. Die Detektion erfolgte über ein UHPLC-MS/MS System [67]. Die Bestimmung von Perfluorcarbonsäuren in Wasser mittels Dispersiver Flüssig-Flüssig-Mikroextraktion (DLLME) mit Tetrabutylammoniumhydrogensulfat als Ionenpaarreagenz wurde von

Liu et al. beschrieben [68]. Dieses Verfahren ist relativ einfach, weist jedoch einige Einschränkungen auf, wie zum Beispiel Unterschiede in der Effizienz der Extraktion von Verbindungen mit unterschiedlichen Kettenlängen. Darüber hinaus kann die Weiterentwicklung dieses Verfahrens zur Mikroextraktion, den Verbrauch umweltschädlicher Lösungsmittel verringern.

b) Festphasenextraktion (SPE)

Diese Extraktionstechnik ermöglicht zugleich Anreicherung und Isolation der Analyten von der Matrix. Weiterhin kann diese Methode verwendet werden, um die störenden Komponenten der komplexen Matrices zu entfernen [69]. Die typische SPE Prozedur mit der Verwendung der Kartusche wurde in Abbildung 3 dargestellt. Das SPE Verfahren fängt üblicherweise mit der Konditionierung an. Danach wird die wässrige Probe durch die Festphase geleitet. Die Analyten werden aufgrund deren Affinität zu der Festphase darauf adsorbiert. Nach der Adsorption wird das Sorbens gewaschen, um die Verunreinigungen zu entfernen. In dem letzten Schritt erfolgt die Elution mit einem geeigneten Lösungsmittel. Die Analyten werden von der Festphase heruntergelöst. Die SPE Phase ist in Form von Kartuschen, einer *96 Well Microplatte*, einer SPE-Disk oder als *Micro Extraction by Packed Sorbent* (MEPS) in der Spritze verfügbar.

Der Auswahl des Sorbens und des richtigen Elutionslösungsmittels ist ein entscheidender Schritt für das erfolgreiche SPE-Verfahren. In der SPE-Technik werden verschiedene Festphasen verwendet. Die Wechselwirkungen zwischen Sorbentien und Isolat, welche am häufigsten bei der SPE auftreten sind unpolare (Van-der-Waals-Kräfte oder Dispersionskräfte), polare (Wasserstoffbrücken-, Dipol-Dipol- und induzierte Dipol-Dipol-), Ionenaustausch- (ionische) und kovalente Wechselwirkungen [70]. Auf dem Markt sind Umkehrphasen, Normalphasen, Ionenaustauscher- oder auch sogenannte Mixed Mode-Materialien erhältlich.

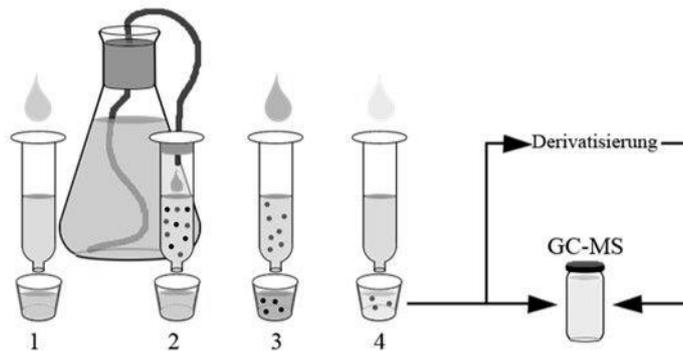


Abbildung 3 Funktionsprinzip der SPE für eine Stressoren-beladene (schwarze und graue Punkte) wässrige Probe [71].

Eine der am häufigsten verwendeten Festphasen für die Wasseranalytik ist die C18-Phase [69]. Dies ist ein chemisch modifiziertes Kieselgel mit Octadecyl-Gruppen. Weiterhin werden auch Materialien auf Polymerbasis (Styrol/Divivinylnbenzol) verwendet, beispielsweise für die Extraktion aromatischer Verbindungen [72]. Durch einen Ionenaustauscher können außerdem auch ionische Substanzen angereichert werden. Für die Extraktion von Analyten aus unpolaren Lösungen kann beispielweise Kieselgel verwendet werden.

Die Ionenaustauscher enthalten für gewöhnlich kationische oder anionische funktionelle Gruppen, die bestimmte Ionen austauschen können. Vier Sorten von Ionenaustauschern können verwendet werden: schwache und starke Kationen- und Anionenaustauscher. Während in starken Austauscher die Ionenaustauschstellen bei jedem pH-Wert aktiv sind, sind die in schwachen Austauschern nur bei pH-Werten größer oder kleiner als der pKa vorhanden [73]. Als Kationenaustauscher werden Sulfonsäuregruppen (stark) und Carbonsäuregruppen (schwach) verwendet. Während quaternäre Amine als starker Anionenaustauscher dienen (SAX) sind primäre, sekundäre und tertiäre Amine in schwachen Anionenaustauscher (WAX) zu finden. Für die Adsorption von Perfluorcarbonsäuren werden üblicherweise schwache Anionenaustauscher verwendet. Es gibt drei Phasen, welche zu diesem Zweck am häufigsten verwendet werden: Strata-X-AW (Phenomenex) Oasis WAX (Waters) und Chromabond HR-XAW (Macherey-Nagel) [74]. In der Standardprozedur werden die PFCA nach der Adsorption mit 0.1% NH_4OH Lösung in Methanol eluiert. Die Probenvorbereitung nach DIN für die Analyse von PFCA in Wasser mittels HPLC-MS/MS erfolgt in der gleichen Weise [75]. SPE wurde zur Extraktion von PFCA aus verschiedenen Proben verwendet, wie Grundwasser [76], Serum [77], Ablauf aus der

Kläranlage [54], Eisproben [51], Trinkwasser und Oberflächenwasser [22]. In der Literatur wurde Anwendung von SAX [76], WAX [54] und C18 [78] als SPE Phasen für PFCA beschrieben. Moody und Fields haben schon 1999 SPE verwendet, um PFOA in Grundwasser nachzuweisen. Die Nachweisgrenze lag bei 18 µg/l [76]. Üblicherweise liegen die Nachweisgrenzen unter Verwendung von SPE in niedrigem ng/l Bereich [79,80]. Für großes Volumen Trinkwassers (20-40 Liter) konnten extrem niedrige Nachweisgrenzen von 0.01 ng/l erhalten werden [81].

c) Festphasenmikroextraktion (SPME)

Die Festphasenmikroextraktion ist eine einfache, leistungsfähige und innovative Extraktionsmethode, die in den frühen neunziger Jahren von Prof. Janusz Pawliszyn erfunden wurde [82]. Bei dieser Technik werden die Analyten auf einer beschichteten Quarzfaser adsorbiert, was ihre Trennung von der Matrix und eine gleichzeitige Anreicherung ermöglicht. Diese Faser hat sehr kleine Abmessungen: Die Länge beträgt normalerweise ca. 10 mm. Aufgrund ihrer geringen mechanischen Stabilität, muss sich die Faser in einer zylindrischen Schutzhülle befinden und wird nur für den Adsorptionsprozess herausgezogen. Die Faser ist beschichtet mit einem Sorptionsmaterial, das für Zielanalyten angepasst werden soll. Zu den Beschichtungen, die am häufigsten verwendet werden gehören Polydimethylsiloxan (PDMS), Carboxen und Polyacrylat (PA).

In einem typischen Adsorptionsverfahren wird die Faser aus der Nadel herausgezogen und in eine wässrige Probe eingetaucht. Während der Extraktion werden die Analyten auf der Festphase (Beschichtung) adsorbiert. Üblicherweise stellt sich schon nach einigen Minuten das Gleichgewicht zwischen Adsorbent und Matrix ein. Anschließend wird die SPME-Faser in die Schutzhülle zurückgezogen und im GC-Injektor wieder herausgedrückt. Aufgrund der hohen Temperatur desorbieren die Analyten und können gemessen werden [83]. Für Perfluoralkylsäuren wurde eine einfache Methode unter Verwendung von Ionenpaar-SPME [84] entwickelt. Die Probe wurde dann im Injektor derivatisiert und mittels GC-MS-NCI gemessen. Montelone et al. haben eine HS-SPME Methode für wässrige Proben entwickelt, jedoch wurden in keiner der sechs untersuchten Flusswasserproben Perfluorcarbonsäuren gefunden [85].

2.2. Extraktionstechniken für feste Proben

Das zu verwendende Extraktionsverfahren für feste Proben ist von der Matrix abhängig. Die einfachste Methode zur Extraktion von PFCA aus einer festen Probe ist die Fest-Flüssig-Extraktion. Dieses Verfahren kann durch Druck (PLE), Erwärmung oder Beschallung unterstützt werden. Alternativ kann auch eine Headspace SPME verwendet werden, um die PFCA zu extrahieren.

a) Fest-Flüssig Extraktion (LE)

Beim Fest-Flüssig-Extraktionsverfahren werden die löslichen Bestandteile aus einer festen Probe abgetrennt. Im einfachsten Fall wird eine Probe mit einem organischen Lösungsmittel (Methanol, MTBE) ausgeschüttelt und/oder erwärmt, um die Analyten möglichst schnell zur flüssigen Phase zu transportieren. Die Extrakte können danach weiter aufgearbeitet, d.h. getrocknet, gewaschen oder verdünnt werden. Wenn ein Ionenpaarreagenz verwendet wird, müssen sich die Analyten in Wasser befinden.

Kotthoff et al. analysierten 115 Alltagsprodukten, darunter Textilien, Teppiche, Backpapiere und Skiwachsen. Sie haben, abhängig von der Matrix, eine sequentielle Extraktion, Festphasenextraktion mit schwachen Anionenaustauschern und Ionenpaarextraktion verwendet [34]. Zur Extraktion wurden Aceton, Hexan oder Methyl-*tert*-butylether eingesetzt. Als Ionenpaarreagenz diente Tetrabutylammoniumhydrogensulfat (TBA). Auch Herzke et al. [38], Vestergren [37] und Fujii [86] nutzten Ionenpaarextraktion zur Extraktion von Gemüse und anderen Lebensmitteln. Henderson et al. [60] haben 1 g von homogenisierten Leberproben in Wasser mit Ionenpaarreagenz gelöst. Danach wurde die Probe mit MTBE ausgeschüttelt. Die organische Phase konnte anschließend derivatisiert werden. Die Verwendung einfacher Flüssig-Extraktionen, wurde auch häufig beschrieben. In einer umfangreichen Studie von 116 Artikeln für EPA haben Guo et al. [35] alle festen Proben 24 Stunden lang in Methanol extrahiert. Rattengewebe [87,88], Boden, Sediment und Pflanzen wurden ebenfalls mit dieser Methode vorbereitet [89,90]. Schwebstoffe wurden eine Stunde lang mit Methanol im Ultraschallbad extrahiert [91]. Für Verpackungsmaterialien wurde die Druckflüssigkeitsextraktion (engl. Pressurized Liquid Extraction, PLE) verwendet [92,93]. Für die Extraktion von Sedimentproben wurde auch die Anwendung von PLE in Kombination mit HS-SPME [94] beschrieben.

b) Headspace SPME (HS-SPME)

Im Gegensatz zur klassischen SPME Methode, ist die Faser bei HS-SPME nicht im direkten Kontakt mit der Probe. Die zu analysierende Probe wird in diesem Fall in einem dicht geschlossenen Glas platziert und erwärmt. Die Analyten werden verdampft und in die Gasphase überführt. Die SPME-Faser befindet sich im gleichen Gefäß, sodass die Analyten aus der Gasphase an der Faser adsorbiert werden können. Im GC-Injektor erfolgt die Thermodesorption. HS-SPME wurde beispielweise für Sedimentproben verwendet [94]. Die SPME erfolgte in dieser Forschung auf Polydimethylsiloxan (PDMS) Faser. Eine komplexere Methode, eine Extraktion mit überkritischen Fluiden, die Headspace Festphasen-Mikroextraktion (SFE-HS-SPME), wurde von Liu et al. präsentiert. Diese Methode wurde erfolgreich angewendet, um PFCA in Sedimenten von Flüssen und Stränden in der Nähe von Industriegebieten zu analysieren [95]. Die Verwendung von SPME ermöglicht die Detektion von PFCA im Nanogramm pro Liter Bereich. Montelone et al. [85] haben mittels HS-SPME die Nachweisgrenzen zwischen 0.08 und 6.6 ng/l erreicht. Alzaga et al. [84] konnten Nachweisgrenzen zwischen 20 und 100 ng/l erzielen.

2.3. Derivatisierung

In der chemischen Analyse bedeutet Derivatisierung, dass während einer Reaktion die chemische Struktur des Analyten verändert wird. Die sogenannten Derivate besitzen physikochemische Eigenschaften, welche die Verwendung einer bestimmten analytischen Technik erlauben. Dazu gehören unter anderem höhere oder niedrigere Flüchtigkeit, thermische Stabilität, größere Molekülmasse und Absorption von UV-Strahlung. Das ideale Derivatisierungsmittel ist eine hochreaktive Verbindung, die zu hohen Ausbeuten von nur einem gut definierten Produkt mit hoher Stabilität führt. Wenn bei der Reaktion Nebenprodukte gebildet werden, sollten sie leicht aus dem Reaktionsgemisch entfernt werden können [96].

Innerhalb der Chromatographie können drei Derivatisierungsmethoden unterschieden werden:

- 1.) Derivatisierung vor der Injektion (engl. *pre-column derivatization*)
- 2.) Derivatisierung der Analyten in der Injektionskammer (engl. *injection port derivatization*)
- 3.) Derivatisierung nach der Trennung in der Säule, aber vor der Detektion (engl. *post-column derivatization*)

Die Begriffe "online" und "offline" sind gebräuchliche Bezeichnungen für die Derivatisierungsmethoden. Sie informieren darüber, wo der Analyt derivatisiert wurde. Bei der "online" Methode handelt es sich um eine Reaktion, bei der der gesamte Derivatisierungsprozess vollständig automatisiert ist. Der Begriff "offline" definiert eine Methode, bei der die Reaktion außerhalb der Apparatur durchgeführt wird und erst nach deren Durchführung die Probe analysiert wird [97].

In der Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) ist die Derivatisierung ein wichtiger Schritt bei der Probenvorbereitung, da sie die Selektivität und Empfindlichkeit des Detektors verbessern kann. Häufig wird in der LC ein UV-Absorptionsdetektor eingesetzt. Demgemäß wird die Derivatisierung verwendet, um Derivate herzustellen, die die gewünschten chromophoren Gruppen in der Struktur enthalten. In ähnlicher Weise führt man vor der Analyse mit Fluoreszenzdetektor häufig Reaktionen durch, die fluoreszierende Gruppen liefern [98].

In der Gaschromatographie (GC) wird üblicherweise eine Derivatisierungsreaktion verwendet, um die Flüchtigkeit von Verbindungen zu erhöhen. Meistens beinhaltet diese Reaktion den Austausch eines an ein Heteroatom gebundenen Wasserstoffatoms in eine Gruppe, die keine Wasserstoffbrücken bildet. Die häufigsten Anwendungen von Derivatisierung in der Gaschromatographie wurden in Abbildung 4 dargestellt.

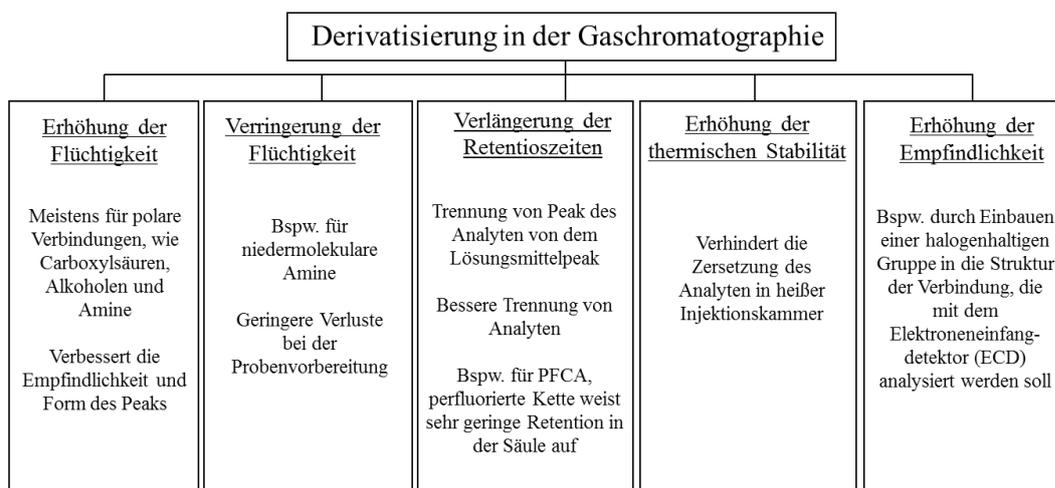


Abbildung 4 Die häufigsten Anwendungen von Derivatisierung in der Gaschromatographie [99].

Im einfachsten Fall, erfolgt die Derivatisierung durch Zugabe von Reagenzien zu einem Analyten. Die Probe wird danach meist zu einer gewünschten Konzentration verdünnt und in das GC injiziert. Es kann jedoch nötig sein, nach der Reaktion die

Nebenprodukte oder den Überschuss der Reagenzien zu entfernen. Andersfalls können sie während der Analyse Probleme verursachen. Beispielweise entsteht in der Reaktion mit Trimethylchlorsilan (TMCS) HCl als Nebenprodukt, welches die Säule beschädigen kann. In diesem Fall wird die Probe vor der Injektion neutralisiert.

Vor der gaschromatographischen Analyse kann die Derivatisierung auch direkt in einer heißen Injektorkammer stattfinden. Dieser Prozess hat viele Vorteile: Er ist einfach bei hoher Reaktionseffizienz und geringer Exposition gegenüber toxischen Chemikalien. In dieser Methode werden die Probe und das Derivatisierungsmittel zusammen in die Injektorkammer eingeführt. Die hohe Temperatur des Injektors ermöglicht eine schnelle Reaktion des Analyten mit dem Derivatisierungsmittel.

Wenn dies nicht notwendig ist, sollte der Einsatz von Derivatisierungsreaktionen vermieden werden, da ein solcher Vorgang zu Ungenauigkeiten in der quantitativen Analyse führen kann. Darüber hinaus werden viele Derivatisierungsreagenzien als giftig oder gesundheitsschädlich eingestuft. Daher sollte die Exposition gegenüber diesen Verbindungen vermieden werden [100].

In der Gaschromatographie werden am häufigsten Alkylierung (einschließlich Veresterung), Silylierung und Acylierung verwendet. Die Silylderivate werden durch den Ersatz der aktiven Wasserstoffatome durch eine Trimethylsilylgruppe gebildet. Diese Verbindungen sind meist flüchtiger, weniger polar und thermisch stabiler im Vergleich zu den Ausgangsubstanzen. Diese Reaktion kann für viele organische Verbindungen durchgeführt werden, beispielweise für Carbonsäuren, Alkohole, Thiole, Amine und Amide. Der Mechanismus der Silylierungsreaktion basiert auf einer nukleophilen Substitution (SN2) (Abbildung 5). Der nukleophile Angriff auf das Siliziumatom führt zur Bildung eines bimolekularen Übergangszustandes im Zwischenschritt des Reaktionsmechanismus [99,101].

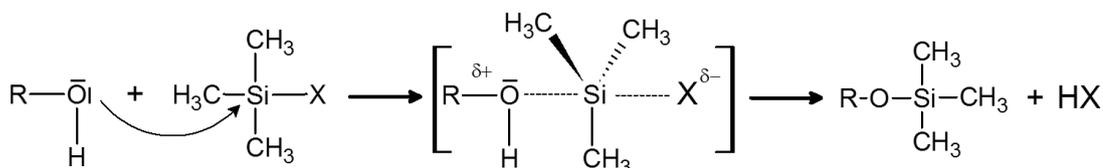


Abbildung 5 Schema der Trimethylsilylierung an einer Hydroxylgruppe (nach [99])

Verbindungen wie N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoracetamid (BSTFA) und N,O-Bis(trimethylsilyl)acetamid (BSA) werden häufig als Reagenzien für die Einführung

von Trimethylsilylgruppen verwendet [102]. Sie können auch in Kombination mit Katalysatoren wie Pyridin, Piperidin, Trimethylchlorsilan (TMCS) verwendet werden. TMCS ist ein Reagenz, welches oft zugegeben wird, um die Stabilität des Silyldonors zu erhöhen [103]. Silylierungsmittel sind meistens empfindlich gegenüber Feuchtigkeit [104]. Die Lösungsmittel sollen keine aktiven Wasserstoffatome enthalten. Darüber hinaus kann für die Silylierung die Erwärmung der Probe nötig sein. Die Reaktionszeit kann stark variieren, einige Verbindungen reagieren sofort mit dem Reagenz, während andere für bis zu 16 Stunden erhitzt werden müssen [104].

Bei der Alkylierung wird das Wasserstoffatom durch eine aliphatische oder aliphatisch-aromatische Gruppe (z. B. Benzyl) ersetzt. Die Hauptanwendung dieser Reaktion ist die Umsetzung organischer Säuren in Ester, insbesondere Methylester. Alkylierungsreaktionen können auch verwendet werden, um Ether, Thioether, Thioester, N-Alkylamine, Amide und Sulfonamide herzustellen [99]. Eine der einfachsten und schnellsten Methoden, um die Methylestern zu bilden, ist die Reaktion mit Diazomethan. Dies ist ein sehr starkes aber giftiges und krebserregendes Alkylierungsreagenz [105].

Die Analyten mit OH-, SH- und NH-Gruppen können durch Acylierung in Ester, Thioester und Amide umgewandelt werden [99]. Zudem kann diese Reaktion für Kohlenhydrate und Aminosäuren verwendet werden. Die Acylierungsreaktionen werden unter Verwendung von drei Haupttypen von Reagenzien durchgeführt: Säureanhydride, Säurehalogenide und reaktive Acylderivate [99].

Eine vielseitige Anwendung in der Derivatisierung weist Dimethylformamid-dimethylacetal (DMF-DMA) auf. Diese Verbindung gehört zu der Gruppe Amidacetalen und ist eine klare, farblose Flüssigkeit mit einem aminartigen Geruch. DMF-DMA ist mischbar mit vielen organischen Lösungsmittel und mit Wasser, jedoch tritt in Wasser eine langsame Zersetzung auf. Die Struktur dieser Verbindung ist in Abbildung 6 dargestellt.

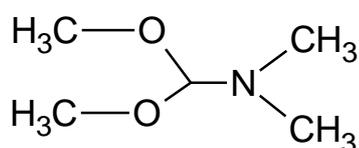


Abbildung 6 Die Struktur von Dimethylformamid-dimethylacetal.

Abu-Shanab et al. erklärten die hohe Reaktivität von DMF-DMA dadurch, dass diese Verbindung sowohl eine elektrophile Stelle als auch eine nukleophile Stelle in der Struktur enthält. Das an drei elektronenziehende Gruppen gebundene Kohlenstoffatom (zwei Methoxy- und eine Dimethylamino- Gruppe) trägt eine teilweise positive Ladung und bildet die elektrophile Stelle. Das Stickstoffatom trägt ein einzelnes Elektronenpaar und bildet in diesem Molekül eine nukleophile Stelle [106]. Daher kann DMF-DMA sowohl als angreifendes Nucleophil mit einem electrophilen sp^3 -C-Atom reagieren als auch einen nukleophilen Angriff an eigene elektrophile Stelle erlauben. Diese zweiseitige Struktur von DMA-DMA führt zu einer breiten Anwendung in der chemischen Synthese und Analytik [99,106].

Dimethylformamid-dimethylacetal (DMF-DMA) taucht als Derivatisierungsreagenz für Fettsäuren vor fast fünfzig Jahren in wissenschaftlichen Publikationen auf [107]. Als Alkylierungsreagenz ist DMF-DMA unter der Name Methyl-8[®] (2 mEq/ml, ca. 20-25% DMF-DMA in Pyridin) erhältlich. Es wurde zwar hauptsächlich zur Alkylierung von Carboxylgruppen verwendet [99], ist aber auch ein wirksames Alkylierungsmittel für Phenole, Thiole und andere heterocyclische Verbindungen, die NH-, SH- und/oder OH-Gruppen enthalten [108 bis 111]. Bei der Derivatisierung von Aminosäuren werden sowohl Carboxyl- als auch Aminogruppen umgesetzt [112]. Darüber hinaus wurden die Reaktionen mit Amiden [113] und Sulfonamiden [114] sowie Formylierung von Aminen [115] in der Literatur beschrieben. DMF-DMA ermöglicht eine einfache und schnelle Derivatisierung organischer Verbindungen durch Bildung leichter Derivate [116]. Diese Vorteile führen dazu, dass DMF-DMA auch bei Weltraummissionen zum Einsatz kommen könnte [116]. Die Derivatisierung von Perfluorcarbonsäuren mit DMF-DMA wurde schon 1977 von Elliott [117] beschrieben. In seiner Forschung wurden die PFCA-Ester gebildet und mittels GC-FID und GC-WLD analysiert. Zudem ist DMF-DMA nicht nur für gaschromatographische Analysen anwendbar. DMF-DMA wurde als chirales Derivatisierungsreagenz verwendet, um die D/L-Aminosäuren mittels ESI-MS zu quantifizieren [118]. In anderer Analyse von Aminosäuren wurde DMF-DMA zusammen mit n-Butanol verwendet. In dieser Forschung wurde beschrieben, dass die Sekundären Alpha-Aminosäuren wie Prolin und Sarcosin eine Mischung aus zwei Iminiumsalzen mit der DMF-DMA Derivatisierungsmethode bilden [119]. Bereits in den 70er Jahren gab es Ungenauigkeiten in Veröffentlichungen bezüglich Reaktionsprodukten für DMF-DMA. Narasimhachari und Friedel haben 1979 eine Bildung von N-Ethyl-Derivaten von sekundären Aminen beschrieben. Ein Jahr später

habet Thenot et al. bewiesen, dass Sekundäre Amine durch DMF-DMA formyliert werden, was früheren Berichten über die Ethylierung von sekundären Aminen durch dieses Reagens widerspricht [115]. Zudem wurden unerwartete Produkte einer Derivatisierungsreaktion von Dexamethason (Kortikosteroid) mit DMF-DMA beschrieben [120]. In dieser Forschung wurde ein Ester gebildet, was für den Forscher unerwartet war. Negriolli et al. haben angenommen, dass die Methylierung von Alkoholgruppen oder deren Umwandlung in eine Dimethylaminogruppe wahrscheinlicher ist.

Mehrere DMF-Dialkylacetalen wurden als Derivatisierungsreagenzien getestet. Für heterocyclische Amine lieferte N,N-dimethylformamide di-*tert*-butylacetal (DMF-DtBA) die beste Ausbeute. Darüber hinaus wurde DMF-DEA verwendet, um ein Ethylester von Ecgonidin (Alkaloid) herzustellen und anschließend mittels GC-MS zu analysieren [121]. Paul et al. [122] haben auch eine einfache Veresterung von Benzoyllecgonin mit DMF-Dipropylacetal und DMF-Diisopropylacetal präsentiert. Dimethylformamid-dialkylacetalen haben ein breites Spektrum an möglichen Reaktionen und können, wie in dieser Dissertation gezeigt, immer noch unerwartete Derivate liefern.

3. Analytische Verfahren zur Bestimmung von PFCA

3.1. Kapillargaschromatographie

Die Gaschromatographie ist die leistungsfähigste analytische Trennmethode für Substanzgemische. Die Trennstufenzahl liegt in der Größenordnung von 100 000 theoretischen Böden. Das Verfahren basiert auf der unterschiedlichen Verteilung der einzelnen Analyten mit einer stationären Phase (Trennsäule) und einer mobilen Phase (Trägergas). Das Trägergas ist meist Stickstoff, Helium oder Wasserstoff. Die am häufigsten eingesetzten Trennsäulen sind Glaskapillare, deren Innenseiten mit den stationären Phasen beschichtet sind. Die Säule ist in einen exakt thermostatisierbaren und programmierbaren Ofen eingebaut. Aufgrund unterschiedlicher Verteilungskoeffizienten zwischen der stationären und mobilen Phase werden komplexe Mischungen am Ende der Säule aufgetrennt detektiert. Die Verweilzeit in der Säule wird als Retentionszeit bezeichnet. Die Probe wird meist mit einer Spritze in den Injektor gegeben, wo sie verdampft und durch die Säule transportiert wird. Am Ende der Säule erzeugt ein Detektor ein elektrisches Signal, welches zeitabhängig registriert wird und das Chromatogramm ist. Obwohl eine große Mehrheit der

Trennungen an stationären Phasen aus Polydimethylsiloxan gemacht wird, gibt es weitere polare Säulen, um spezielle Applikationen durchzuführen. Grundsätzlich werden die Analysen in 15-60 m langen Säulen durchgeführt. Der innere Durchmesser beträgt üblicherweise 0.20-0.32 mm und die Schichtdicke einer stationären Phase - 0.25 µm.

Zwar sind die Siedepunkte von PFCA ca. 40-50 °C niedriger als die der entsprechenden Carbonsäuren mit äquivalenter Anzahl an Kohlenstoffatomen, jedoch können sie aufgrund ihrer Polarität nicht direkt mittels GC analysiert werden [123]. Am häufigsten werden Alkyl- und Silylester Derivate gebildet, aber auch die Bildung von Benzylester und Thioester sind in der Literatur beschrieben worden. Die Derivatisierungsreaktionen und deren Anwendung wurden in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2 Zusammenstellung der Methode zur GC-MS Analyse von PFCA.

Derivatisierung	Probe	Extraktion	Messtechnik	Quelle
Methylester				
BF ₃ /Methanol	Sediment	HS-SPME	GC-MS NCI	[94]
Diazomethan	Rattengewebe	LE	GC-ECD	[87]
Diazomethan	Plasma, Urin und Lebergewebe	LE	GC-ECD	[65]
Diazomethan	Serum, Lebergewebe	IP-LE	GC-MS EI	[60]
Diazomethan	Boden, Sediment, Pflanzen	LE	GC-MS NCI	[90]
Methyliodid	Grundwasser	SPE	GC-MS EI, GC-MS NCI	[76]
Propylester				
Propylchlorformiat	Oberflächenwasser	HS-SPME	GC-MS/MS NCI	[85]
Isopropylester				
Isopropanol	-	-	GC-MS NCI	[124]
Butylester				
Tetrabutylammonium	Kläranlagenablauf, Meerwasser	SPME	GC-MS NCI	[84]
Tetrabutylammonium	Oberflächenwasser	DLLME	GC-MS/MS NCI	[68]
Butanol	Sediment	HS-SPME	GC-MS/MS NCI	[95]
Isobutylester				
Isobutylchlorformiat	Muttermilch	IP-LLE	GC-MS EI	[61]
Isobutylchlorformiat	Kläranlagenzulauf Kläranlagenablauf	SPE	GC-MS EI	[79]
Isobutylchlorformiat	Urin	SPE	GC-MS EI	[125]
Isobutylchlorformiat	Oberflächenwasser	-	GC-MS EI, GC-ECD	[126]
Isobutylchlorformiat	Oberflächenwasser	SPE	GC-MS NCI	[80]
Benzylester				
Benzylbromid	Plasma, Urin	IP-LLE	GC-MS EI, GC-FID	[62]

Benzylbromid	Rattengewebe und Serum	LE	GC-MS NCI	[88]
Benzylbromid	Oberflächenwasser, Fisch	IP-LLE	GC-MS EI	[63]
Benzylbromid	Lebensmittel	IP-LLE	GC-MS NCI	[86]
Trimethylsilylester				
BSTFA	Verpackung Textilien	PLE	GC-MS EI	[92]
BSTFA	Boden	LE	GC-MS EI	[89]
Difluoroanilide				
2,4-Difluoroanilin	Wasser	LE	GC-MS EI, GC-FID	[127]
2,4-Difluoroanilin	Serum	IP-LLE	GC-MS NCI	[32]
2,4-Difluoroanilin	Bärenleber	IP-LLE	GC-MS EI	[128]
2,4-Difluoroanilin	Oberflächenwasser, Sediment	SPE	GC-MS EI	[81]
2,4-Difluoroanilin	Oberflächenwasser, biol. Proben	IP-LLE	GC-MS NCI	[129]

Am häufigsten wurde ein Massenspektrometer als Detektionstechnik verwendet. Zur Ionisierung der Derivate in der Ionenquelle wird meist die Elektronenstoßionisation (EI, engl. *electron impact*) oder die Negativ-Ionen-Chemische Ionisation (NCI, engl. *negative chemical ionization*) verwendet. Die Negative chemische Ionisierung wird am häufigsten mit Methan als Reagenzgas durchgeführt. Für die Analyse von perfluorierten Verbindungen, wird jedoch die Verwendung von Ammoniak anstelle von Methan empfohlen. Dies führt aufgrund höherer Fragmentierung, zu einer Erhöhung der Empfindlichkeit und schützt somit die Ionenquelle vor Fluorwasserstoff (HF), das ein Produkt der chemischen Ionisation ist. Ammoniak neutralisiert diese hochreaktive und korrosive Verbindung und verlängert dadurch die Lebenszeit des MS-Filaments [84]. Neben GC-MS wurde die gaschromatographische Analyse für biologische und Umweltproben auch mittels Elektroneneinfangdetektor (ECD) und Flammenionisationsdetektor (FID) durchgeführt.

Zur Bildung von Methylestern, werden Diazomethan, Methyljodid und eine Mischung BF₃/Methanol verwendet. Chlorformiate, eine Gruppe von Estern der Chlorameisensäure, werden ebenfalls als Derivatisierungsmittel in Kombination mit entsprechenden Alkoholen verwendet. Perfluorcarbonsäuren bilden in der Reaktion mit solchen Verbindungen Propyl-, Isopropyl-, Butyl- und Isobutylester. Sehr oft wird ein N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid (abgekürzt DCC) als Katalysator verwendet. Bisher wurden keine optimierten Methoden für Ethylester-Derivate veröffentlicht. Ein Vergleich zwischen den Reagenzmischungen Ethylchlorformiat/Ethanol bzw.

Propylchlorformiat/Propanol wurde untersucht, wobei die Reaktion mit Propylchlorformiat/Propanol wesentlich höhere Signale für alle Analyten erzielten [85].

2,4-Difluoroanilide als PFCA-Derivate können in einer Reaktion mit 2,4-difluoroanilin hergestellt werden. Diese Reaktion findet in Gegenwart eines Katalysators (üblicherweise DCC) statt. Diese Methode besteht aus mehreren Probenvorbereitungsschritten: pH-Einstellung, Schütteln, Phasentrennung und Waschen der organischen Phase mit HCl, NaHCO₃ und NaCl-Lösung. Danach wird die Phase durch einen Filter mit Na₂SO₄ geleitet und bis zur Trockne abgedampft. Die Rückstände werden in einer Hexan-Diethylether-Mischung gelöst. Anschließend wird eine weitere Reinigung auf der Kieselgelsäule durchgeführt. Nach der Elution mit Hexan wird die Probe eingedampft und analysiert [81,128].

Die Bildung von Benzylester besteht aus zwei Schritten: Zuerst wird ein Ionenpaar aus Tetrabutylammonium-Kation und Säurerest-Anion gebildet worauf eine Alkylierung mit Benzylbromid erfolgt (80 °C, 15 Min). Die organische Phase wird abgedampft und in Dichlormethan gelöst [62].

Eine Silylierungsreaktion wurde für PFCA nur unter Verwendung von BSTFA beschrieben. Diese Methode wurde für Verpackungsmaterialien, Textilien [92] und Bodenproben [89] erfolgreich angewendet. BSTFA wurde zu dem Extrakt gegeben und aufgeschüttelt. Die Reaktion wird bei 40 °C in einem Wasserbad für 60 Minuten durchgeführt. Nach dem Abkühlen, wird die Probe in Dichlormethan gelöst. Die in dieser Arbeit vorgestellte Methode ist bisher einzigartig. Es wurde bisher noch keine Silylierungsmethode veröffentlicht, die zur Bestimmung von PFCA in Wasser genutzt wurde.

3.2. Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) ist ein chromatographisches Trennverfahren mit ca. 20 000 theoretischen Böden. Die Analyten werden durch die Trennsäule mit Hilfe einer flüssigen, mobilen Phase transportiert. Die Trennung der Analyten in klassischer HPLC erfolgt wiederum aufgrund unterschiedlicher Verteilungskoeffizienten. In der Normal-Phase-Chromatographie wird am häufigsten Kieselgel als stationäre Phase verwendet. In der Umkehr-Phasen-Chromatographie ist die Polarität der mobilen Phase größer als die der stationären Phase. Für dieses Verfahren werden Partikel aus chemisch

modifiziertem Kieselgel verwendet, bei dem die freien Silanolgruppen durch unterschiedliche organische Gruppierungen ersetzt wurden [130].

Am Ende der Säule der HPLC-Anlage werden die Analyten mit Detektoren registriert. Sehr häufig wird zu diesem Zweck der UV/VIS-Detektor benutzt. Damit ist es möglich die Verbindungen nachzuweisen, welche im UV- oder im VIS-Bereich Licht absorbieren, während das Fließmittel keine Extinktion aufweisen darf. Weitere Detektoren in der HPLC sind: Massenspektrometer, Fluoreszenzdetektor, Brechungsindexdetektor, Lichtstreuendetektor und elektrochemische Detektoren. Wobei die Massenspektrometrie die universellste und leistungsfähigste Methode ist. Hierbei müssen die Analyten im Lösungsmittel ionisiert werden, was üblicherweise mittels Elektrosprayionisation (ESI) erfolgt. Der Vergleich zwischen einer Hochleistungsflüssigkeitschromatographie und Gaschromatographie wird in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3 Vergleich von GC und HPLC Techniken.

Parameter	GC	HPLC
Mobile Phase	Trägergas	Organische Lösungsmittel
Typische stationäre Phasen	Poly(diphenyl-dimethylsiloxan), Polyethylenglykol,	C18, Kieselgel
Abmessungen der Säule	Länge ca. 15-30 m, Durchmesser 0.20-0.32 mm	Länge 18-300 mm, Durchmesser 2-4.6 mm
Trennleistung	~ 100 000 theoretischen Böden	~ 20 000 theoretischen Böden
Typische Detektoren	Massenspektrometer, Flammenionisationsdetektor, Wärmeleitfähigkeitsdetektor, Elektroneneinfangdetektor	UV/VIS-Detektor, Massenspektrometer, Fluoreszenzdetektor, Lichtstreuendetektor
Typische Analyten	Flüchtige und halbflüchtige organische Verbindungen	Halbflüchtige und schwerflüchtige organische Verbindungen

Die Analyse von perfluorierten Substanzen mittels Flüssigchromatographie wurde für verschiedene Proben [131] wie Serum [132], Verpackungsmaterialien [93] und Tiergewebe [66], beschrieben. Die Kombination aus der LC und Massenspektrometrie (LC-MS) oder der LC und Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS), wird auch häufig bei der Analyse von Wasserproben verwendet [91,133 bis 135]. Die

angegebenen Nachweisgrenzen liegen hierbei üblicherweise im niedrigen $\mu\text{g/l}$ und ng/l Bereich. Dies macht die LC-MS und die LC-MS/MS zur effektiven Methode für die PFCA-Analyse. Dabei gibt es jedoch einen entscheidenden Nachteil: Die Geräte sind teurer und komplexer, als die für die GC-MS. Gewöhnlicherweise ergibt die GC auch schmalere Peaks, was zu einer besseren Trennleistung führt. Dies ist sehr wichtig in der Analyse von PFCA-Isomeren. Ein bekanntes Problem bei der LC-MS-ESI, ist die Möglichkeit der Ionensuppression [136]. ESI ist außerdem weniger stabil und reproduzierbar, wie die Elektronenionisierung (EI) [137]. Für die Ergebnisinterpretation werden üblicherweise theoretische Massenspektrenbibliotheken und selbst hergestellte empirische Bibliotheken verwendet. Es gibt keine kommerzielle, standardisierte ESI-Massenspektrenbibliothek [138]. Daher gibt es in den Target-Analysen mehr Anwendungen von LC-MS-Systemen als im Non-target-Screening. Die Hintergrundkontamination in der LC-MS-Analyse von PFC muss ebenfalls berücksichtigt werden. Es wurde festgestellt, dass LC-Schläuche, interne LC-Teile und Teflon[®]-Septen zusätzliche PFC-Signale verursachen können. Daher müssen vor der Analyse alle möglichen Kontaminationsquellen identifiziert und eliminiert werden [139].

3.3. Kapillarelektrophorese

Eine seltener verwendete Technik, ist die Kapillarelektrophorese (CE), mit einer Trennleistung, die im Bereich zwischen der HPLC- und der GC-Methode liegt [140]. Die CE stellt eine Alternative für die Analyse von polaren und ionisierten perfluorierten Verbindungen, einschließlich Isomeren, gegenüber der klassischen angewandten Methoden dar. Diese Trenntechnik kann mit absorptiven, spektrophotometrischen Detektoren verwendet werden. Beispielweise wurde ein kapillarelektrophoretisches Verfahren, mit indirekter UV-Detektion, für die Analyse von PFCA (C6-C12) in Wasser entwickelt [141]. Die Nachweisgrenzen befanden sich jedoch im Bereich von mg/l , was für die Umweltanalytik unbefriedigend ist. Weitere Optimierung hat die Detektion im Bereich von $0.6\text{-}2.4 \text{ mg/l}$ ermöglicht [142]. Niedrigere Nachweisgrenzen (ca. $0.28 \mu\text{g/l}$ für PFOA) haben Knob et al. erreicht [143]. Um diese Nachweisgrenze zu erreichen, wurde jedoch SPE verwendet und der Konzentrationsfaktor der Probe betrug über 4000. Eine Kombination aus Kapillarelektrophorese und MS Detektor könnte eine Möglichkeit zur Verbesserung der Nachweisgrenzen darstellen. Bisher wurden jedoch keine Anwendungen in der Literatur beschrieben.

3.4. Massenspektrometrie

Massenspektrometrie gehört zu den leistungsfähigsten Methoden zur Analyse organischer Verbindungen überhaupt. Gekoppelt mit der hohen Trennleistung von LC oder GC stellt sie eine Technik dar, die eine exakte Identifizierung und Quantifizierung sowohl von reinen Substanzen als auch von komplexen Substanzgemischen ermöglicht. Zur Erzeugung eines Massenspektrums müssen die Analyten zunächst ionisiert werden. Die Registrierung der hierbei erzeugten Ionen kann mit unterschiedlichen Techniken erfolgen, wobei immer das Verhältnis Masse zu Ladung (m/z) registriert wird [144]. Das Massenspektrum ist die Intensität der Ionen mit unterschiedlichen Massenzahlen einer gegebenen Substanz. Die wesentlichen Bestandteile eines Massenspektrometers sind eine Ionenquelle, ein Analysator und ein Detektor. Sämtliche Vorgänge laufen im Hochvakuum ab, um eine Kollision mit unerwünschten Gasmolekülen auszuschließen. Eine Zusammenstellung der Ionisationsmethoden befindet sich in Tabelle 4.

Tabelle 4 Zusammenstellung von Ionisationsmethoden für Massenspektrometer [144,145]

Ionisationsmethode	Beschreibung
Elektronenstoßionisation (EI)	<ul style="list-style-type: none"> - Ionisation im Vakuum durch energetische Elektronen - Starker Fragmentierungsgrad - Substanzen mit Molmassen bis ca. 800-1000 u - Umfangreiche Massenspektrenbibliothek (NIST)
Chemische Ionisation (CI)	<ul style="list-style-type: none"> - Ionisation mit Hilfe eines Reaktandgases (CH₄, NH₃) - Milde Ionisationsmethode - Bildung von positiven und negativen Ionen möglich - Analyten mit Molmasse bis ca. 1000 u
Atmosphärendruck Chemische Ionisation (APCI)	<ul style="list-style-type: none"> - Sanfte Ionisierung bei atmosphärischem Druck - Substanzen mit Molmasse bis ~ 2000 u - Primären Ionen werden durch Korona-Entladung erzeugt - Sowohl positive als auch negative Ionen
Atmosphärendruck Photoionisation (APPI)	<ul style="list-style-type: none"> - Ionisation durch UV-Licht - Sanfte Ionisierung bei atmosphärischem Druck
Feldionisation (FI)	<ul style="list-style-type: none"> - weiche Ionisation in der Gasphase durch ein starkes elektrisches Feld - Analyten mit Molmasse bis ca. 1000 u
Felddesorption (FD)	<ul style="list-style-type: none"> - weiche Ionisation aus kondensierter Phase durch ein starkes elektrisches Feld

	<ul style="list-style-type: none"> - Analyten mit Molmasse bis ca. 3000 u, auch ionische Verbindungen
Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation (MALDI)	<ul style="list-style-type: none"> - Kokristallisation von Matrix und Analyt - Ionisierung mit Hilfe UV- und IR-Laser - Analyten mit Molmassen bis über 100 000 u, beispielweise Polymere und Biomakromoleküle - Positive und negative Ionen
Elektrosprayionisation (ESI)	<ul style="list-style-type: none"> - Sanfte Ionisation bei atmosphärischem Druck - Zerstäubung von Lösung mit Analyten mit Hilfe eines elektrischen Feldes - Analyten mit Molmassen von 100 u bis über 100 000 u, auch ionische Analyte - Positive und negative Ionen
Direct Analysis in Real Time Technique (DART)	<ul style="list-style-type: none"> - Desorption von Analyten aus einer Oberfläche unter Verwendung von Helium-Strom - Analyten mit Molmasse bis ca. 2000 u, auch ionische Analyte

Im einfachsten Fall werden die Analyten im Hochvakuum mit Elektronen beschossen, um die gewünschten Ionen zu erzeugen [146]. Diese Ionisationsmethode wird als Elektronen-Stoß-Ionisation (engl. *Electron Ionization*, EI) bezeichnet. Die Elektronenenergie muss höher sein als die Ionisationsenergie der Teilchen. Ein typischer Ionisationswert beträgt 70 eV [144]. Der Beschuss der Moleküle mit den Elektronen überträgt deren Energie auf die Moleküle. Die so erzeugten instabilen Moleküle zerfallen zu immer demselben Muster und bilden das Massenspektrum. Häufig wird bei diesem Beschuss auch nur ein Elektron aus dem Molekül herausgeschlagen. Es entsteht ein Ion (M^{+}), welches Molekül-Ion genannt wird [145]. Zur Interpretation von Massenspektren ist es meist wünschenswert, möglichst viele unterschiedliche Ionen zu erzeugen. Diese aussagekräftigen Massenspektren entstehen durch Abspaltung von Radikalen oder/und neutralen Molekülen und sind von den Ionisationstechniken abhängig.

Wird ein Reaktandgas für die Ionisierung verwendet, welches die Ladung überträgt, wird dies als chemische Ionisation (engl. *Chemical Ionization*, CI) bezeichnet. Diese sanfte Ionisierung erzeugt häufig das erwünschte Ion $[M+H]^{+}$ und oft zusätzlich das addierte Reaktandgas-Ion. Damit kann meist zweifelsfrei die molare Masse des Analyten bestimmt werden. Auch negative Ionen werden in diesem Prozess erzeugt. Die Registrierung der negativen Ionen wird als Negativ-Ionen-Chemische Ionisation (NCI) bezeichnet. Sie funktioniert besonders gut für halogenhaltige

Verbindungen, weil sie eine große Elektronenaffinität besitzen [147]. Die am häufigsten verwendeten Reaktandgase sind Methan, Isobutan und Ammoniak.

Eine weitere weiche chemische Ionisation ist Atmosphärendruck Chemische Ionisation (APCI). Diese Methode liefert sowohl positive als auch negative Ionen und wird vor allem in der HPLC eingesetzt. Auch in Atmosphärendruck Photoionisation (APPI) werden die Proben in Atmosphärendruck ionisiert. In APPI erfolgt jedoch die Ionisation durch UV-Licht statt durch chemische Prozesse [145].

Andere weiche Ionisationsarten sind Feldionisation (FI) und Felddesorption (FD). Der Fragmentierungsgrad in FD und FI ist sehr gering. Bei der Feldionisation erfolgt die Ionisation in der Gasphase durch ein starkes elektrisches Feld. Der wichtigste Unterschied zwischen FI und FD liegt darin, dass bei der FD der Analyt nicht vor der Ionisation verdampft werden muss [148]. Der Analyt wird in flüssiger oder fester Form auf der Oberfläche einer speziellen Anode (Feldemitter) platziert und ionisiert [149]. Die FD ist sowohl für neutrale als auch für ionische Analyten geeignet [146]. Die Felddesorption wird in dieser Dissertation für die Analyse von PFOA-Salz verwendet.

Die Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation (MALDI) ist eine weitere Ionisationsmethode. Bei der MALDI-Methode wird die analysierte Substanz ionisiert, nachdem sie mit der Matrixlösung gemischt wurde. Die Probe wird mit Laserimpulsen bestrahlt, was zur Anregung von Elektronen in der Matrix führt. Die durch die Übertragung des Protons zwischen der angeregten Matrix und der zu analysierenden Substanz gebildeten Ionen werden dann desorbiert. Diese Methode wird verwendet, um Ionen aus großen Molekülen mit minimaler Fragmentierung zu erzeugen [150].

Außer MALDI wird auch eine andere milde Ionisationstechnik – Elektrosprayionisation (ESI) – für großen Moleküle verwendet. Mehrere Modellvorstellungen beschreiben die Bildung freier Ionen in ESI. Zwei der bekanntesten Modelle sind Charge Residue Model (CRM) und Ion Evaporation Model (IEM). Die Ionisation erfolgt in drei Schritten: Bildung ladungstragender Tropfen, Verkleinerung der Tropfen und Bildung gasförmiger Ionen. Am Anfang wird eine Analytlösung in die Kammer eingeführt, in welcher Atmosphärendruck aufrechterhalten wird. Die Flüssigkeit fließt durch die Kapillare, an die Spannung angelegt wird. Dies bewirkt, dass sich die Flüssigkeit verteilt und einen Strom von feinen, gleichmäßig geladenen Tropfen erzeugt. Deren Größe hängt von mehreren Faktoren wie Flussrate, angelegte Spannung und Konzentration des Elektrolyten ab. Durch Abdampfen des Lösungsmittels erreichen die Tropfen einen Zustand, in dem

die elektrostatische Abstoßung der Oberflächenladungen größer als die Oberflächenspannung ist (sog. Raleigh Limit). Somit werden viel kleinere Tropfen (Mikrotropfen) emittiert. Anschließend führt es zur Bildung eines Ionenstrahls, der in den Analysator eingeführt wird [151].

In dieser Arbeit werden auch Messungen unter Verwendung der Direct Analysis in Real Time Technik (DART) durchgeführt. Diese Methode basiert auf der Desorption von Analyten aus einer Oberfläche unter Verwendung von Helium-Strom. In DART werden Ionen, Elektronen und angeregte Atome unter Atmosphärendruck produziert. Das Plasmagas, welches diese angeregten Zustandsspezies enthält, wird erhitzt und durch Gitterelektroden geleitet um die Ionen zu entfernen. Danach wird dieser Gasstrom aus der Quelle abgeleitet und kann die Analyten ionisieren. Mit dieser Methode können Ionen aus sowohl Gasen als auch Flüssigkeiten und festen Proben analysiert werden. Dieser Gasstrom enthält metastabile Helium-Atome (He^*), die eine Penning-Ionisation von Stickstoff und Wasser aus der Atmosphäre bewirken [146].

Im Analysator werden die Ionen basierend auf dem Verhältnis ihrer Masse zur Ladung getrennt. Zu den Grundtypen von Analysatoren gehören: Linearer Quadrupol, Flugzeit-Massenspektrometer, Magnetisches Sektorfeld, Quadrupol-Ionenfalle, Fourier-Transform-Ionencyclotronresonanz (FT-ICR) und Orbitrap.

Ein Quadrupol besteht aus vier parallel liegenden Stabelektroden, die in einem Quadrat angeordnet sind. Die erzeugten Ionen werden einem elektrischen Feld ausgesetzt, welches durch Anlegen von Potential an entsprechende Stäbe erzeugt wird. Die Ionen mit bestimmten m/z Werten werden abhängig von der Spannung sortiert. Durch diese Selektierung können jeweils nur Teilchen mit einem definierten Masse/Ladung (m/z) Verhältnis das Feld durchlaufen und in den Detektor gelangen. Die verbleibenden Ionen werden an den Quadrupolstäben entladen und nicht gemessen [152].

Die Quadrupol-Ionenfalle wird in zwei Varianten verwendet. Für die GC-MS Analyse ist dies häufig die Dreidimensionale Quadrupol-Ionenfalle. Dabei werden die erzeugten Ionen in der Falle gefangen gehalten und durch Variation des elektrischen Feldes aus dieser Falle ausgeschleust und registriert. Dadurch entsteht das Massenspektrum. Eine in LC-MS häufig verwendete Variante ist die Lineare-Quadrupol Ionenfalle, wo die Ionen durch ein zweidimensionales (2D) Quadrupolfeld gehalten werden [153].

Beim Flugzeit-Massenspektrometer (TOF, engl. *Time-of-Flight*) werden die eingebrachten Ionen durch einen elektrischen Impuls beschleunigt und beginnen durch

die Analysatorkammer zu fliegen. Die Flugzeiten der Ionen zum Detektor werden registriert. Ionen mit einem höheren m/z Verhältnis brauchen dafür länger als solche mit einem kleineren m/z .

Ein Magnetisches Sektorfeld ist ein Impulsanalysator. Die Trennung von Ionen erfolgt durch deren Ablenkung in einem Magnetfeld. Ionen mit unterschiedlichen m/z Werten, fliegen im Magnetfeld auf Kreisbahnen mit unterschiedlichen Radien. Der Radius der Flugbahn hängt von Lorentz- und Zentrifugalkräften ab.

Das Prinzip des FT-ICR Analysator besteht aus einer Speicherung von Ionenpaketen in einem sehr starken Magnetfeld und deren elektrischen Anregung. Die Bestimmung der Cyclotronresonanzfrequenz erfolgt durch Fourier-Transformation des Signals [145]. Mittels FT werden die Signale aus der Zeitdomäne in die Frequenzdomäne transformiert.

Auch die Orbitrap nutzt die Fourier-Transformation zur Umwandlung des Signals aus dem Zeitbereich in den Frequenzbereich. Weiter werden die Frequenzen in m/z -Werte umgewandelt. Dieser Analysator ist eine Art von Ionenfalle. Die Ionen werden jedoch nicht durch einen Magneten in der Falle gehalten, sondern durch ein elektrostatisches Feld [146].

4. Grundlagen der Methodvalidierung in der Chromatographie

Die Aufgabe der Validierung einer entwickelten Analysenmethode ist die Sicherung der Ergebnisse. Das Analysenverfahren kann hierbei anhand einiger festgelegter Leistungsmerkmale beurteilt werden. Zu den wichtigsten gehören: Nachweis- und Bestimmungsgrenze, Wiederfindungsrate, Genauigkeit, Präzision, Selektivität und Linearität [154 bis 156].

Die Genauigkeit ist der Abstand eines einzelnen Wertes vom Sollwert, hervorgerufen durch systematische und zufällige Fehler. Die Genauigkeit kann als Wiederfindung der bekannten zugesetzten Menge in der Probe angegeben werden. Die Berechnung der Wiederfindungsrate kann mit Formel F.1 erfolgen:

$$WFR = \frac{x_p - x_b}{x_{ad}} \quad (\text{F.1})$$

x_p – Mittelwert des experimentell ermittelten Analysenergebnisses

x_b – Mittelwert des experimentell ermittelten Blindwertes der Probenmatrix

x_{ad} – dotierte Analytgehalte

Die Präzision informiert über die Streuung von Analyseergebnissen. Als Präzisionsmaß können unter anderem Standardabweichung und relative Standardabweichung verwendet werden. Die Standardabweichung wird mit Hilfe folgender Formel (F.2) berechnet:

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (\text{F.2})$$

\bar{x} – Mittelwert

x_i – Einzelwert

n – Anzahl der Messungen

Die prozentuale relative Standardabweichung (RSD%) ist identisch mit Variationskoeffizient (V_k). Mit diesem Maß kann man verschiedene Messungen und Methoden vergleichen. Mit folgender Formel (F.3) kann man die RSD% berechnen:

$$RSD\% = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\% \quad (\text{F.3})$$

s – Standardabweichung von mindestens 6 Messungen

\bar{x} – Mittelwert

Unter der Nachweisgrenze (NWG) versteht man die niedrigste Konzentration des Analyten in der Probe, bei der die Identifizierungskriterien erfüllt sind. Der Analyt muss nicht unbedingt genau quantifiziert werden können. Die Bestimmungsgrenze (BSG) wird als kleinste quantifizierbare Menge des Analyten definiert. Das ist die Menge, die mit einer vorgegebener Richtigkeit und Präzision quantitativ erfasst werden kann [156]. Ein beliebtes Verfahren in der Chromatographie für die Ermittlung von NWG und BSG ist das Signal/Rausch Verhältnis. Es wird empfohlen, dass der Wert für die NWG 3:1 und für die BSG 10:1 beträgt [155]. Es gibt jedoch auch andere Möglichkeiten zur Ermittlung von Nachweis- und Bestimmungsgrenzen, zum Beispiel Kalibrierverfahren, Leerwertmethode und Abschätzung aus der Signalhöhe. Wenn die Blindproben kleine Signale enthalten, welche durch Verunreinigung verursacht sind, kann man für die NWG folgende Regel benutzen [155]:

$$\text{NWG} = 3 * \text{Blindwert} \quad (\text{F.4})$$

In der Blindwertmethode [155] wird eine Kalibrierfunktion aus mindestens 3 Konzentrationen erstellt. Die NWG und BSG können dann mit Hilfe folgenden Formeln ermittelt werden:

$$NWG = y + 3.3 \times s \quad (\text{F.5})$$

$$BSG = y + 10 \times s \quad (\text{F.6})$$

y – Achsenabschnitt der Kalibrierfunktion

s – Standardabweichung von 6 Blindproben

Eine weitere Möglichkeit die NWG und BSG zu bestimmen, ist eine rechnerische Ermittlung mit Hilfe von Bildwerten und deren Standardabweichungen [155]. In dieser Arbeit wurde dieses Verfahren für die DMF-DMA Methode verwendet. Die NWG und BSG wurden mit folgenden Formeln berechnet:

$$NWG = x + 3 \times s \quad (\text{F.7})$$

$$BSG = x + 10 \times s \quad (\text{F.8})$$

x – Mittelwert aus sechs Blindwertmessungen

s – Standardabweichung von sechs Blindproben

Eine Kalibrierung wird zur Ermittlung des Zusammenhangs zwischen Messwerten der Probe und Standardlösungen durchgeführt. Mit der Messung von mindestens drei Standardlösungen in verschiedenen Konzentrationen wird üblicherweise eine lineare Gleichung erstellt: $y = ax + b$. Von ICH [154] werden mindestens fünf Konzentrationen empfohlen, um eine Kalibriergerade zu erstellen. Aus dieser Gleichung kann man in der Chromatographie die Konzentration des Analyten (x) in der Probe berechnen:

$$x = \frac{\text{Peakfläche} - b}{a} \quad (\text{F.9})$$

Die Linearität dieser Funktion wird am häufigsten durch einen Korrelationskoeffizient (R) oder Determinationskoeffizient (R^2) bewertet. Für die Messung von Verunreinigungen, welche 0.1 bis 2.5% der Hauptkomponente betragen, soll der R^2 Wert ≥ 0.98 sein [155].

Selektivität ist die Fähigkeit einer Methode, verschiedene nebeneinander zu bestimmende Komponenten ohne gegenseitige Störung zu erfassen und sie somit eindeutig zu identifizieren [155]. In vorliegender Doktorarbeit werden zehn Perfluorcarbonsäuren mit verschiedenen Kettenlängen derivatisiert und detektiert. Um die Selektivität jeder Methode zu beurteilen, wurde in dieser Arbeit ein Gemisch aus allen zu untersuchenden PFCA zur Methodenüberprüfung verwendet.

Bei der Beurteilung der Selektivität soll auch untersucht werden, inwieweit die Probenmatrix die Analyse beeinflusst. Die Problematik der Selektivität einer analytischen Methode tritt z.B. bei der Derivatisierung auf. Hierbei können einige Bestandteile der Matrix den Ablauf der Reaktion stark beeinflussen. Dieser Matrixeffekt muss für jede Probenart vor der Analyse getestet werden. Auch die Blindwerte können abhängig von der Matrix und den zugegebenen Reagenzien steigen. Oft ist eine Veränderung in der Probenvorbereitung zur Abtrennung der Störstoffe erforderlich.

Die Matrix der Probe kann das Signal des Analyten in der Chromatographie stark beeinflussen. Deswegen können die Signale der Analyten in der Probe wesentlich höhere oder niedrigere Intensitäten als in der Standardlösung aufweisen. In diesem Fall kann man keine Kalibrierfunktion verwenden, um die Konzentrationen in der Probe zu messen. Das Problem kann man durch Erstellung einer Kalibrierfunktion direkt in der Probe eliminieren. Eine solche Ermittlung der Konzentration wird als Standard-Additionsverfahren bezeichnet. In Abbildung 7 wurde die Methode schematisch dargestellt.

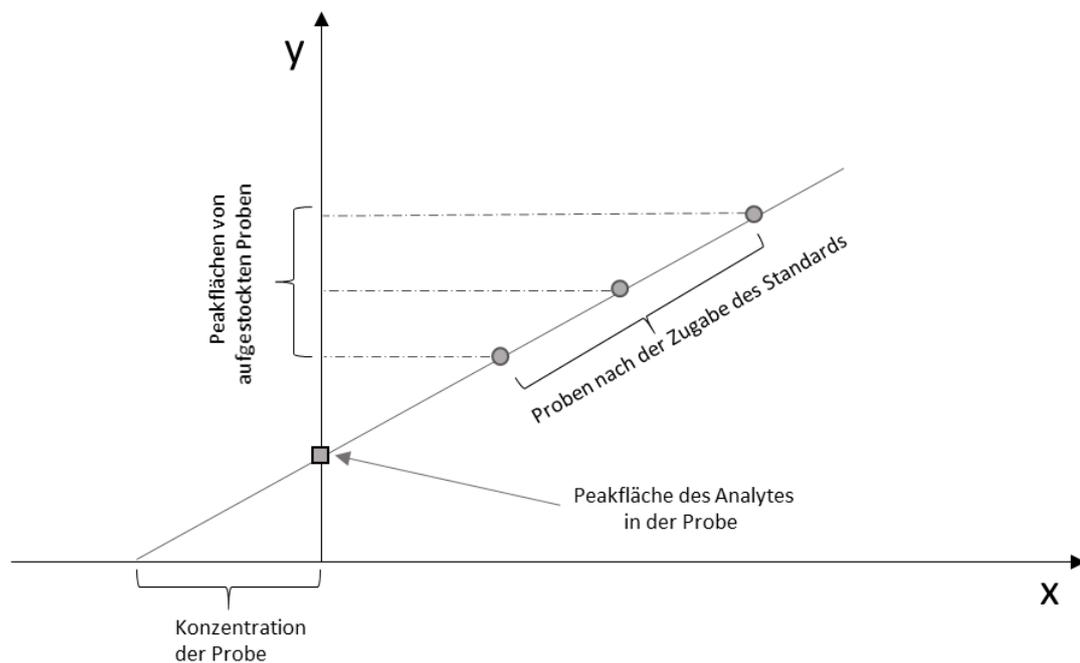


Abbildung 7 Schematische Darstellung des Standard-Additionsverfahrens [Quelle: eigene Darstellung].

Bei der Anwendung dieser Methode müssen folgende Voraussetzungen erfüllt werden [157]:

- ein lineares Ansprechverhalten der eingesetzten Analysenmethode für den untersuchten Analyten im gesamten untersuchten Konzentrationsbereich
- die Verlässlichkeit der zugesetzten Analytkonzentrationen
- die Homogenität des Untersuchungsmaterials

Für die quantitative Analyse wird die zu untersuchende Probe mehrfach geteilt. Ein Teil des Extraktes wird direkt gemessen, andere werden zu verschiedenen Konzentrationen mit Standard-Lösung aufgestockt. Nach der Messung wird die Auswertung der Ergebnisse in folgenden Schritten durchgeführt:

- 1) Die Peakflächen der Blindprobe, der Analyseprobe und mindestens zwei aufgestockten Proben werden integriert.
- 2) Von den Peakflächen jeder Probe werden die Peakflächen der Blindprobe abgezogen.
- 3) Die Bestimmtheitsmaß der Kalibriergerade wird überprüft (>0.98), der Achsenabschnitt und die Steigung der Kalibriergerade werden berechnet.
- 4) Die Konzentration der Analyseprobe wird mit folgender Gleichung (F.10) berechnet:

$$y_{a+s} = a * x_s + b$$

$$a = \frac{y_{a+s} - b}{x_s}$$

wenn $x_s = 0 \Rightarrow y_a = b$

$$y_a = b = a * x_a$$

$$x_a = \frac{b}{a} \quad (\text{F.10})$$

a – Steigung der Kalibriergerade

b – Achsenabschnitt der Kalibriergerade aus den Additionsschritten

y – Peakfläche (Signal)

x – Konzentration

Index s – addierter Analyt als Standard (mehrfach)

Index a – Analyt in der Probe

In vorliegender Arbeit wurden sowohl Kalibrationsmethode als auch Standard-Additionsverfahren zur Quantifizierung von PFCA verwendet. Kapitel 6 und Kapitel 7 beinhalten Entwicklung und Optimierung der Derivatisierungs- und Extraktionsmethoden für die GC-MS Analyse von Perfluorcarbonsäuren. Eine schematische Darstellung dieser Arbeit befindet sich in Abbildung 8.

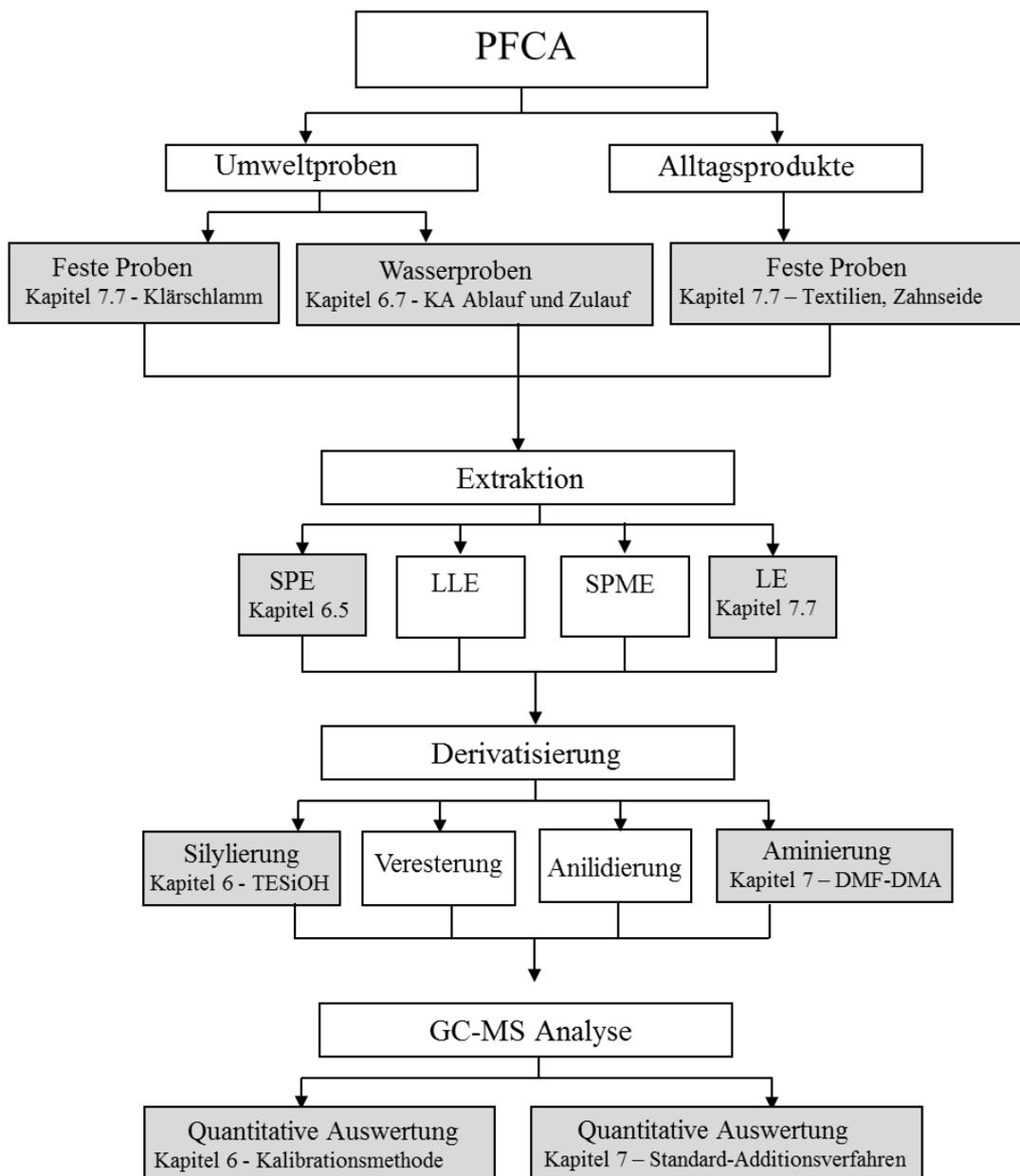


Abbildung 8 Schematische Darstellung der Methodenentwicklung zur Untersuchung von PFCA.

5. Ziel der Arbeit

Ziel dieser Doktorarbeit ist es, neue, kostengünstige und einfache Derivatisierungsmethoden, für die GC-MS-Analyse von Perfluorcarbonsäuren, in verschiedenen Proben zu entwickeln. Diese Methoden sollen eine Alternative und Ergänzung für die klassischen LC-MS/MS Methoden darstellen. Die bisher veröffentlichten Derivatisierungsmethoden sind meistens sehr zeitaufwändig und/oder benötigen toxischen Reagenzien. Daher besteht eine wichtige Anforderung dieser Forschung darin, die gängigen Derivatisierungsmittel zu ersetzen, sowie neue einfache Reaktionen zu finden, mit denen PFCA mittels GC-MS messbar gemacht werden können.

Eine weitere Voraussetzung ist die Anwendung neuer Derivatisierungsmethoden sowohl für wässrige, als auch für feste Proben. Die Derivatisierungsreaktionen sind oft wasserempfindlich, was zu Problemen bei der Probenvorbereitung führt. Aus diesem Grund, soll eine neuentwickelte Reaktion für wässrige Proben in Wasser stattfinden. Dies ermöglicht es, die Proben direkt *in situ* oder (nach der SPE) in einem wässrigen Medium zu derivatisieren. Darüber hinaus sollte die Probenvorbereitung möglichst einfach sein. Dazu ist es erforderlich das klassische SPE-Verfahren für die Anwendung in einem Labor anzupassen, welches nicht speziell für die Analyse von Umweltproben ausgestattet ist. Die neu entwickelten Methoden sollen einfach in andere Laboratorien transferiert und angepasst werden können.

Für feste Proben, welche mit einem organischen Lösungsmittel extrahiert werden, soll eine weitere Derivatisierungsreaktion erarbeitet werden. Diese soll vorzugsweise mit einem nicht-toxischen Reagenz in einem organischen Lösungsmittel stattfinden. Weiterhin soll die Anzahl der Probenvorbereitungsschritte möglichst minimiert und optimiert werden, da eine komplexe und zeitaufwändige Derivatisierung einen großen Nachteil der meisten bisher veröffentlichten Methoden für die GC-MS darstellt.

Als mögliche Derivatisierungsreagenzien sollen Dimethylformamid-dialkylacetale getestet werden. Da die Reaktion dieser Verbindungen mit Perfluorcarbonsäuren bisher nicht untersucht wurde, soll zusätzlich die Struktur des Produktes dieser Reaktion identifiziert werden.

Des Weiteren soll eine Derivatisierungsreaktion mit einem dieser Dimethylformamid-dialkylacetale optimiert werden. Nach der Optimierung soll diese Methode für Analyse von PFCA in festen Proben anwendbar sein. Da die Reaktion im

Probenextrakt erfolgt, soll erklärt werden, wie effizient die Methode zur Bestimmung von PFCA in unterschiedlichen Matrices tatsächlich ist.

Bisher ist LC-MS/MS für die Bestimmung von PFCA die Methode der Wahl. Das Hauptziel dieser Arbeit ist es, für GC-MS die Tür zur Routineanalytik von PFCA zu öffnen.

6. Entwicklung einer Methode zur Derivatisierung von PFCA mit Silanolen.

Im Jahr 2010 haben Musijowski et al. eine Methode zur Bestimmung des gesamten organischen Fluors (engl. *Total Organic Fluorine*, TOF) präsentiert [158]. In dieser Methode wurde ein Fluorid-Anion mit Triphenylsilanol (TPSiOH) zu Triphenylfluorosilan umgesetzt (Abbildung 9).

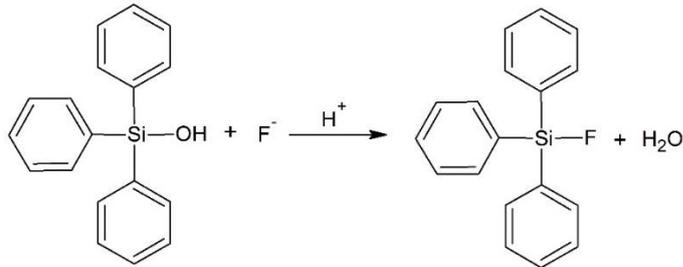


Abbildung 9 Ein Schema der Reaktion von Triphenylsilanol mit Fluorid.

Die Struktur der PFOA mit 15 Fluoratomen in einer Kohlenstoffkette lässt vermuten, dass diese Reaktion auf ähnliche Weise auch mit dieser Verbindung stattfinden wird. Die pKs Werte von Perfluorcarbonsäuren sind so niedrig, dass sie in Wasser fast vollständig als Anionen vorliegen [18]. Deswegen sollte in dieser Reaktion das Anion der Perfluoroktansäure mit Triphenylsilanol einen Triphenylsilylester bilden, welcher dann mittels HPLC-UV nachweisbar ist. Der Mechanismus ähnelt dem der Umesterung unter sauren Bedingungen (Abbildung 10).

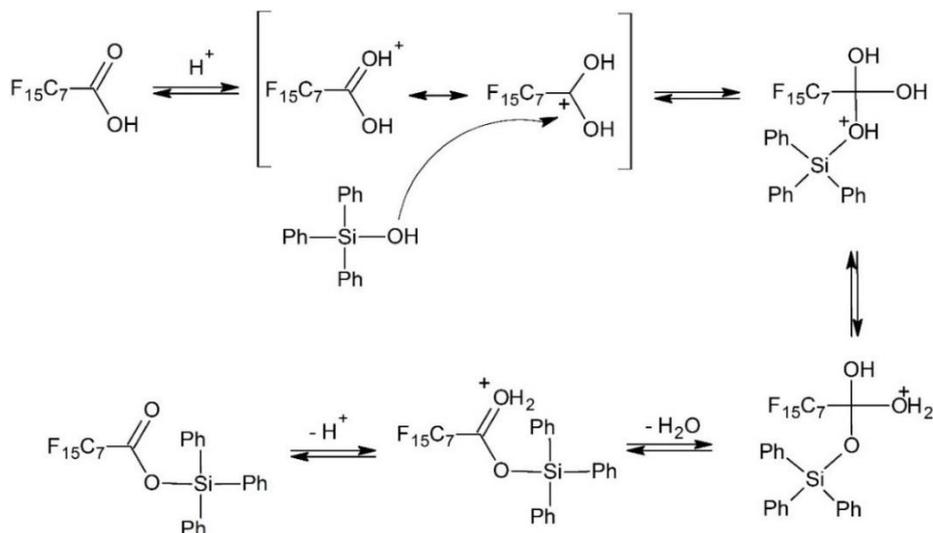


Abbildung 10 Mechanismus einer Reaktion von Triphenylsilanol mit PFOA unter sauren Bedingungen (eigene Darstellung nach [159]).

Um diese Hypothese zu bestätigen, wurde eine Reaktion von Perfluoroktansäure mit Triphenylsilanol durchgeführt. Zu diesem Zweck wurde PFOA in Wasser gelöst und, wie im Punkt 9.5 beschrieben, mit TPsiOH derivatisiert. Die Konzentration der PFOA betrug 100 µg/ml (0.24 mM). Zur Analyse des Reaktionsproduktes wurde ein HPLC-UV System verwendet (siehe Punkt 9.13).

Bei der HPLC-UV Messung, mit einer Wellenlänge von 222 nm, war die Perfluoroktansäure in dieser Konzentration nicht nachweisbar. Ein Triphenylsilylester dieser Säure, absorbiert jedoch die Strahlung im UV-Bereich und sollte auf dem Chromatogramm sichtbar sein. In Abbildung 11 ist ein HPLC-Chromatogramm dargestellt. Ein Peak mit der Retentionszeit von 13.83 Minuten entspricht dem Ester der Perfluoroktansäure. Dieser Peak wurde auf dem Chromatogramm der Blindprobe nicht gefunden. Dies deutet darauf hin, dass eine Reaktion stattgefunden hat, bei der die PFOA zu Triphenylsilylester umgesetzt wurde. Im Vergleich zu der Gaschromatographie war die Empfindlichkeit der Methode sehr niedrig. Aus diesem Grund wurde die Methode für HPLC-UV nicht weiterentwickelt.

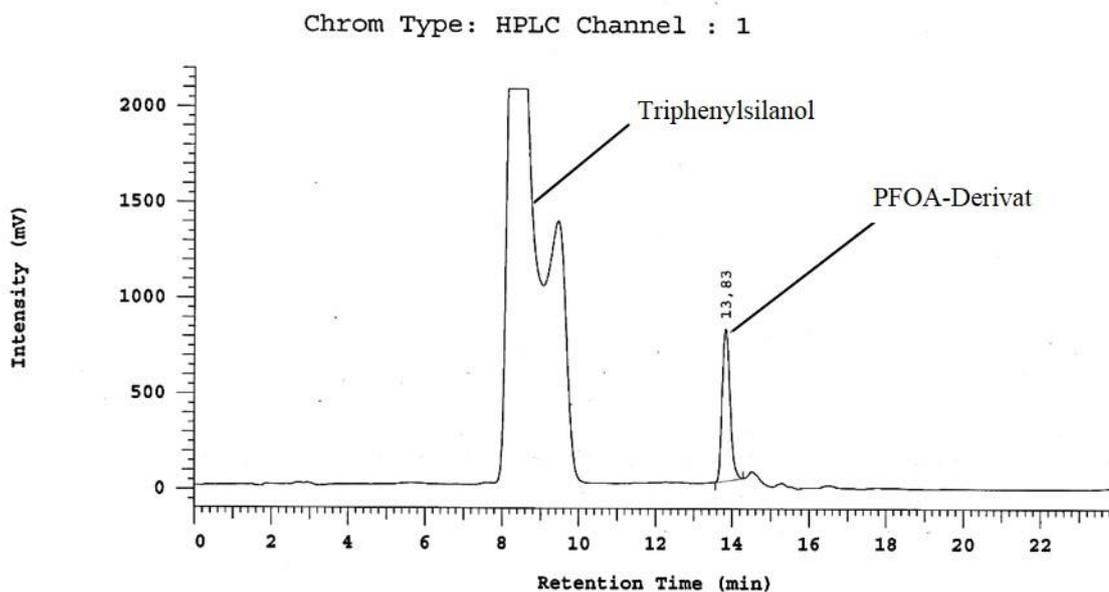


Abbildung 11 HPLC-UV Chromatogramm nach der Reaktion von PFOA mit TPsiOH.

Die Gaschromatographie mit massenspektrometrischer Detektion, bietet eine bessere Empfindlichkeit und Trennleistung als HPLC-UV Systeme und kann für solche Analysen verwendet werden. Die Triphenylsilylgruppe ist jedoch mit einer molaren Masse von 275 u relativ groß, wodurch die Produkte der Reaktion mit langkettigen Analyten (zum Beispiel PFDoDA) schwerflüchtig und somit nicht für GC-Analyse geeignet sind. Die Reaktionen von Fluorid mit verschiedenen Silanol-

Verbindungen, sowie die Bestimmung mittels GC, wurden bereits in den sechziger Jahren beschrieben [160,161]. Die Reaktion mit Trialkylsilanolen, die eine kleinere Molekülmasse besitzen, sollte in ähnlicher Weise, wie die Reaktion mit Triphenylsilanol, erfolgen.

Um mehr flüchtige Derivate zu bilden, wurde im nächsten Schritt eine Reaktion der PFOA mit Trimethylsilanol durchgeführt. Das Reaktionsprodukt wurde mittels GC-MS analysiert. Nach der Durchführung der Reaktion (siehe 9.5) wurde ein PFOA-TMS Ester auf dem Chromatogramm mit der Retentionszeit von 10.72 Minuten gefunden. Abbildung 12 zeigt das aufgenommene Massenspektrum des PFOA-TMS Derivates.

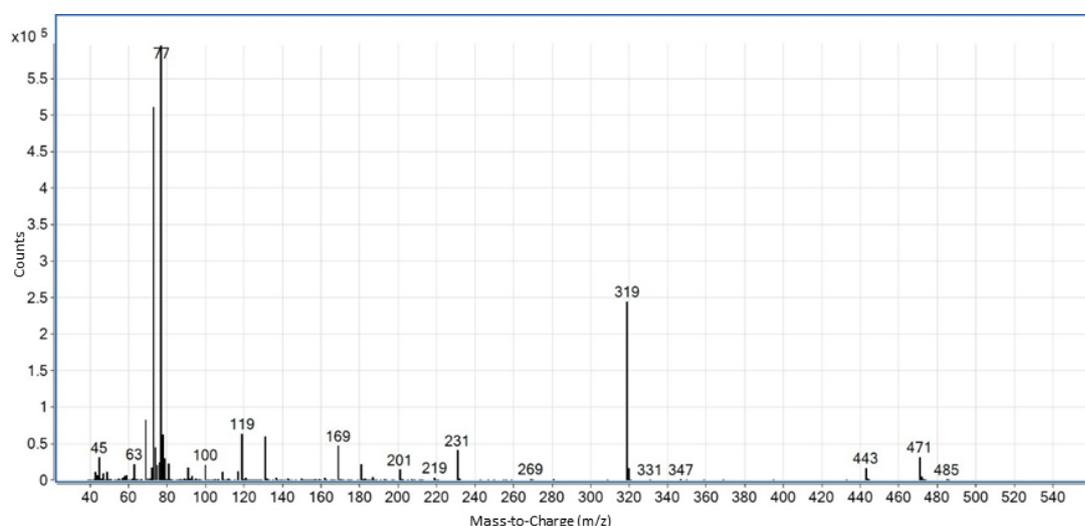


Abbildung 12 Massenspektrum des PFOA-TMS Derivates.

In Abbildung 13 wurden die wichtigsten Fragment-Ionen des PFOA-TMS-Derivates dargestellt. Es konnte kein Molekül-Ion (m/z 486) nachgewiesen werden. Das Ion $[M-H]^+$ von einer derivatisierten PFOA (m/z 485), war jedoch im Spektrum sichtbar. Typische Fragmentierungen der perfluorierten Kette [124,162], beispielsweise Fragment-Ionen bei m/z 69, 119, 169, 231 und 319, konnten im Spektrum nachgewiesen werden.

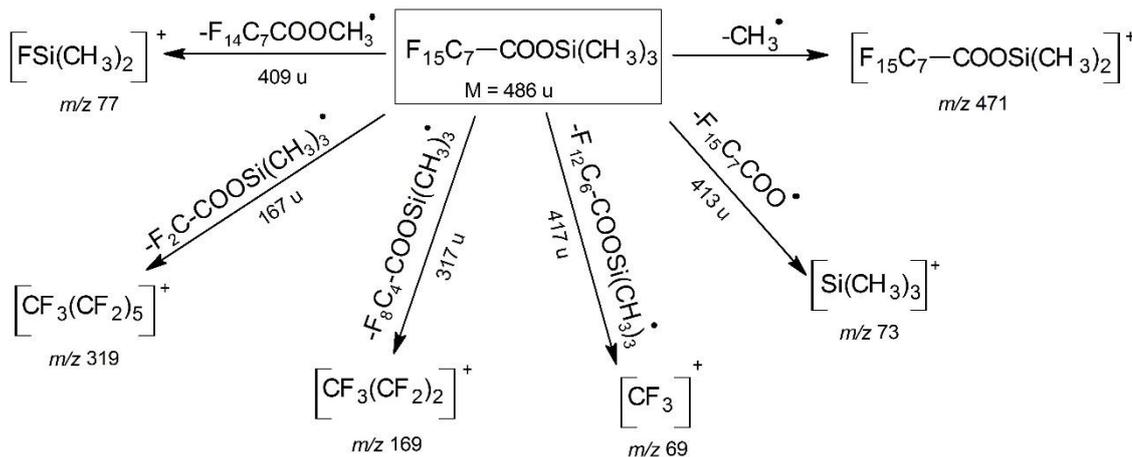


Abbildung 13 Fragmentierung des PFOA-TMS-Derivates (nach [92]).

Außer PFOA wurden auch die anderen Perfluorcarbonsäuren, mit Kettenlängen von vier bis neun Kohlenstoffatomen, mit TMSiOH derivatisiert. Nur die Perfluorcarbonsäuren mit Kettenlängen größer fünf Kohlenstoffatomen konnten auf dem Chromatogramm beobachtet werden. Die Retentionen der Derivatisierungsprodukte der Perfluorcarbonsäuren mit drei und vier Kohlenstoffatomen waren zu gering, sodass diese Verbindungen zusammen oder kurz nach dem Lösungsmittel eluiert haben (Abbildung 14).

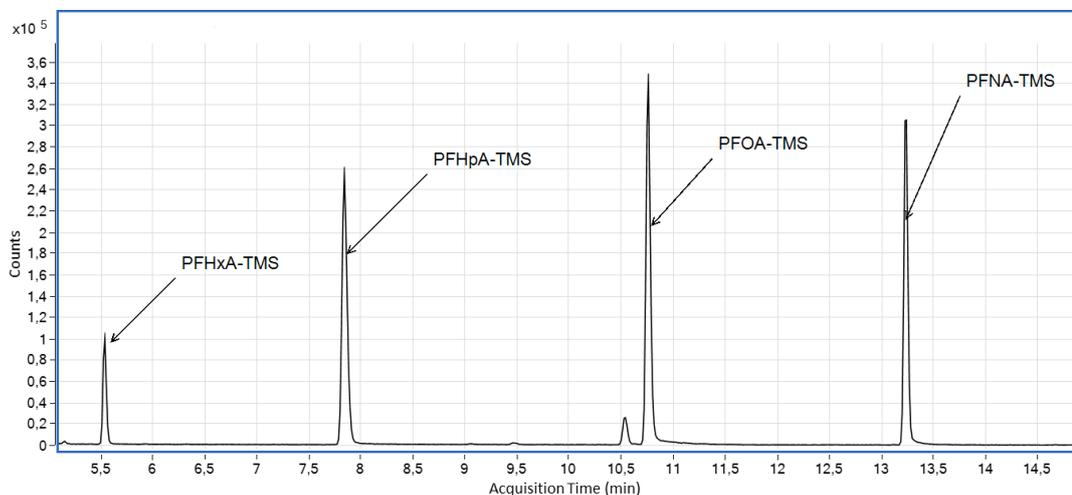


Abbildung 14 GC-MS Chromatogramm mit PFCA-TMS Ester im SIM Modus (m/z 77).

Aufgrund der sehr niedrigen Konzentrationen von PFCA in Gewässern, ist die Empfindlichkeit bei der Entwicklung einer Messmethode ein entscheidender Faktor. Im nächsten Teil des Experiments wurde die Festphasenextraktion in Kombination mit einer TMS-Derivatisierung getestet, um die Empfindlichkeit der Methode zu bestimmen. Zu diesem Zweck wurde ein Liter Reinstwasser mit PFOA aufgestockt.

Die Festphasenextraktion wurde nach einem modifizierten Macherey-Nagel Verfahren Nr. 305820 [163] durchgeführt (siehe 9.12.1). Anschließend wurde die Probe mit TMSiOH derivatisiert (siehe 9.5).

Mit dieser Methode konnte PFOA bei einer Konzentration von 1 µg/l nachgewiesen werden (Abbildung 15). Die Messung wurde im SIM-Modus durchgeführt. Zur Quantifizierung wurde ein Ion bei m/z 77 ausgewählt. Im Vergleich mit anderen, in der Literatur beschriebenen Methoden (Kapitel 3), bei welchen die Nachweisgrenzen im niedrigen Nanogramm pro Liter Bereich lagen, war diese Methode zum Nachweis von PFCA, nicht empfindlich genug.

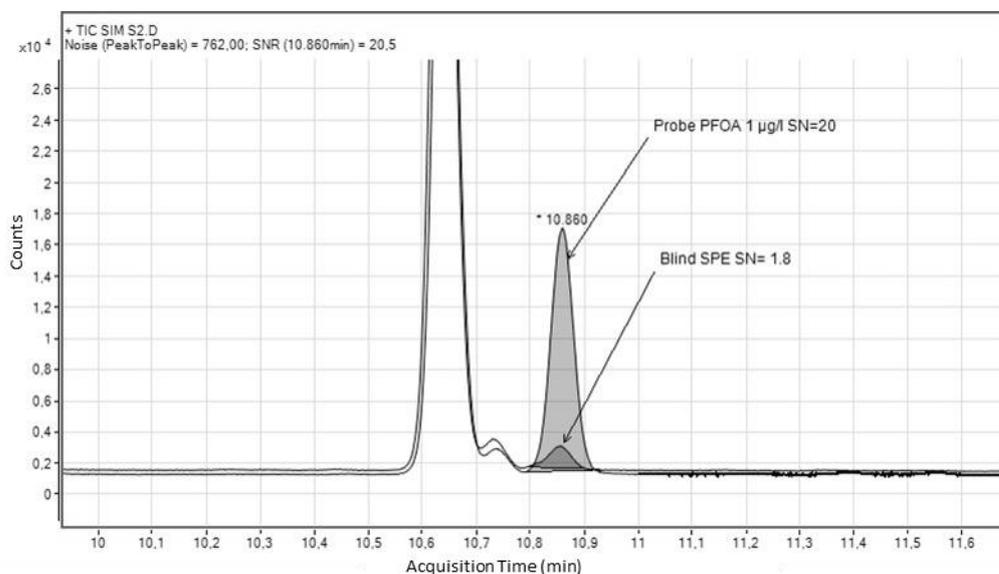


Abbildung 15 PFOA bei der Konzentration von 1 µg/l nach der SPE und Derivatisierung.

Dies führt dazu, dass bei dieser analytischen Methode noch Verbesserungspotenzial besteht. Die Retentionszeiten der Analyten sollten verlängert werden, um die kurzkettigen PFCA (C3-C5) auf dem Chromatogramm erfassen zu können. Dazu kann ein Derivatisierungsmittel verwendet werden, das größere Alkylgruppen in seiner Struktur enthält. Außerdem sollten größere Fragment-Ionen zur Quantifizierung im SIM Modus verwendet werden, da ein Ion bei m/z 77 ein relativ hohes Rauschen der Basislinie verursacht. Zusätzlich muss die Festphasenextraktion optimiert und an die Derivatisierungsreaktion angepasst werden. Da die Reaktion unter sauren Bedingungen stattfindet, kann die Elution mit Ammoniumhydroxid einen negativen Einfluss auf die Ausbeute haben. Bei der Reaktion sollen die Bedingungen, wie Extraktionszeit und Konzentration der Säure, angepasst werden. Auch die

Messparameter und Injektionsbedingungen des GC-MS Systems können dazu führen, dass die erzielten Nachweisgrenzen wesentlich niedriger werden.

Um längere Retentionszeiten zu erreichen und somit auch kurzkettinge Perfluorcarbonsäuren zu erfassen, wurde im nächsten Schritt Triethylsilanol (TESiOH) als Derivatisierungsmittel verwendet. Zu diesem Zweck wurden 3 ml einer wässrigen Lösung, mit zehn Perfluorcarbonsäuren (PFPrA – PFDoDA je 100 µg/ml) vorbereitet und mit 250 µl 5M H₂SO₄ in einem Eppendorf Safe-Lock Gefäß gemischt. Danach wurde eine Triethylsilanol-Lösung (20 mg in 2 ml Heptan, 0.08 mM) zugegeben und die Probe anschließend 30 Minuten geschüttelt. Im Anschluss wurde die organische Phase in das GC-MS System injiziert. Für alle zehn Analyten konnten auf dem Chromatogramm die entsprechenden Peaks den Derivaten zugeordnet werden (Abbildung 16).

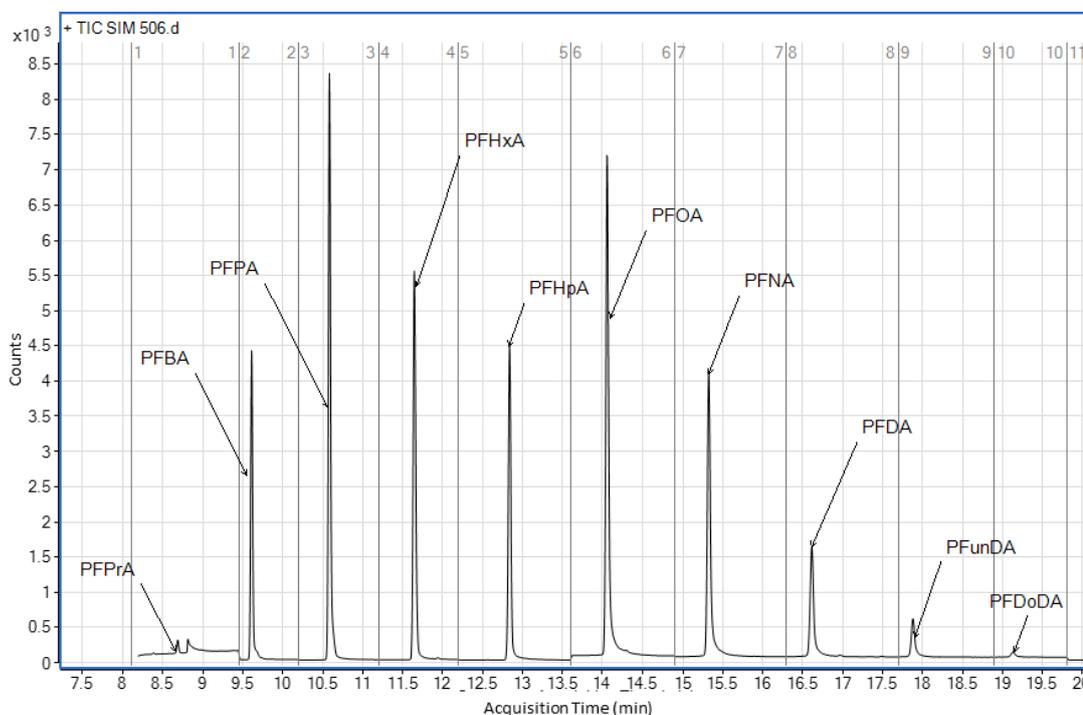


Abbildung 16 Ein extrahiertes Ionenchromatogramm eines PFCA Gemisches mit Kettenlängen C3-C12 nach der Derivatisierung mit TESI₂OH.

Die vollständige Trennung von allen PFCA erfolgte in 19.5 Minuten. Nach der Reaktion mit TESI₂OH zeigten die PFCA-Derivate entsprechend längere Retentionszeiten, als nach der Reaktion mit TMSiOH. Daher ist es möglich, auch die Derivate von kurzkettingen PFCA auf dem Chromatogramm (PFPrA, PFBA und PFPA) nachzuweisen (Abbildung 16). Nach der Derivatisierung mit TMSiOH, war es nicht möglich sie zu detektieren, da diese kurzkettinge PFCA zusammen mit dem

Lösungsmittel eluierten. Im Vergleich mit der TMSiOH Methode, konnten mit der TESiOH Methode mehr PFCA in einer Analyse erfasst werden. Dies führte dazu, dass für die weitere Methodenoptimierung TESiOH als Derivatisierungsmittel ausgewählt wurde.

6.1. Untersuchung der TESiOH Derivatisierungsreaktion

In einem weiteren Schritt wurden die Massenspektren von PFCA-TES Derivaten mittels GC-MS-EI aufgenommen und analysiert (siehe 9.14.1). Die Interpretation des Spektrums war notwendig, um die richtigen Fragment-Ionen zur quantitativen Analyse auszuwählen. Außerdem sollten die EI-Spektren, die Identifizierung der Analyten ermöglichen. Alle Derivate zeigten ähnliche Fragmentierungsmuster: Die Fragment-Ionen von verschiedenen PFCA-Homologen unterschieden sich um $\Delta(m/z) = 50$, dass der Masse einer CF_2 Gruppe entspricht. Das Massenspektrum des PFOA-TES Derivates und die wichtigsten Fragment-Ionen des PFOA-TES-Derivates befinden sich in Abbildung 17 und Abbildung 18.

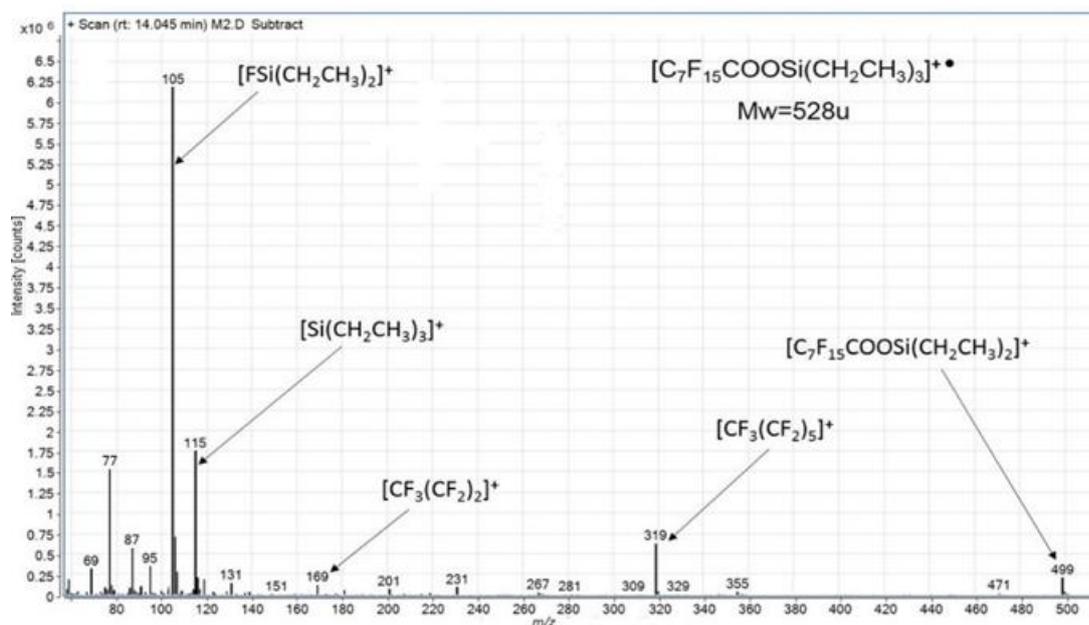


Abbildung 17 Das Massenspektrum der PFOA-TES Derivates [164].

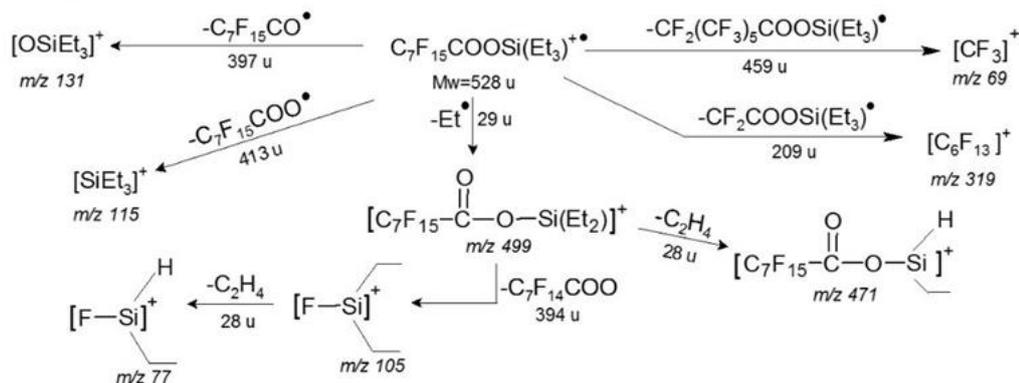
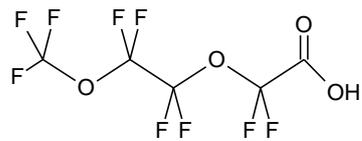
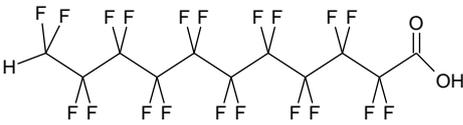
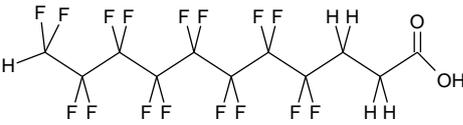
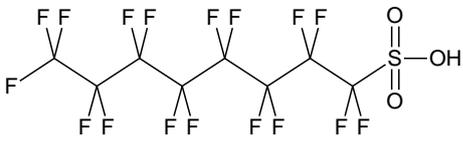
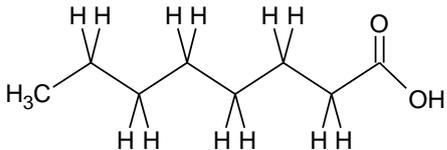


Abbildung 18 Die Fragmentierung des PFOA-TES-Derivates [164].

Weder ein Molekül-Ion bei m/z 528 noch ein $[M-H]^+$ -Ion bei m/z 527 konnten gefunden werden. Für PFBA-Triethylsilylester, wurde jedoch ein $[M-H]^+$ -Ion bei m/z 327 detektiert. Vermutlich wurden die Molekül-Ionen von größeren PFCA, durch den Verlust einer Ethylgruppe zu schnell fragmentiert. Dieses Phänomen ist in der Massenspektrometrie bekannt. Wenn die Primärfragmente noch genügend Energie haben, können diese weiter zerfallen. Somit finden in der Ionenquelle Konkurrenz- und Folgereaktionen statt [145]. Das erste Signal im Spektrum wurde bei m/z 499 gefunden, was dem Verlust einer Ethylgruppe entspricht. Das Hauptfragment-Ion im Spektrum war ein Peak bei m/z 105. Dieses Fragment-Ion konnte als $[F-Si(Et)_2]^+$ identifiziert werden. Ein Signal bei m/z 77 entstand durch den Verlust von C_2H_4 . Ein Fragment-Ion bei m/z 115 konnte einem Triethylsilyl-Ion zugeordnet werden. Das EI-Massenspektrum des PFOA-TES-Derivates folgte einem ähnlichen Muster, welches für andere PFCA-Derivate mit charakteristischen Perfluoralkylfragmenten, beispielweise $[CF_3]^+$ (m/z 69) und $[C_3F_5]^+$ (m/z 131), bereits in der Literatur beschrieben wurde [85,92,123].

Um den Einfluss der Struktur des Analyten auf die Reaktion zu untersuchen, wurden verschiedene Säuren mit TESiOH derivatisiert (siehe 9.6). Zu den untersuchten Verbindungen gehören vier Carbonsäuren und eine Perfluorsulfonsäure. Die Alkylkette der Carbonsäuren enthält sowohl Fluor- als auch Wasserstoffatome in unterschiedlichen Kombinationen. Die Namen, Strukturen und CAS Nummern wurden in Tabelle 5 zusammengefasst. Die Anzahl der Produkte der Derivatisierungsreaktionen und deren Massenspektren wurden miteinander verglichen.

Tabelle 5 Säuren für welchen TESiOH als Derivatisierungsmittel getestet wurde.

Nr.	Name	CAS	Struktur
1	Nonafluoro-3,6-dioxaheptansäure (NFHA)	151772-58-6	
2	11H-Perfluorundekansäure (1HUnDA)	1765-48-6	
3	2H,2H,3H,3H-Perfluorundekansäure (2HUnDA)	34598-33-9	
4	Perfluoroktansulfonsäure (PFOS)	1763-23-1	
5	Oktansäure	124-07-2	

Trotz relativ hoher Konzentrationen (100 µg/ml) wurden keine Produkte der Derivatisierung für PFOS gefunden. Die Derivate von NFHA und 1HUnDA wurden als Peaks mit Retentionszeiten von 10.3 und 20.9 Minuten gefunden. Bei beiden dieser Derivate wurden für die Triethylsilylierung charakteristische Signale bei m/z 77, 105 und 115 beobachtet (Abbildung 19). Ähnlich wie bei anderen linearen PFCA-TES Derivaten (Abbildung 17 und Abbildung 22), waren im Bereich über m/z 180 nur wenige Fragment-Ionen sichtbar. Auf Basis dieser Spektren wäre es unmöglich, die genauen Strukturen dieser Verbindungen zu identifizieren. Es konnte jedoch erkannt werden, dass die untersuchten Verbindungen Carboxylgruppen enthielten, die zu Triethylsilylestern derivatisiert wurden. Außerdem konnte mithilfe der charakteristischen Ionen, eine lineare, perfluorierte Kohlenstoffkette erkannt werden. In diesem Fall wurden bei 1HUnDA Fragment-Ionen bei m/z 131, 169, 231, 319 gefunden, die bei NFHA nicht sichtbar waren. Bei NFHA hat das Signal bei m/z 69 darauf hingewiesen, dass die Struktur eine CF_3 Gruppe enthielt. Dieses Signal konnte bei 1HUnDA nicht detektiert werden, da diese Verbindung keine CF_3 Gruppe enthielt.

In beiden Fällen konnten auch die Massen der Derivate bestimmen werden, da die Signale für $[M-Et]^+$ sichtbar waren (m/z 381 bei NFHA und m/z 631 bei 1HUnDA). Diese Erkenntnisse beinhalten erhebliche Hinweise zur Strukturaufklärung.

Die Verbindung 2HUnDA, bei der zwei CH_2 Gruppen direkt mit der Carboxylgruppe verbunden sind, zeigte zwei Peaks auf dem Chromatogramm: ein TES-Derivat und eine nicht umgesetzte Säure. Die Peakfläche der Säure war 15-mal größer, als die Peakfläche des Derivates. Auch in diesem Spektrum war das Fragment-Ion $[M-Et]^+$ bei m/z 577 sichtbar (Abbildung 19).

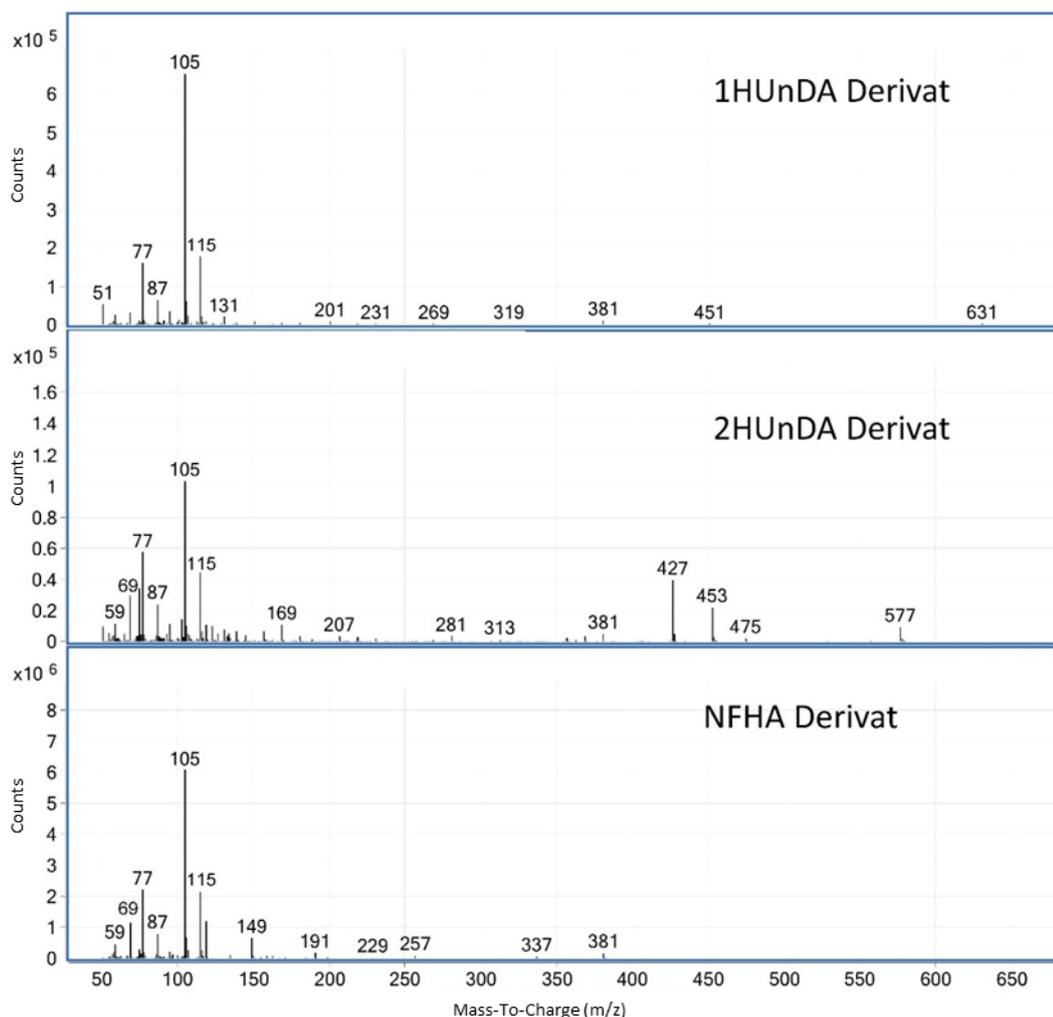


Abbildung 19 Massenspektren von drei Produkten nach der Derivatisierung: 11H-Perfluorundekansäure (HFunDA), 2H,2H,3H,3H-Perfluorundekansäure (2HunDA) und Nonafluoro-3,6-dioxaheptansäure (NFHA) mit TESiOH.

In Abbildung 20 werden zwei Chromatogramme gezeigt: eine Blindprobe und eine Probe, mit einem Gemisch von PFOA und Oktansäure, nach der Derivatisierung mit TESiOH. Während PFOA nur ein Produkt gebildet hat, zeigte Oktansäure (ähnlich wie 2HUnDA) zwei Signale auf dem Chromatogramm.

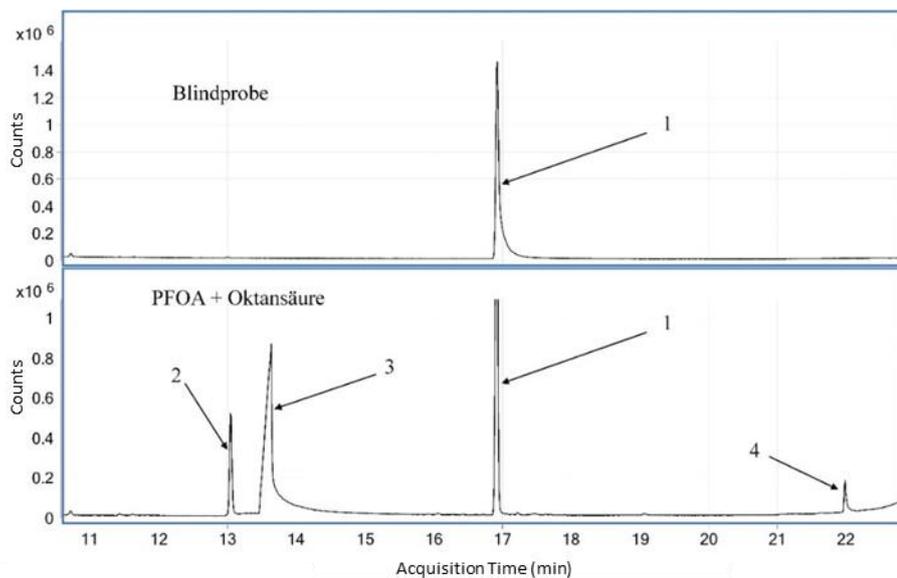


Abbildung 20 Chromatogramme der Blindprobe und einer Probe nach der Derivatisierung von PFOA und Oktansäure mit TESiOH.

Der Peak Nr. 1 wurde als Hexaethyldisiloxan, ein Nebenprodukt der Reaktion, identifiziert. Peak Nr. 2 entspricht dem PFOA-TES Derivat und Peak Nr. 3 ist das Resultat nicht umgesetzter Oktansäure. Der letzte Peak bei der 22. Minute ist ein Triethylsilylderivat der Oktansäure. Dieses Ergebnis zeigt deutlich, dass zwar Oktansäure auch den Triethylsilyester in dieser Reaktion bildet, dieser jedoch nur teilweise umgesetzt wird. Die Reaktivität der Verbindung ist wesentlich höher, wenn ein Substituent am Alpha-C-Atom der Carboxylsäure einen negativen induktiven Effekt verursacht. Ein Substituent, der einen negativen induktiven Effekt auf die Carboxylgruppe hat, ist die CF_2 Gruppe. Je näher eine solche elektronegative Gruppe an der $COOH$ -Gruppe liegt, desto effizienter ist die Derivatisierung. Der Wasserstoff am Ende der perfluorierten Kette, hat hingegen keinen Einfluss auf die Reaktion (1HUnDA). Anders ist es, wenn sich der Wasserstoff direkt am Alpha-C-Atom befindet, dadurch ist die Umsetzung des Analyten unvollständig. Darüber hinaus ist die Reaktion selektiv für Carbonsäuren, sodass eine Bestimmung von Perfluorsulfonsäuren mit dieser Methode nicht möglich ist.

Einer der Hauptvorteile der GC, im Vergleich mit den klassischen LC Systemen, ist ihre hohe Trennleistung, die diese Analysenmethode auch für PFCA-Isomeren anwendbar macht. Um eine gute Trennleistung zu beweisen, wurde ein Gemisch aus linearen PFNA (n-PFNA) und ihrem verzweigten Isomer (*iso*-PFNA) derivatisiert und gemessen (Abbildung 21). Beide Verbindungen zeigten ähnliche Retentionszeiten, die bei 15.39 und 15.65 Minuten für n-PFNA bzw. *iso*-PFNA lagen. Eine sehr gute

Trennung der Peaks wurde ohne zusätzliche Optimierung des Temperaturprogramms erreicht (Abbildung 21). Darüber hinaus waren die Spektren von *n*-PFNA und *iso*-PFNA ähnlich genug, um diese Verbindungen leicht als Isomere zu identifizieren (Abbildung 22).

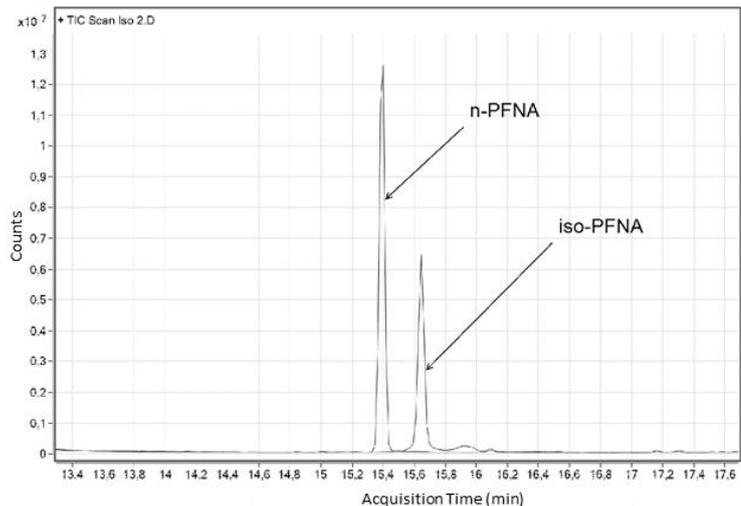


Abbildung 21 GC-MS Chromatogramm mit *n*-PFNA und *iso*-PFNA TES-Derivaten.

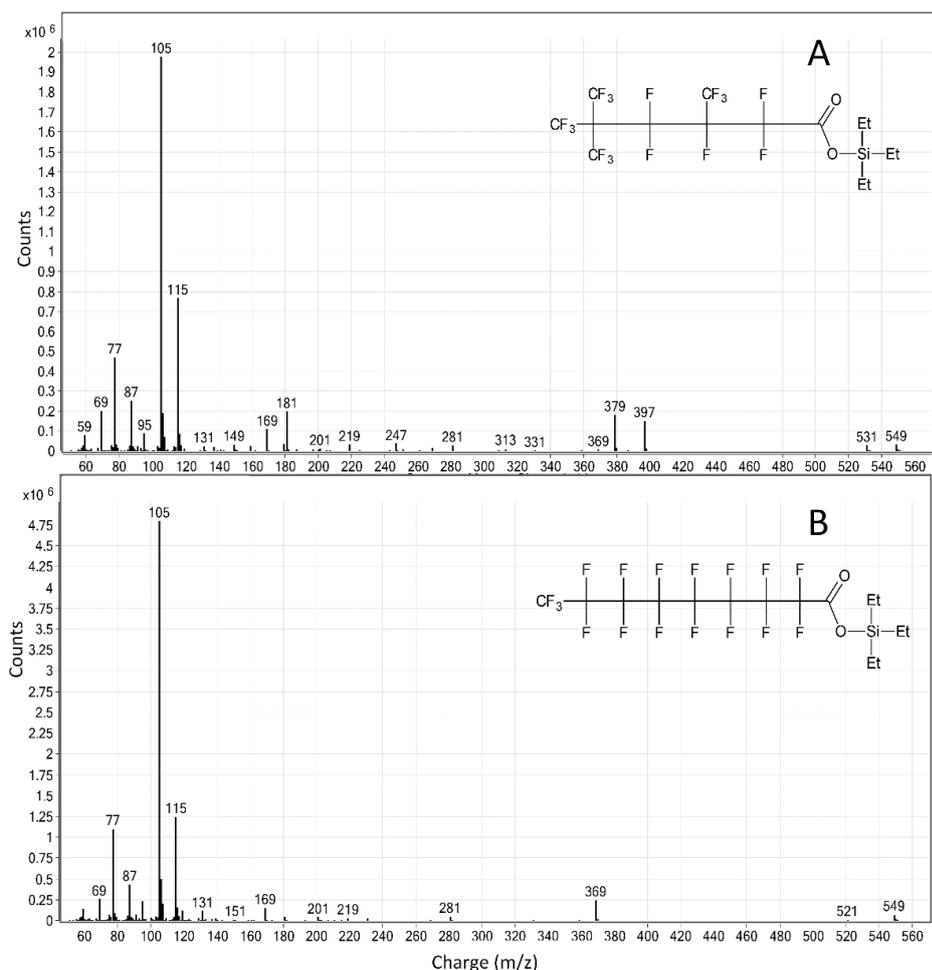


Abbildung 22 Fragmentierung des PFNA-Isomers und Massenspektrenvergleich für *iso*-PFNA (A) und *n*-PFNA (B) [164].

Die Ionen, die durch die Fragmentierung der Triethylsilylgruppe entstehen (m/z 77, 105, 115, 131), waren für beide Isomere identisch. Darüber hinaus ähnelte das allgemeine Fragmentierungsmuster stark anderen PFCA (Abbildung 18). Das Fragmentierungsmuster für *iso*-PFNA befindet sich in Abbildung 23. Obwohl das Molekül-Ion $M^{+\bullet}$ im Spektrum nicht sichtbar war, wurde das Fragment-Ion $[M-Et]^+$ (m/z 549) in den Massenspektren beider Verbindungen nachgewiesen und konnte zur Identifizierung von PFCA-Isomeren verwendet werden. Beide Verbindungen zeigten ähnliche Fragmentierungsmuster, dennoch konnten für verzweigte PFNA einige zusätzliche Fragment-Ionen (zum Beispiel m/z 397 und m/z 379) gefunden werden.

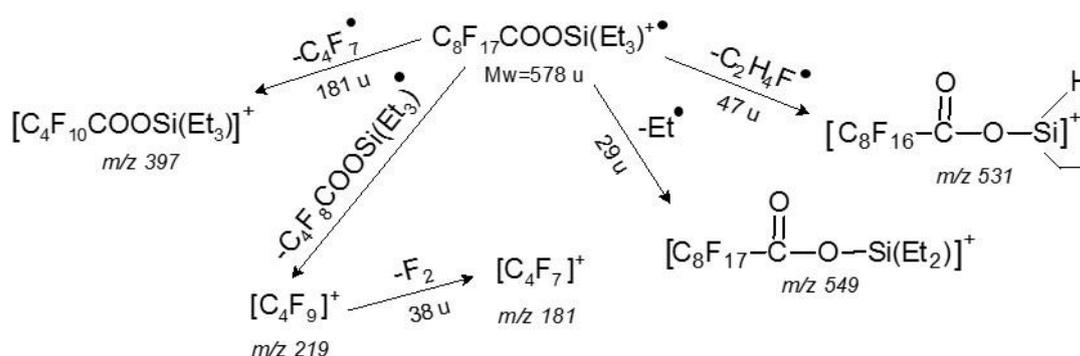


Abbildung 23 Die Fragmentierung des verzweigten PFNA-Derivats.

Für die Durchführung der Non-Target Analyse, sollen zuerst die Peaks mit ähnlichen Retentionszeiten auf dem Chromatogramm gesucht werden. Im nächsten Schritt, sollen die Massenspektren von nah beieinander liegenden Peaks verglichen werden. Als Isomere können die PFCA identifiziert werden, die das gleiche $[M-Et]^+$ Fragment-Ion aufweisen. Darüber hinaus, sollen die verzweigten Isomere zusätzliche Ionen bilden, die im Spektrum von linearen PFCA nicht zu finden sind. Diese Eigenschaft weist auf unterschiedliche Abspaltungen von Fragmenten der Perfluoroalkylkette hin. Anschließend soll die Struktur des Isomers aufgezeichnet werden und die Fragmentierung von den PFCA Ionen, insbesondere von den zusätzlichen Fragment-Ionen der verzweigten PFC-Kette, überprüft werden. Um die Spektren von linearen PFCA und deren Isomeren in einer Probe zu unterscheiden, die mindestens 10 ng des Isomers enthält, kann die Messung im TIC Modus verwendet werden. Auf diese Weise ist es möglich, eine Non-Target-Analyse der Probe durchzuführen. Diese GC-MS Methode zur Trennung von PFCA Isomeren hat einige Vorteile gegenüber anderen veröffentlichten Methoden. De Silva et al. haben beispielweise PFCA mit 2,4-Difluoroanilin derivatisiert, jedoch benötigte diese

Reaktion, eine sehr aufwändige Probenvorbereitung [128]. Darüber hinaus erfolgte die Trennung von PFOA Isomeren erst zwischen 87. und 99. Minute auf dem Chromatogramm. Noch längere Temperaturprogramme haben Naile et al. verwendet, mit Retentionszeiten bis zu 340 Minuten für PFDoDA [90]. Ein weiterer Nachteil bei Naile et al., war die Verwendung eines toxischen Derivatisierungsreagenz (Diazomethan), dessen Einsatz es, als eines der Ziele dieser Arbeit, zu vermeiden gilt. Aufgrund der aufgeführten Nachteile (aufwendige Probenvorbereitung, lange Retentionszeiten und die Verwendung toxischer Derivatisierungsreagenzien), stellt die einfache und schnelle Derivatisierung mit Triethylsilanol, eine gute Alternative zu den derzeit beschriebenen Methoden dar.

Für viele Analyten kann die Negativ-Ionen-Chemische Ionisation (NCI) die Empfindlichkeit der Messung wesentlich verbessern. Aus diesem Grund wurden PFOA-Derivate nach der Reaktion mit TMSiOH und TESiOH mittels GC-MS-NCI analysiert (9.14.3). Zuerst wurde die NCI-Analyse für PFOA nach der Derivatisierung mit TMSiOH durchgeführt. Für diese Messung wurde Methan als Reagenzgas verwendet. Es konnte beobachtet werden, dass die Empfindlichkeit des Geräts schon nach wenigen Messungen stark abgefallen ist, was durch die Beschädigung des Filaments verursacht wurde. Aus diesem Grund wurde für zukünftige Messungen Ammoniak anstelle von Methan als Reagenzgas verwendet. Trotz verschiedener Reagenzgase führte das Aussehen der Spektren von PFOA-TES und PFOA-TMS zu einem ähnlichen Erscheinungsbild (Abbildung 24).

In beiden Spektren konnte das gleiche Hauptfragment-Ion mit m/z 394 beobachtet werden. Dieses Fragment-Ion entstand durch den Verlust von Fluorwasserstoffsäure (HF) aus der PFOA. Diese Verbindung konnte auch als Ursache für die Beschädigung des Filaments verantwortlich gemacht werden [84]. Das größte Fragment-Ion im PFOA-TMS Spektrum wurde bei m/z 413 beobachtet. Das gleiche Ion konnte auch im Spektrum von PFOA-TES gefunden werden und entstand durch Abspaltung von Wasserstoff aus dem PFOA Molekül $[\text{PFOA-H}]^-$. Auch die typischen Fragment-Ionen für perfluorierte Kohlenstoffketten (m/z 169, 231, 319, 331 und 369), konnten in beiden Spektren beobachtet werden [85,92,123]. Für PFOA-TES waren zwei Fragment-Ionen größer als m/z 413 zu finden. Eine Eliminierung von F_2 und einer Ethylgruppe, führten zu einem Ion bei m/z 449 $[\text{C}_7\text{F}_{13}\text{COOSi}(\text{Et}_2)]^-$. In analoger Weise, durch den Verlust des F_2 Moleküls und einer Methylgruppe, entstand ein Ion bei m/z 475.

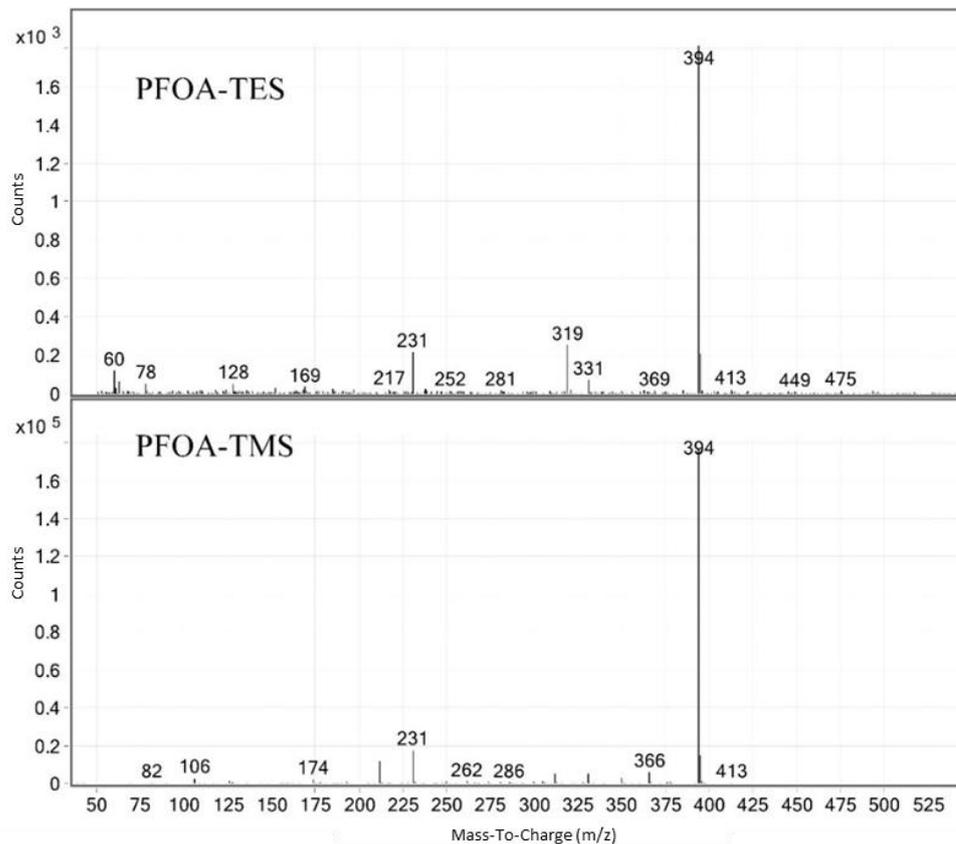


Abbildung 24 NCI Massenspektren von PFOA nach der Derivatisierung mit TESI₃OH (oben) und TMSi₃OH (unten).

In mehreren Publikationen wurde die Anwendung von GC-MS-NCI zur PFCA Analyse beschrieben (Tabelle 2). In diesem Experiment hat sich die NCI-Analyse für PFCA-Triethylsilyl-derivate als nicht optimal herausgestellt. Trotz der Substitution der Reagenzgase, war die Empfindlichkeit des Geräts nicht besser, als die Empfindlichkeit des GC-MS-EI Systems. Zudem war die Anwendung des NCI-System, sehr viel aufwändiger, als der Umgang mit dem GC-MS-EI System. Grund dafür, war die Verwendung von Reagenzgasen, die zusätzliche Vorbereitungsschritte verursacht haben. Der Bedarf an Tuning des Geräts war für NCI viel häufiger, als für ein klassisches GC-MS-EI System. Eines der Hauptziele dieser Arbeit war es, eine Methode zu entwickeln, die einfach in alle anderen Labore transferiert werden kann. In diesem Fall bietet das NCI-System keine Vorteile für die Messmethode, da es nicht zu der Grundausstattung in einem analytischen Labor gehört und zudem keine bessere Empfindlichkeit aufweist. Aus diesem Grund wurde die Methodenoptimierung für das GC-MS-NCI nicht weitergeführt.

Um mögliche Probleme dieser Methode beim Umgang mit realen Proben schnell zu erkennen, wurden mehrere Wasserproben aus dem Region Baden-Baden

untersucht. Die zu untersuchende Proben wurden vom 27.11.2017 bis zum 10.12.2017 (14 Tage) jeweils um 12:00 Uhr aus einem Brunnen entnommen. Die Festphasenextraktion wurde nach den Angaben des Herstellers durchgeführt [163]. Die HR-XAW Kartuschen (Macherey Nagel) wurden mit 2 ml 0.1 % Methanol in Wasser, 2 ml Wasser und anschließend mit 2 ml MeOH konditioniert. Die Kartuschen wurden auf der Vakuumkammer platziert und die Proben durch den Polyethylen-Schlauch zu der SPE-Phase geleitet. Der Durchlauf von 1.5 Liter wässrigen Proben dauerte 120 Minuten. Danach wurde die Phase mit Wasser, 1 % Ameisensäure und Methanol gewaschen. Anschließend wurden die Analyten aus der Phase mit 0.1 % NH₄OH in Methanol eluiert. Vor der Derivatisierung wurde der Extrakt abgedampft und mit 0.5 ml Wasser und 0.1 ml 1 M H₂SO₄ gemischt. Im Anschluss wurde die Probe in ein 5 ml Gefäß übertragen, wo es mit 0.25 ml TESiOH in Heptan (0.15 M) für 30 Minuten ausgeschüttelt wurde. Die obere Phase wurde danach in das GC-MS System injiziert.

Vor der Optimierung der Methode lagen die Nachweisgrenzen im niedrigen µg/l Bereich. Die Kalibration mit PFCA-Standardlösung wurde im Bereich von 0.1-1.5 µg/l durchgeführt. Die Ergebnisse haben gezeigt, dass das Brunnenwasser eine hohe Belastung mit PFCA aufwies. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6 Ergebnisse der PFCA-Analyse von Brunnenwasserproben, 14 Tage Test.

Probe	PFPrA	PFBA	PFPA	PFHxA	PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA
27.11*	<1	0.45	0.99	0.90	0.60	1.34	0.50	0.53	<0.8	<1.5
28.11	<1	0.59	1.91	1.64	0.85	2.35	0.49	ND	ND	ND
29.11	<1	0.59	1.92	1.66	0.86	2.57	0.49	ND	ND	ND
30.11	<1	0.64	2.46	2.16	1.12	3.73	0.50	ND	ND	ND
1.12	<1	0.60	1.95	1.71	0.93	2.80	0.49	ND	ND	ND
2.12	<1	0.61	2.14	1.89	1.16	2.94	0.49	ND	ND	ND
3.12	<1	0.59	1.93	1.68	0.89	2.60	0.49	ND	ND	ND
4.12	<1	0.69	2.85	2.53	1.26	4.62	0.50	ND	ND	ND
5.12	<1	0.60	2.09	1.83	0.96	2.78	0.49	ND	ND	ND
6.12	<1	0.61	2.16	1.86	0.98	2.84	0.49	ND	ND	ND
7.12	<1	0.55	1.77	1.56	0.82	2.23	0.49	ND	ND	ND
8.12	<1	0.51	1.56	1.37	0.80	2.18	0.49	ND	ND	ND
9.12	<1	0.63	2.19	1.96	1.82	3.13	0.50	ND	ND	ND
10.12	<1	0.59	2.09	1.85	1.04	2.86	0.49	ND	ND	ND

* Die erste Probe hat nach der SPE anders ausgesehen: der Extrakt war gelb. Die Probe wurde aus größerer Tiefe dem Brunnen entnommen und enthält deswegen mehr Feststoffe.

** ND – nicht gefunden

In Tabelle 7, wurden die durchschnittlichen Werte für die 14 Tagesmessungen und die Bestimmungsgrenzen der PFCA dargestellt. Daraus geht hervor, dass PFOA die höchsten Konzentrationen in allen Proben aufweist. Allerdings kommen auch PFPA, PFHxA und PFHpA im Brunnenwasser in hohen Konzentrationen vor. Diese Ergebnisse haben gezeigt, dass das Problem der Wasserverunreinigung in der Region Baden-Baden immer noch aktuell ist. Die Ergebnisse müssen jedoch kritisch betrachtet werden, da die Methode vor der Messung nicht validiert wurde. Diese Untersuchung diente ausschließlich der Erkennung möglicher Herausforderungen bei der PFCA-Analyse von realen Proben.

Tabelle 7 Durchschnittliche Konzentrationen von PFCA in Brunnenwasser und deren Bestimmungsgrenze.

	Durchschnittliche Konzentration [µg/l]	BSG [µg/l]
PFPrA	<BSG	1
PFBA	0.59	0.3
PFPA	2	0.1
PFHxA	1.76	0.05
PFHpA	1.01	0.05
PFOA	2.55	0.05
PFNA	0.49	0.2
PFDA	ND	0.5
PFUnDA	ND	0.8
PFDoDA	ND	1.5

In Abbildung 25 sind zwei Chromatogramme gezeigt: eine Messung der Probe vom 01.12.2017 und eine Standardlösung in Konzentration von 0.5 µg/l. Es ist einfach zu erkennen, welche PFCA in großen Konzentrationen in der Probe vorkommen.

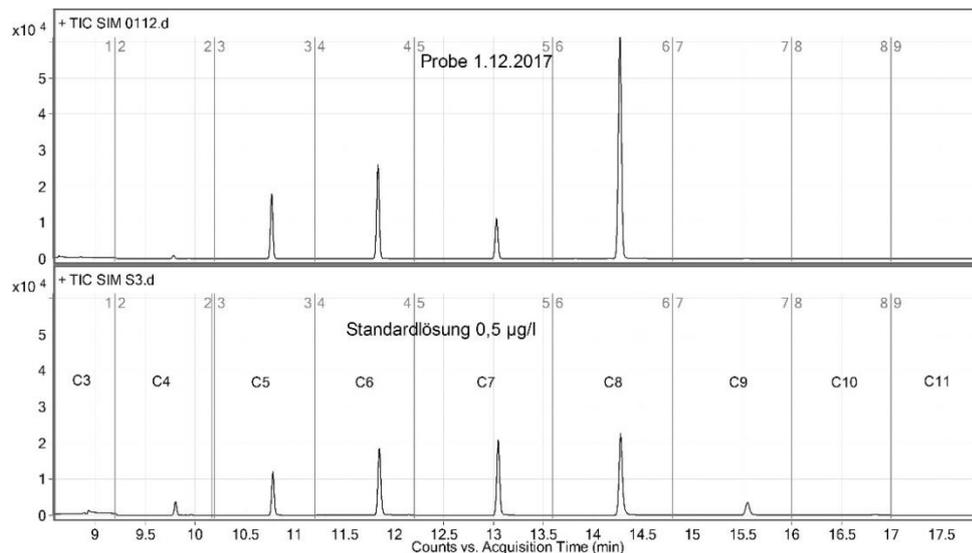


Abbildung 25 Chromatogramme einer Brunnenwasserprobe und Standardlösung in einer Konzentration von 0.5 µg/l.

Aus diesem Experiment wurden mehrere wichtige Erkenntnisse gewonnen. Es wurde festgestellt, dass die festen Partikel die Kartuschen verstopfen, wodurch die wässrige Standard-Lösung schneller als die Probe durch die Kartusche fließt. Dies kann zu wesentlichen Unterschieden in der Adsorption der Analyten führen. Außerdem dauerte die klassische SPE sehr lange und musste ständig überwacht werden. Aufgrund eines kleinen Volumens der Vakuumkammer, musste das Wasser, das durch die SPE-Kartuschen fließt, öfters aus der Kammer entfernt werden. Dafür war es nötig die Pumpe auszuschalten, die Kammer zu öffnen und das Wasser alle 10 bis 15 Minuten aus der Kammer zu entfernen. Darüber hinaus konnte nicht ausgeschlossen werden, dass das Abdampfen des Extraktes teilweise zum Verlust von Analyten geführt hat. Daher sollte das Eluent so angepasst werden, dass das Abdampfen vor der Derivatisierung zukünftig nicht mehr nötig ist. Außerdem wurde in Proben, die mehr Feststoffe enthalten, mehr langkettige PFCA nachgewiesen. Das deutet darauf hin, dass die kurzkettigen PFCA (welche wasserlöslicher sind) im Wasser verbleiben, wohingegen sich die langkettigen PFCA besser auf Bodenpartikeln adsorbieren [23 bis 25]. Darüber hinaus sind die Bestimmungsgrenzen dieser Methode zu hoch, sodass Optimierungen der Extraktion, Derivatisierung, der Injektions- und Messbedingungen erforderlich sind.

6.2. Optimierung der Derivatisierung mit TESiOH für PFCA

Die Reaktion mit TESiOH erfolgt in wässriger Phase, die kontinuierlich mit organischem Lösungsmittel ausgeschüttelt wird. Dieser Prozess wurde solange

durchgeführt, bis sich ein Gleichgewicht zwischen wässriger und organischer Phase eingestellt hat. Um eine optimale Reaktionszeit zu finden, wurden unterschiedliche Zeiten von 5, 15, 30, 60 und 90 Minuten untersucht. Die Peakintensitäten nach 5 Minuten der Reaktionszeit waren wesentlich kleiner als nach 15 Minuten. Es gab keinen Unterschied zwischen den Proben, die 15, 30 und 60 Minuten ausgeschüttelt wurden. Die Peakflächen waren nach 90 Minuten Ausschütteln wesentlich niedriger. Die optimierte Reaktionszeit von 30 Minuten wurde für weitere Messungen herausgearbeitet und festgelegt.

Im nächsten Schritt wurde ein minimales Volumen einer organischen Phase bestimmt. Für die Derivatisierung wird eine wässrige Probe, die PFCA enthält, mit Triethylsilanol und Heptan ausgeschüttelt. Die Menge der organischen Phase (Heptan) sollte dabei so klein wie möglich sein, um die Konzentration der Analyten im Extrakt zu erhöhen und somit die bestmöglichen Bestimmungsgrenzen zu erreichen. Das minimale Volumen der organischen Phase, bei dem nach der Extraktion mindestens 150 µl des Extraktes gewonnen werden konnte, betrug 250 µl. Ein Volumen von 150 µl war ausreichend, um die GC Mikrovgefäße zu füllen und die korrekte Injektion der Probe zu sichern.

Um eine optimale Konzentration der Säure zu finden, wurde zu den Proben 0.05-2 mM H₂SO₄ gegeben. Die Menge der zugefügten Säure hatte einen starken Einfluss auf die Reaktion; dies betraf besonders die kurzkettigen PFCA (Abbildung 26). Dieser Einfluss könnte durch niedrige pK_a Werte der kurzkettigen PFCA verursacht werden. Die angegebenen pK_a Werte für PFPrA-PFHxA liegen im Bereich von 0.16-0.92 [18]. Das Absenken des pH-Werts der Proben hat die Geschwindigkeit der Silylierungsreaktion erhöht. Für PFHpA-PFDoDA, hatte die Säurekonzentration hingegen keinen entscheidenden Einfluss. Die Peakflächen für PFHxA – PFDoDA in der höchsten Säurekonzentration lagen jedoch deutlich unter dem Durchschnittsergebnis. In Abbildung 26 ist dies für PFOA und PFDoDA ersichtlich. Dabei kommt es zum Absenken der Kurve, bei der Erhöhung der Säurekonzentration von 1 mM auf 2 mM. Es konnte ein Phänomen der Aggregation und Bildung von Säuredimeren langkettiger PFCA beobachtet werden. Die Chromatogramme für Proben mit unterschiedlichen Säuremengen, hatten auch unterschiedliche Peakhöhenverhältnisse. Die Wasserlöslichkeit für kurzkettige PFCA ist höher, als die für langkettige PFCA und ihre Extraktionseffizienz, war daher entsprechend geringer. Die Peakflächen der kurzkettigen PFCA waren jedoch immer noch höher, als für

langkettige PFCA. Die PFBA-Peakfläche stieg von 200 auf 5500 Counts. Die PFOA-Flächen lagen im Bereich von 5000 bis 6000 Counts, während die von PFDoDA deutlich niedriger im Bereich von etwa 100 Counts waren. Dies wurde teilweise durch höhere Siedepunkte der langkettigen Derivate verursacht. Möglicherweise steht auch die Reaktivität dieser Verbindungen in Zusammenhang mit ihrer Polarität. Im weiteren Kapitel wird gezeigt, dass die niedrigen Peakintensitäten von PFPrA und PFDoDA, höhere Bestimmungsgrenzen verursachen. Für andere PFCA hatte die Signalintensität keinen Einfluss auf die Bestimmungsgrenzen, da die PFCA mit den intensivsten Signalen auch mit intensivsten Signalen in den Blindproben einhergingen. Für weitere Messungen wurde deshalb die optimierte Säuremenge von 1.25 mM festgelegt.

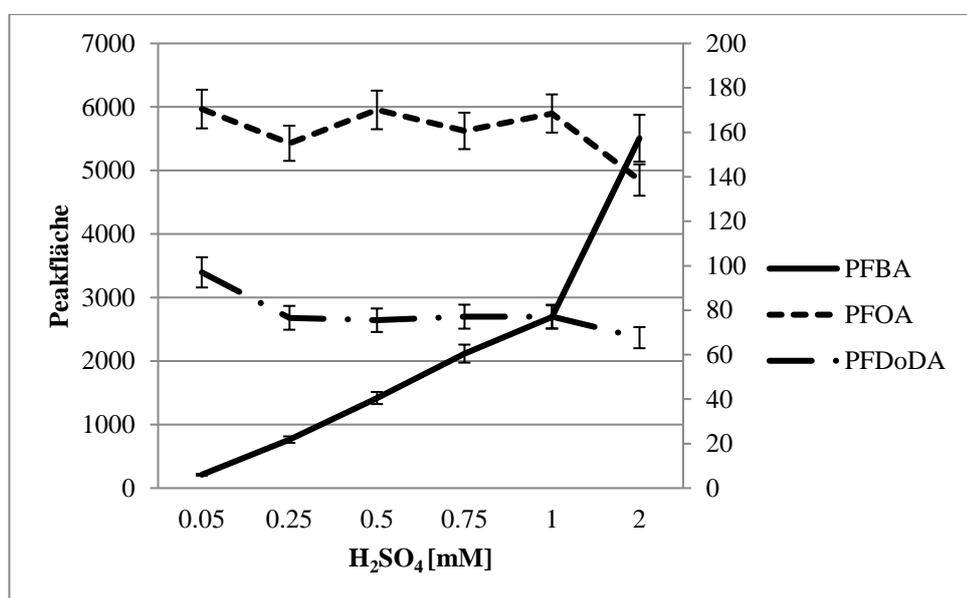


Abbildung 26 Einfluss der zugegebenen Säure auf die Peakflächen von PFBA, PFOA und PFDoDA [164].

Durch die relativ hohe Säurekonzentration wurde der pH-Wert der Probe auf ~1 herabgesetzt. Bei einer Reaktion im niedrigen pH-Bereich und der Extraktion des Analyten mit einem organischen Lösungsmittel sollte die Möglichkeit berücksichtigt werden, dass ein Teil des Wassers in das Extrakt gelangt und damit auch die Säure in das GC-System gelangen kann. Eine Möglichkeit, dieses Problem zu überwinden, besteht darin, die organische Phase nach der Extraktion zusätzlich mit destilliertem Wasser zu waschen. Im nächsten Experiment wurde der Einfluss des Waschens der organischen Phase auf die Peakintensitäten untersucht. Zu diesem Zweck wurden sechs Proben, mit je 50 ng PFCA vorbereitet. Drei Proben wurden direkt nach der Extraktion in das GC-MS injiziert. Die anderen drei Heptan-Extrakte, wurden mit

150 µl destilliertem Wasser gewaschen und danach gemessen. Die Ergebnisse haben gezeigt, dass die Peakintensitäten von PFBA bis PFOA nach dem Waschen, bis zu 50 % kleiner geworden sind (Abbildung 27). Das Waschen des Extraktes hatte keinen Einfluss auf die Peakintensitäten von langkettigen PFCA (C10-C12). Um einen Analytverlust zu vermeiden, wurde das Extrakt nach dem Ausschütteln, ohne weitere Behandlung direkt in das GC injiziert. Nach einjähriger Messung konnten keine negativen Auswirkungen auf MS-Detektor, Filament, Säulen- oder GC-Teile festgestellt werden. Das zeigt deutlich, dass, trotz der hohen H₂SO₄-Konzentration in der Probe, das Extrakt nach der Derivatisierung nicht gewaschen werden muss.

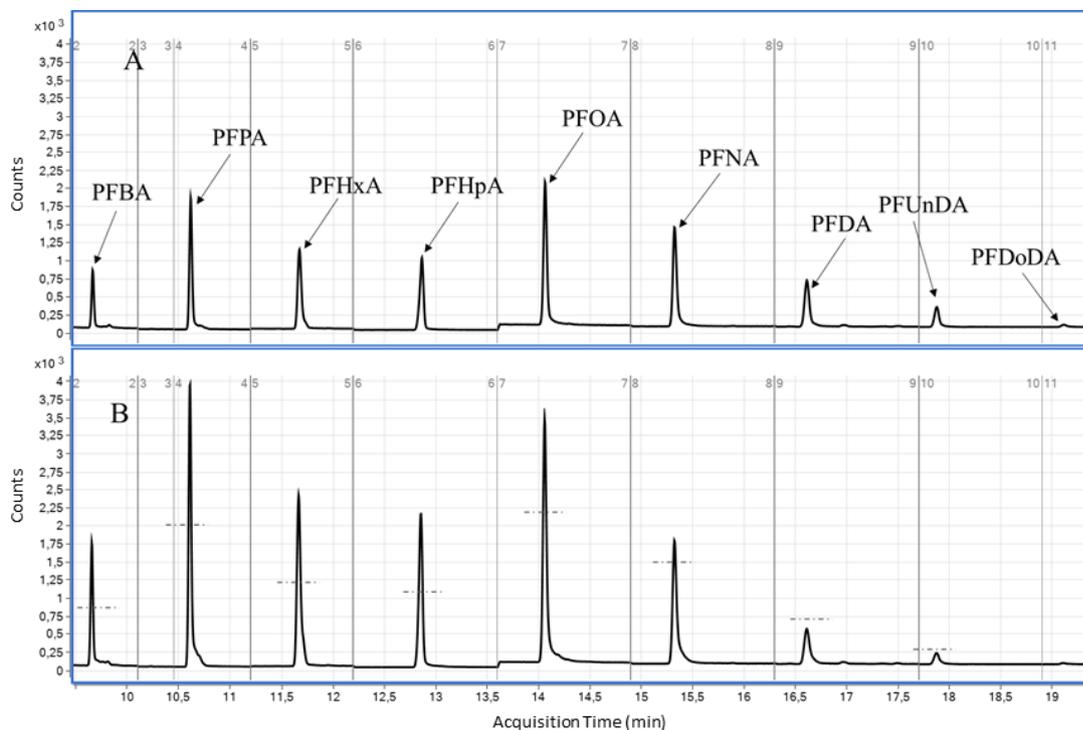


Abbildung 27 Chromatogramme mit PFCA Derivaten nach dem Waschen mit destillieren Wasser (A) und ohne Waschen des Extraktes (B). Die gestrichelten Linien zeigen den Unterschied in Peakhöhen zwischen A und B.

Um das weitere Verfahren in Kombination mit der Festphasenextraktion zu entwickeln, wurde der Einfluss von NaCl-Lösung, NH₄OH und Ethanol auf die Reaktion untersucht. Diese Komponenten sollen zur Elution der Analyten aus einer SPE-Phase dienen. Die Peaks waren nach der Zugabe von 500 µl gesättigter NaCl-Lösung bis zu 100 % höher als zuvor. Das Salz hat dabei die Löslichkeit der Analyten, durch die Erhöhung der Ionenstärke der wässrigen Phase, verringert. Dies führte dazu, dass die Extraktion in der organischen Phase effizienter wurde und die Peakintensitäten höher waren.

Das Vorhandensein von 50 µl einer 0.1 % NH₄OH-Lösung erhöhte zwar den pH-Wert, hatte aber keine negativen Auswirkungen auf die Ergebnisse. In Gegenwart von Ethanol waren die PFCA-Peakflächen deutlich niedriger. Wurden der Probe jedoch nur kleine Volumina (250-500 µl) Ethanol zugesetzt, waren die negativen Auswirkungen vernachlässigbar. Für eine erfolgreiche Elution des Analyten aus der SPE Phase, sollten mindestens 250 µl 0.1 % ethanolischer NH₄OH-Lösung verwendet werden. Zusätzlich kann die SPE-Phase mit gesättigter NaCl-Lösung eluiert werden.

Die NaCl-Lösung dient in der Reaktion dabei als die wässrige Phase, aus der die Analyten mit Heptan extrahiert werden. Aus diesem Grund wurden zwei Proben verglichen: In einer Probe befanden sich die Analyten in destilliertem Wasser und in einer zweiten Probe befanden sich die Analyten in einem Gemisch aus einer gesättigten NaCl-Lösung und einer 0.1 % ethanolischen NH₄OH-Lösung.

Abbildung 28 zeigt zwei Chromatogramme: Das Erste, zeigt PFCA Peaks nach der Reaktion mit TESiOH in 4 ml destilliertem Wasser (A) und das Zweite in 3.5 ml gesättigter NaCl-Lösung nach dem Zugabe von 0.5 ml 0.1 % NH₄OH-Lösung in Ethanol (B). Die Zugabe von NaCl und Ammoniumhydroxid in Ethanol, simulierte die Bedingungen, die bei der Reaktion nach der Elution aus der SPE-Phase auftreten. Dieses Gemisch hatte einen positiven Einfluss auf die Peakflächen von PFPrA bis PFHpA. Für PFOA bis PFDoDA wurde kein Unterschied beobachtet. Diese Beobachtungen haben bestätigt, dass das Verfahren in Kombination mit der Festphasenextraktion zur Quantifizierung des PFCA Gehalts verwendet werden kann.

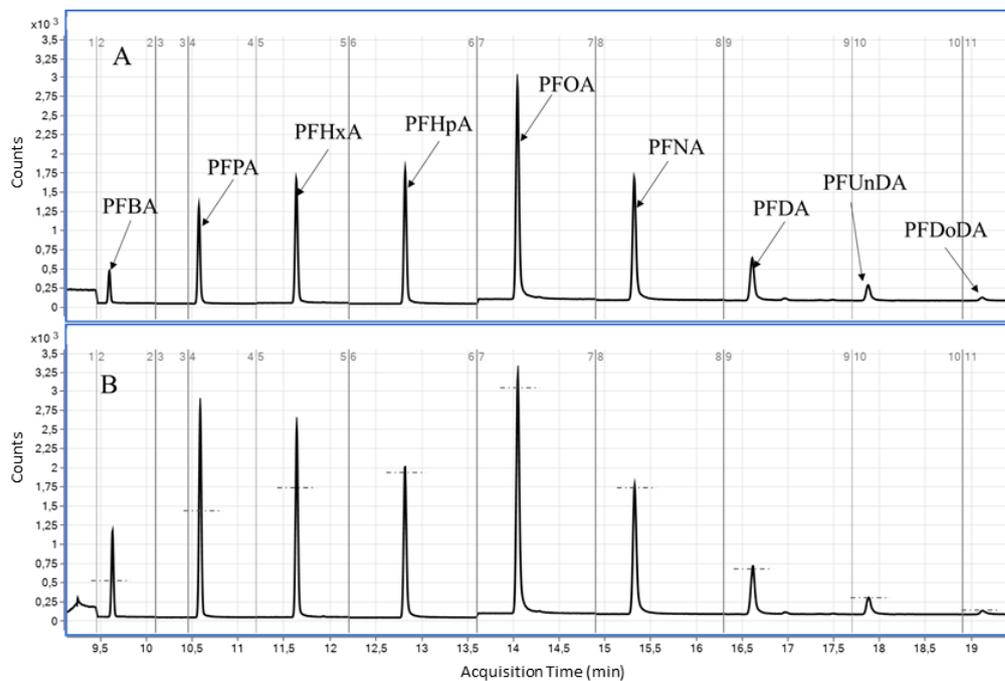


Abbildung 28 Chromatogramme der Reaktion von PFCA mit TESiOH. A: die Reaktion einer Probe in Wasser. B: die Reaktion in Wasser nach der Zugabe von NH_4OH , Salz und Ethanol. Die gestrichelten Linien zeigen den Unterschied in Peakhöhen zwischen A und B.

6.3. Optimierung der Injektions- und Messbedingungen

Um die optimale Injektionstemperatur zu finden, wurden die Proben bei 200 °C, 225 °C, 250 °C, 275 °C und 300 °C in das GC injiziert. Für die zwischen 200 °C und 250 °C injizierten Proben waren die Peakflächen für die meisten Analyten mit steigender Temperatur größer. Ab 250 °C waren die Unterschiede zwischen den Peakflächen nur sehr gering. Aus diesem Grund wurde 250 °C als Temperatur für weitere Versuche ausgewählt.

Zu Beginn der Methodenentwicklung gab es häufig Probleme mit der Verstopfung der Nadel, die zu einer geringen Wiederholbarkeit der Messungen führten. Dieses Problem konnte jedoch durch das Erhöhen der Zahl der Vorgänge, mit der die Spritze vor und nach der Injektion gewaschen wird, leicht gelöst werden. Zehn Waschvorgänge haben sich dabei als optimal herausgestellt. Zwei Medien wurden im Autosampler zum Spülen der Nadel verwendet: das erste Medium ist eine Mischung aus Ethanol mit Toluol (1:1) und das zweite Medium ist Heptan.

Ein weiterer wichtiger Faktor ist die Verwendung eines geeigneten Liners. Typische Liner werden mit Silan-Reagenzien deaktiviert, um Silanolgruppen in Trimethylsilylether umzuwandeln [165]. Daher war die Wiederholbarkeit des

Verfahrens unter Verwendung eines splitlosen Liners nicht zufriedenstellend. Eine der Möglichkeiten besteht darin, dass die Triethylsilylgruppe teilweise durch die Trimethylsilylgruppe in der heißen Injektorkammer ersetzt wurde. Dieses Problem konnte durch Verwendung eines ultra-inerten, spaltfreien Liners ohne Wolle (Agilent, Teile-Nr. 5190-3162) gelöst werden.

Für eine erfolgreiche GC-MS Analyse ist es notwendig, die Parameter des MS-Systems zu optimieren. Im ersten Schritt wurden die Ionen zur quantitativen Bestimmung von PFCA ausgesucht. Zu diesem Zweck wurden Ionen ausgewählt, die zwar nicht die höchste Intensität aufwiesen, jedoch auf Grund ihres optimalen Verhältnisses zwischen Rauschen und Signalstärke geeigneter waren. Für alle PFCA wurde jeweils ein Fragment-Ion $[M-Et]^+$ zur quantitativen Bestimmung verwendet. Beispielsweise für PFOA-TES Derivat (Molmasse 528 u) war das das Fragment-Ion bei m/z 499. Für die PFOA-PFDoDA wurde zusätzlich ein zweites Fragment-Ion $[M-CF_2COOSi(Et)_3]^+$ verwendet. Die Messung des zweiten Ions konnte die Nachweisgrenzen für PFPrA-PFHpA nicht verbessern. Es wurde lediglich ein erhöhtes Rauschen der Basislinie beobachtet. Aus diesem Grund wurde für PFPrA-PFHpA nur ein Ion bei einer quantitativen Analyse gemessen.

Die Verweilzeit (engl. *dwell time*) ist die Dauer, in der jedes m/z -Ionensignal in dem Detektor gesammelt wird. Die Standard-Einstellung in der Agilent MS-Software, beträgt 50 Millisekunden. Dieser Parameter bleibt bei der Methodenoptimierung oft unverändert. In diesem Fall hatte dieser Wert einen signifikanten Einfluss auf die Empfindlichkeit der Methode. Die Umstellung von 50 ms auf 100 ms pro m/z -Ionensignal, hat die PFCA-Peaks wesentlich erhöht (Abbildung 29). Zusätzlich waren auch andere Peaks auf dem Chromatogramm mit 100 ms sichtbar, diese waren jedoch deutlich von den Analyten getrennt und störten nicht bei der Peakintegration.

Das Erhöhen der Verweilzeit hat die Empfindlichkeit verbessert, indem das Signal über einen längeren Zeitraum gemessen wurde. Dies führte jedoch dazu, dass ein Peak aus weniger Messpunkten gebildet wurde. In der Regel benötigen schärfere Peaks kürzere Verweilzeiten für eine ausreichende Messung. In diesem Fall, stellten 100 ms eine maximale mögliche Einstellung dar, um mindestens drei Messpunkte für einen Peak zu erreichen.

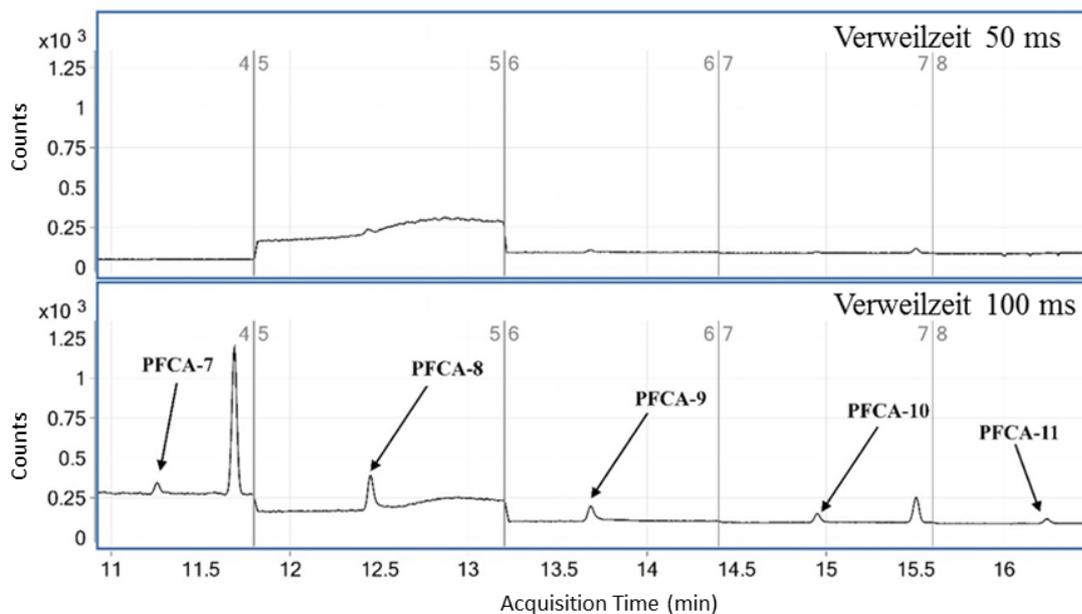


Abbildung 29 Veränderung der Peakflächen von PFCA bei der Umstellung der Verweilzeit von 50 mSek auf 100 mSek.

6.4. Reaktion in größeren Probenvolumen

Um die zusätzlichen Probenvorbereitungsschritte zu vermeiden und trotzdem niedrigere Bestimmungsgrenzen zu erreichen, wurde die Derivatisierungsmethode mit größeren Probenvolumen getestet. Im ersten Schritt wurden 100 ml Flaschen aus Perfluoralkoxy-Polymer (PFA) und Polypropylen (PP) getestet. Für 100 ml Wasserproben wurden folgende Mengen an Reagenzien verwendet: 100 μ l TESI₂O₃, 10 ml H₂SO₄ und 1 ml Heptan. Im Vergleich mit PP-Faschen waren die zwei Phasen (Wasser/Heptan) in PFA-Flaschen besser trennbar. Aus diesem Grund konnte man nach der Reaktion mehr organische Phase gewinnen. Trotzdem wurden nach der Reaktion in beiden Flaschen lediglich Spuren von Analyten gefunden. Die Peakflächen waren bis zu hundert Mal kleiner als bei der optimierten Methode (siehe 9.6) in einem 5 ml PP-Gefäß.

Auch die Nachhaltigkeit der Methode unter Verwendung eines größeren Probenvolumens ist fraglich. Um ein ähnliches Wasser/TESiOH/Heptan-Verhältnis in 250 ml Wasserprobe im Vergleich zu 3.5 ml Probe zu erzielen, sollten ca. 200 μ l TESI₂O₃ und mehr als 25 ml Heptan verwendet werden. Danach müsste das Extrakt angereichert werden. Das Verdampfen jeder einzelnen Probe unter Stickstoff ist ohne spezielles Gerät sehr aufwändig und kann zur Kontamination der Probe oder Verlust des Analyten führen. Darüber hinaus müssten für eine solche Analyse in 250 ml

Flaschen für eine Probe folgende Analysen durchgeführt werden: mindestens eine Blindprobe (250 ml), mindestens 5 Standards (5 x 250 ml) und eine Probe (Doppelbestimmung = 2 x 250 ml). Dies würde dazu führen, dass zwei Liter Wasser mit einer hohen Menge an Säure, TESiOH, PFCA und Heptan als Abfallprodukte entstehen. Aufgrund dieser großen Menge an Chemikalienabfällen, würde diese Methode nicht den Regeln der grünen Chemie entsprechen. Im Vergleich dazu entsteht bei der Verwendung von 50 mg SPE-Phase sehr viel weniger Abfall. Aus diesen Gründen ist eine zusätzliche Anreicherung der Probe durch SPE erforderlich.

Ein Reagenzglas aus Glas mit Schraubdeckel (15 ml Volumen) wurde als Gefäß für die Reaktion getestet und es wurden sehr große Analytverluste beobachtet. Dabei stellte hier weniger das große Probenvolumen ein Problem dar, sondern die Glasoberfläche der Reagenzgläser, an der PFCA adsorbieren können [65]. Es konnte jedoch beobachtet werden, dass die Reaktion in einem unbenutzten, fabrikneuen Glas gut funktionierte. In einem mehrfach verwendeten Glas waren die Verluste an Analyten sehr viel höher, als bei der Erstnutzung. Üblicherweise sind die Glasgefäße für den Laborbedarf deaktiviert, um so wenig wie möglich aktive Silanolgruppen auf der Oberfläche zu haben. Sehr saure Bedingungen der Reaktion führten dazu, dass die Glasoberfläche beschädigt wurde. Aus diesem Grund, müssen alle Reaktionen im Einwegglas durchgeführt werden. Wurde das Glas gespült, waren die Ergebnisse der Reaktion sehr variabel, abhängig davon, wie beschädigt die Glasoberfläche der Reagenzgläser war. Aus diesem Grund wurde die Reaktion in Glasgefäßen nicht weiter untersucht.

6.5. Optimierung der Festphasenextraktion

Als nächstes wurde das SPE-Verfahren auf Grundlage einer Macherey-Nagel-Methode Nr. 305820 untersucht [163]. Bei dieser Methode sollen die absorbierten Analyten mit 2.4 ml 0.1 % Ammoniumhydroxid in Methanol eluiert werden. Die Probe sollte dann bis zur Trockne eingedampft werden.

Um das SPE Verfahren in Kombination mit der TES-Derivatisierung zu verwenden, sollten sich die Analyten am Ende des Extraktionsprozesses im Wasser befinden. Eine Möglichkeit, um dies zu erreichen, war es, das Extrakt bis zur Trockne einzudampfen und danach wieder in Wasser aufzunehmen. Die Verdampfung des Extraktes, gefolgt durch Lösen in schwefelsäurehaltigem Wasser, wurde untersucht. Zunächst wurde 0.1 % NH₄OH Lösung in Ethanol hergestellt und in zwei

Glasfläschchen und zwei Polyethylenfläschchen gegeben. Im Anschluss wurden je 20 ng PFCA zu jedem Fläschchen addiert. Alle Gefäße wurden unter einen leichten Stickstoffstrom gestellt und das Lösungsmittel bis zur Trockne eingedampft. Hierauf wurden 1 ml Wasser und 100 µl Schwefelsäure zugegeben, und die Fläschchen 5 Minuten in ein Ultraschallbad gestellt. Danach wurden die Proben in ein Eppendorf-Gefäß überführt und es erfolgte eine Derivatisierung. Zusätzlich wurde die Standardlösung (20 ng PFCA-Gemisch) in 1 ml destilliertem Wasser gelöst und in ein Eppendorf-Gefäß gegeben. Die Ergebnisse der Derivatisierung nach dem Eindampfen wurden mit den Ergebnissen ohne Abdampfen verglichen. Die Wiederfindungsraten betragen 60.5 – 82.0 % und 35.6 – 62.2 % für Glas- bzw. Polyethylenflaschen. Daher wurde entschieden, dass die Proben für die Derivatisierung nicht abgedampft werden können. Es ist allerdings auch anzumerken, dass die Abdampfung der Probe manuell für jede einzelne Probe mit dem Stickstoff aus der Gasflasche durchgeführt wurde. Wahrscheinlich hätte der Einsatz eines elektronisch gesteuerten Verdampfungsgeräts bessere Wiederfindungsraten zur Folge.

Die im Punkt 6.1 beschriebene Untersuchung erfolgte mit Hilfe der klassischen SPE Methode mit gepackten Kartuschen. Bei der Probenvorbereitung wurden jedoch Probleme mit unterschiedlichen Extraktionszeiten beobachtet. Die Proben sind durch die gepackten Kartuschen mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten gelaufen. Dieser SPE Prozess war sehr aufwändig und musste ständig überwacht werden. Aus diesem Grund wurden die Proben als d-SPE anstelle mit Kartuschen extrahiert. Die Analyten sollten in dieser Methode mit einem kleinen Volumen (250 µl) ethanolischer NH₄OH-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung in Wasser eluiert werden, um danach die Derivatisierung durchzuführen.

Die weitere Optimierung des SPE-Prozesses bezieht sich auf die Batchversuche (d-SPE), bei denen 50 mg der SPE-Phase eingewogen und mit 250 ml wässriger Probe ausgeschüttelt wurde. Danach wurde die Phase in eine leere SPE Kartusche übertragen und die Analyten eluiert.

Für das SPE-Verfahren wurden zwei Phasen getestet: Strata X-AW und Oasis WAX. Wenn die Probe mit 1 N HCl angesäuert wurde, um einen pH-Wert von ~ 3 zu erreichen, zeigten beide Phasen ähnliche Wiederfindungsraten. Wenn jedoch das SPE-Verfahren bei neutralem pH durchgeführt wurde, adsorbierten die kurzkettigen PFCA (PFBA, PFPA) viel besser an der Oasis-Phase als an der Strata-Phase (Abbildung 30). Janda et al. haben vor kurzem ähnliche Beobachtungen beschrieben. Sie fanden heraus,

dass ein niedriger pH-Wert zur Protonierung der funktionellen Gruppen der Sorbentien führt, was vor allem die Konkurrenzwirkungen mit Bicarbonat-Anionen verringert [22].

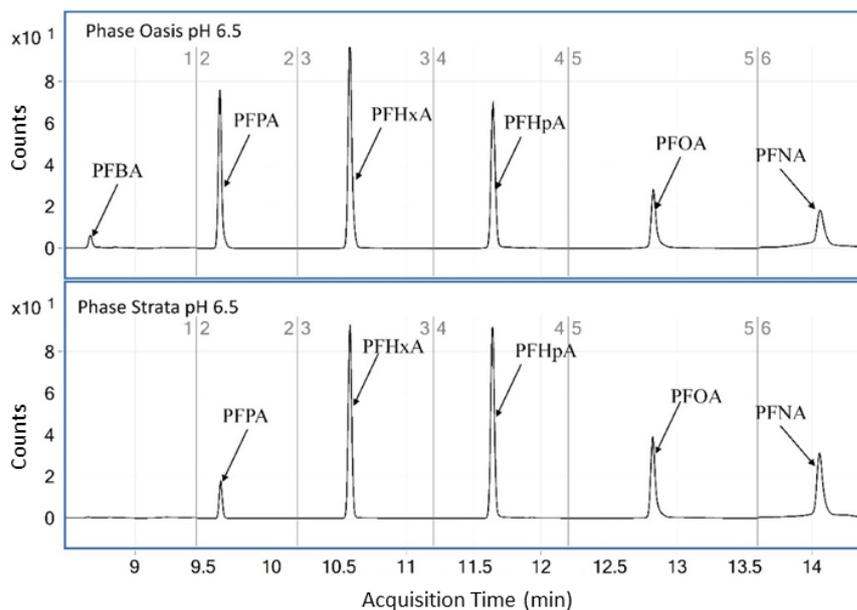


Abbildung 30 Chromatogramme mit PFCA Peaks nach der SPE mit Oasis- und Strata-Phase bei pH 6.5.

Die Wiederfindungsraten waren für beiden Phasen bei pH ~3 ähnlich (Tabelle 8). Für die PFPA wurden 95 % und 93 % unter Verwendung von Strata bzw. Oasis zurückgewonnen. Bei der PFOA wurden ähnliche Ergebnisse erzielt: 104 % und 108 %. Die Wiederfindungsraten von PFCA mit der Kettenlänge C9-C12 lagen für Strata jedoch weit über 100 %. Die Ergebnisse der Oasis-Phase waren für diesen Analyten sogar noch höher. Es konnte gezeigt werden, dass diese Ergebnisse nicht durch eine Blindkontamination verursacht wurden, da die Peaks in den Blindproben zu niedrig waren, um einen signifikanten Einfluss zu haben. Dieser Effekt wurde wahrscheinlich durch andere, in den Proben nach der Festphasenextraktion vorhandene Komponenten verursacht, die die Bedingungen der Derivatisierungsreaktion verändert haben. Deshalb wurde trotz geringerer Wiederfindungsraten, ein höherer pH-Wert eingestellt. Bei pH ~ 4.5 waren die Wiederfindungen wie folgt: 62 % für PFPA, 79 % für PFOA und 67 % für PFDA. In weiteren Untersuchungen wurde die Strata-Phase verwendet. Der Extraktionsprozess wurde im weiteren Verlauf optimiert und die Wiederfindungsraten in der Messung von Leitungswasser, hatten zufriedenstellendere Werte (Tabelle 14).

Tabelle 8 Wiederfindungsraten nach der SPE mit Oasis und Strata Phase bei pH ~ 3. Berechnet als prozentualer Peakflächenunterschied zwischen der Probe nach der SPE und ohne SPE.

Analyt	Wiederfindungsrate (%) 50 ng/l PFCA bei pH ~ 3	
	Strata	Oasis
PFPrA	61.1	77.6
PFBA	86.8	102.6
PFPA	94.8	93.0
PFHxA	90.1	90.4
PFHpA	107.7	104.3
PFOA	104.4	108.3
PFNA	128.6	142.0
PFDA	208.5	219.9
PFUnDA	295.7	363.7
PFDODA	410.9	649.4

Alle Standard-Kalibriergeraden für die quantitative Bestimmung der Proben, wurden unter gleichen Bedingungen wie die Proben vorbereitet, d.h. für alle Standardlösungen wurde auch diese SPE durchgeführt. Somit konnte der Unterschied in den Wiederfindungsraten kompensiert werden.

Leitungswasser und entsalztes Wasser wurden als Matrix für SPE Standard-Lösungen getestet. Zu diesem Zweck wurden die Wasserproben ohne Zugabe von PFCA als Blindproben gemessen. Diese Blindproben zeigten kleine PFCA-Peaks auf dem Chromatogramm. In den meisten Fällen gab es keinen Unterschied zwischen Leitungswasser und entsalztem Wasser. Als die Patrone in der Entsalzungsanlage jedoch ausgetauscht wurde, waren die Blindwerte von PFPrA, PFBA, PFPA und PFHxA, bei Verwendung von entsalztem Wasser bis zu 50-mal höher als bei Verwendung von Leitungswasser (Abbildung 31). Es konnte nicht ausgeschlossen werden, dass die unterschiedlichen Ergebnisse die Folge von beschädigten Dichtungen waren, und es somit möglicherweise zu einer Verunreinigung des Wassers kam. Darüber hinaus wurde Wasser aus der Reinstwasseranlage untersucht und die PFOA-Konzentration war fünfmal höher, als in Leitungswasser. Sehr wahrscheinlich könnten die Bestimmungsgrenzen dieser Methode niedriger werden, wenn die Hintergrundkontamination vollständig eliminiert werden konnte.

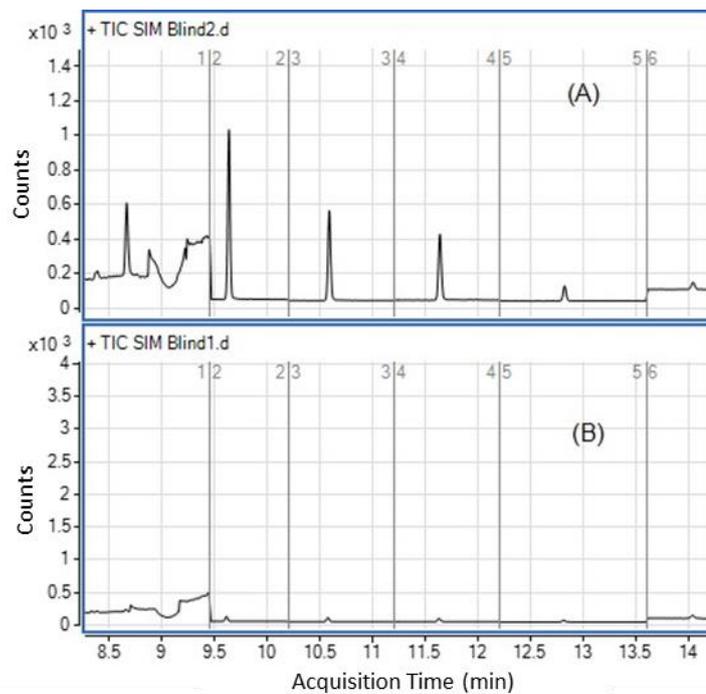


Abbildung 31 Chromatogramme von Blindproben für entsalztes Wasser (A) nach dem Austausch der Patrone in der Anlage und Leitungswasser (B).

Diese Untersuchung hat gezeigt, wie wichtig die Identifizierung und Beseitigung möglicher Kontaminationsquellen ist. Die Blindproben sollten regelmäßig getestet werden, insbesondere nach der Wartung der Reinigungssysteme. Nach Möglichkeit sollten Teflon[®]-Dichtungen durch andere Materialien ersetzt werden. Die Anwendung von Leitungswasser begrenzt die Möglichkeit einer zusätzlichen Kontamination, enthält jedoch auch PFCA, deren Entfernung oft nicht möglich ist. Die Verwendung eines Ionenaustauschers zur Reinigung von Wasser sollte in Betracht gezogen werden, insbesondere für Proben, bei der eine sehr geringe Konzentration an PFCA, wie zum Beispiel im Trinkwasser, erwartet wird. Die Konzentration von PFCA in Leitungswasser war niedrig genug, um die Proben aus der Kläranlage zu messen. Darüber hinaus entspricht die Leitungswassermatrix (z. B. anorganische Salze) eher realen Proben, als ultrareines Wasser. Während der Methodenentwicklungszeit (über 18 Monate) zeigte nur das Leitungswasser von einem Tag zum anderen stabile, vergleichbare Blindwerte. Aus diesem Grund wurde die Entscheidung getroffen, zur Herstellung aller Standards für die SPE Leitungswasser zu verwenden. Eine andere mögliche Kontaminationsquelle bei dieser Methode sind die Verschlüsse der Kappen in den GC-Fläschchen. Aus diesem Grund wurden verschiedene GC-Fläschchen und Verschlüsse getestet, wobei kein Unterschied in den Blindwerten festgestellt werden konnte.

Die Extraktionszeit ist eine der wichtigsten Parameter bei der SPE und sollte für jede Art von Analyten optimiert werden. Zu diesem Zweck wurden die Proben 5, 15, 30, 45, 60, 90 und 120 Minuten ausgeschüttelt. Bis 30 Minuten wurde eine steigende Tendenz in der Peakhöhe beobachtet und nach 30 Minuten wurde kein weiterer Anstieg mehr festgestellt. Aus diesem Grund wurden 30 Minuten als optimale Extraktionszeit ausgewählt.

Die Konditionierung des Sorbens wird bei der SPE verwendet, um reproduzierbare Wechselwirkungen zwischen Analyten und der Phase zu sichern. Es stellt eine Benetzung des Sorbens dar und soll die Adsorption des Analyten verbessern. In den Untersuchungen wurde jedoch festgestellt, dass die Konditionierung der SPE Phase für den Batchprozess nicht nötig ist. Es wurden zwei Proben gemessen, wobei eine Probe mit der SPE Phase ohne Konditionierung und die zweite Probe nach der Konditionierung gemessen wurde. Die 250 ml Probe (40 ng/l PFCA) wurde mit 50 (\pm 1) mg Strata Phase ausgeschüttelt. Die Konditionierung erfolgte durch das Waschen der SPE-Phase, mit 1 ml Methanol und 1 ml Wasser. Die Peakflächen für PFHpA- PFDoDA waren identisch in beiden Proben. Die Peakflächen von PFPrA- PFHxA waren minimal kleiner, als in der Probe mit konditionierter SPE-Phase. Die Konditionierung hat also die Adsorptionseigenschaften in diesem Fall nicht verbessert. Aus diesem Grund wurde in der weiteren Methodenentwicklung keine Konditionierung der SPE Phase durchgeführt.

6.6. Einfluss der Filtration auf die Ergebnisse

Der Einfluss der in den klassischen LC-MS/MS Verfahren verwendeten Filtern wurde getestet, um ihren Effekt auf die Ergebnisse zu beurteilen. Dazu wurde die 24-Stunden-Mischproben aus der Kläranlage nach der Filtration, unter Verwendung eines Cellulosespritzenfilters (SPARTAN 13/0.45 RC), gemessen und mit nicht filtrierte Proben verglichen. Während die filtrierte Standardlösungen und die nicht filtrierte Proben ähnliche Ergebnisse zeigten, konnten in realen Proben, nach der Filtration einige Unterschiede für einzelne Verbindungen nachgewiesen werden. Die Ergebnisse von zwei Kläranlageproben (filtriert und nicht filtriert) wurden in Tabelle 9 zusammengestellt.

Tabelle 9 Ergebnisse der PFCA-Analysen für zwei Proben (Ablauf aus der Kläranlage) mit und ohne Filtration durch SPARTAN 13/0.45 RC Spritzenfilter.

Verbindung	P1 filtriert	P1 unfiltriert	P2 filtriert	P2 unfiltriert
PFBA	15.93	12.07	17.67	27.80
PFPA	11.75	9.70	6.34	9.42
PFHxA	9.91	8.53	5.43	7.44
PFHpA	9.75	4.17	5.66	6.13
PFOA	10.16	9.88	5.47	7.70
PFNA	<4	<4	<4	<4
PFDA	<4	<4	<4	<4
PFUnDA	nd	nd	nd	nd
PFDoDA	nd	nd	nd	nd

Dabei waren die Ergebnisse für Perfluorheptansäure in gefilterten Proben deutlich höher. Die nachgewiesene Menge vor der Filtration betrug 4.17 ng/l, während die Konzentration nach der Filtration auf 9.9 ng/l anstieg. Theoretisch ist es möglich, dass die Unterschiede durch den Anteil der festen Partikeln in der Probe verursacht wurden. Das Extraktionsverfahren fand jedoch auf einem Ionenaustauscher statt. Aus den festen Partikeln, welche zusammen mit der SPE-Phase in die Kartuschen gelangen, werden die Analyten mit Aceton herausgewaschen und sollten nicht in das Extrakt übergehen.

Zusätzlich wurden die Filter mit Proben aus anderen Kläranlagen getestet und bei einigen von ihnen wurde eine Verstopfung des Filters festgestellt. Die Anwendung eines zweiten Filters für eine Probe verhindert die Vergleichbarkeit der Ergebnisse. Die Unterschiede der Peaks von PFBA, PFPA und PFHxA betragen über 40%.

Zwei andere getestete Filter zeigten ebenfalls sehr unterschiedliche Wiederfindungsraten. In Tabelle 10 wurden die Wiederfindungsraten für Whatman® Papierfilter (Nr. 1442-070) und für silanisierte Glaswolle aufgelistet. Die Glaswolle zeigte sehr hohe Ergebnisse für PFHxA-PFUnDA, was durch die Verunreinigung des Materials verursacht worden sein kann. Aus diesem Grund wurde die Verwendung der Glaswolle als Filtrationsmaterial ausgeschlossen. Bei dem Papierfilter von Whatman® wurde ein wesentlicher Verlust von Analyten beobachtet. Eine Ursache dafür kann die Platzierung der Filter in einem Porzellantrichter sein, bei dem die Probe unter Vakuum durch den Filter in ein Glasgefäß fließt. Dieser Prozess konnte nicht in einem

Kunststoffgefäß durchgeführt werden. Dabei könnten sich die Analyten an der Glasoberfläche adsorbieren. Zudem kann nicht ausgeschlossen werden, dass der Filter auch teilweise die PFCA adsorbiert. Dies konnte jedoch während dieser Untersuchung nicht bestätigt werden.

Tabelle 10 Wiederfindungsraten für 100 ml Lösung aufgestockt mit 30 ng PFCA nach der Filtration mit Whatman® Papierfilter und silanisierter Glaswolle.

Verbindung	Wiederfindungsrate (%) für 100 ml PFCA-Lösung			
	Whatman 1	Whatman 2	Wolle 1	Wolle 2
PFBA	78.0	87.0	83.3	102.3
PFPA	79.0	91.6	79.7	98.7
PFHxA	76.0	83.8	113.4	92.7
PFHpA	76.2	79.6	136.2	103.1
PFOA	87.7	104.1	251.1	204.3
PFNA	74.2	72.9	123.3	102.4
PFDA	82.8	78.7	140.1	120.1
PFUnDA	102.0	101.7	171.1	155.8
PFDoDA	89.7	77.5	95.2	72.0

Es konnte festgestellt werden, dass die Filtration der Proben vor der Analyse von Umweltproben sorgfältig evaluiert werden muss. Üblicherweise benötigen die Proben bei der TES-Methode keine Filtration. Wenn jedoch Proben mit einer hohen Feststoffmenge analysiert werden sollen, kann die Zentrifugation eine Alternative zu der Filtration darstellen.

6.7. Validierung der TES Methode

Die Verifizierung dieser Methode wurde anhand von sechs Leistungsmerkmalen durchgeführt: Reaktionsausbeute, Bestimmungsgrenzen, Wiederholbarkeit, Linearität, Genauigkeit und Präzision.

Üblicherweise wird die Reaktionsausbeute auf folgende Weise bestimmt: Der Analyt einer bekannten Konzentration wird derivatisiert und gemessen. Danach wird eine Lösung aus reinem Derivat in gleicher Konzentration hergestellt und ohne Derivatisierung gemessen. Der Unterschied zwischen den Peakflächen der Derivatisierungsprodukte mit und ohne Reaktion, ist die Ausbeute der Reaktion. Für diese Methode war es jedoch nicht möglich, die Triethylsilylderivate als reine

Substanzen kommerziell zu erwerben oder herzustellen. Aus diesem Grund wurde eine andere Methode zur Ermittlung der Reaktionsausbeute verwendet.

Die Derivatisierungsausbeute für PFCA wurde aus wiederholter Derivatisierung derselben Probe und dem Vergleich der Peakflächen berechnet (Tabelle 11). Die Konzentration der Analyten in der Probe betrug 100 ng/ml. Die sehr niedrige Ausbeute für die Perfluorpropionsäure kann durch eine hohe Flüchtigkeit und Löslichkeit in Wasser verursacht werden.

Folgende Formel wurde zur Ermittlung der Ausbeute verwendet:

$$\text{Ausbeute} = 100\% - \left(\frac{y_2}{y_1} \times 100\right)$$

y_1 – Peakfläche nach erster Derivatisierung der Probe

y_2 – Peakfläche nach zweiter Derivatisierung der Probe

Tabelle 11 Derivatisierungsausbeute der Reaktion von Perfluorcarbonsäuren mit TESiOH.

Analyt	Ausbeute %
PFPrA	40.48
PFBA	77.87
PFPA	89.55
PFHxA	91.46
PFHpA	91.90
PFOA	95.39
PFNA	92.41
PFDA	90.51
PFUnDA	84.88
PFDoDA	72.45

Die Bestimmungsgrenzen für PFCA wurden für 250 ml Proben nach der SPE und für 3.5 ml Wasserproben ohne Anreicherung bestimmt. Tabelle 12 zeigt die Zusammenstellung der Ergebnisse. Die Messabweichung war bei kurzkettigen PFCA aufgrund deren höherer Flüchtigkeit und Mobilität, sowie einer kürzeren Retentionszeit höher. Die sehr kurze Retentionszeit der PFPrA war der Grund für die hohe Ergebnisabweichung. Die Verwendung von Festphasenextraktion hat die Bestimmungsgrenzen signifikant verbessert. Für alle PFCA wurde die Bestimmungsgrenze auf das 5-fache Signal des Analyten im Vergleich zum Blindwert festgelegt. Wenn kein Blindwertsignal sichtbar war, wurde ein 5-faches

Hintergrundrauschen im Chromatogramm als BSG festgelegt. Die doppelt so hohe BSG für PFOA im Vergleich zu PFHpA und PFNA, wurde durch eine hohe Kontamination der Blindprobe verursacht. Die Nachweisgrenzen wurden als dreifaches Rauschen berechnet und betragen für die PFBA-PFUnDA 2-4 ng/l.

Tabelle 12 Bestimmungsgrenzen für PFCA mit und ohne Festphasenextraktion.

Verbindung	BSG ohne SPE (3.5 ml Probe) [ng/l]	BSG nach der SPE (250 ml Probe) [ng/l]	Quantifizierungs- Ion [<i>m/z</i>]
PFPrA	5600 ± 1120	48 ± 9.6	249
PFBA	1400 ± 70	8 ± 0.8	299
PFPA	1400 ± 70	8 ± 0.8	349
PFHxA	1400 ± 70	8 ± 0.8	399
PFHpA	1400 ± 70	4 ± 0.4	449
PFOA	1400 ± 140	8 ± 0.8	499, 319
PFNA	1400 ± 140	4 ± 0.4	549, 369
PFDA	1400 ± 140	8 ± 0.8	599, 419
PFUnDA	1400 ± 140	8 ± 0.8	649, 469
PFDoDA	2800 ± 280	20 ± 2	699, 519

In Abbildung 32 sind die Peaks von PFPA, PFOA und PFUnDA in den aufgestockten Proben nach der SPE gezeigt. Die Konzentration den Proben entspricht der Bestimmungsgrenze.

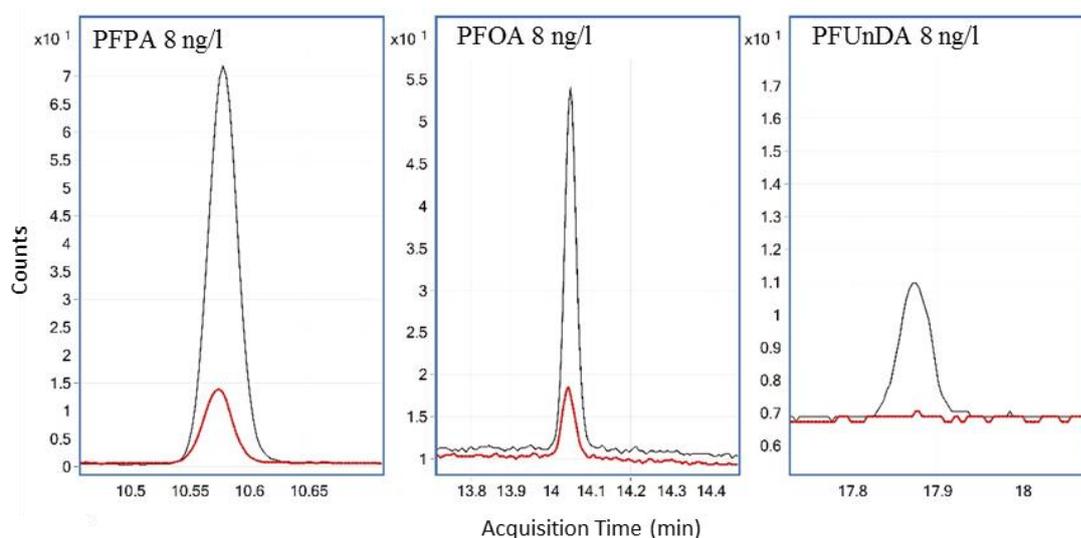


Abbildung 32 Peaks von PFPA, PFOA und PFUnDA in Konzentrationen von 8 ng/l und die Blindwerte – Analyse nach der SPE.

Die Wiederholbarkeit wurde für zehn derivatisierte Proben mit PFCA-Lösung in Konzentrationen von 100 ng/l bestimmt. Diese Ergebnisse sind in Tabelle 13 aufgelistet.

Tabelle 13 Wiederholbarkeit für PFCA in einer Konzentration von 100 ng/l nach der SPE.

Verbindung	RSD%
PFPrA	8.59
PFBA	6.69
PFPA	5.65
PFHxA	5.37
PFHpA	4.72
PFOA	5.11
PFNA	4.10
PFDA	4.34
PFUnDA	9.98
PFDoDA	7.02

Das Verfahren zeigte eine gute Linearität in Kombination mit SPE im Bereich von 8-10.000 ng/l für PFBA und PFOA und bis zu 6.000 ng/l für andere Verbindungen. Die Determinationskoeffizienten R^2 waren für alle gemessenen PFCA höher als 0.99. Die Chromatogramme mit den Peaks im Bereich von 8-10.000 ng/l PFBA und die Kalibriergerade für PFBA sowie PFOA wurden in Abbildung 33 und Abbildung 34 gezeigt.

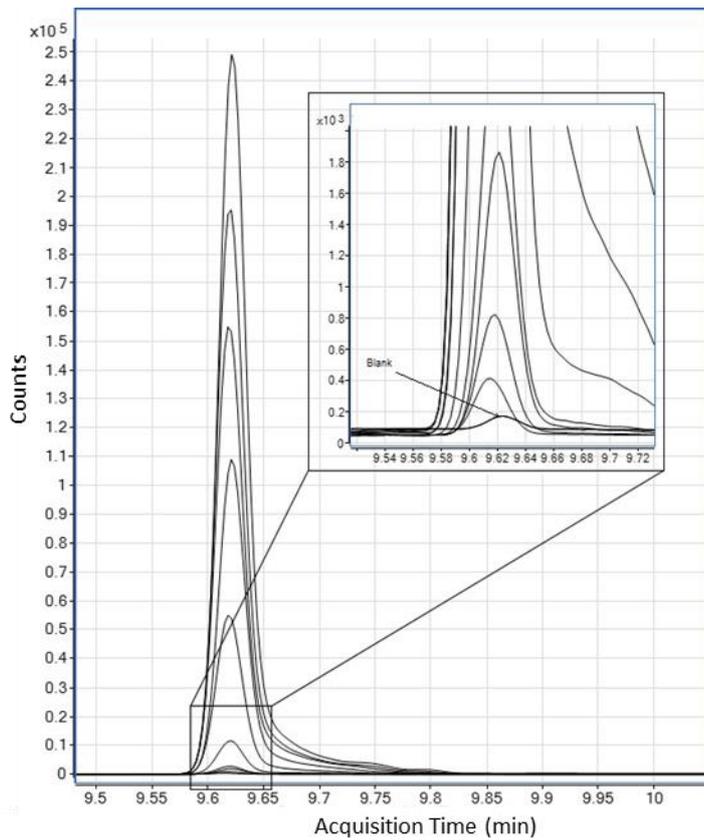


Abbildung 33 Kalibrierung von PFBA im Bereich von 8-10.000 ng/l [164].

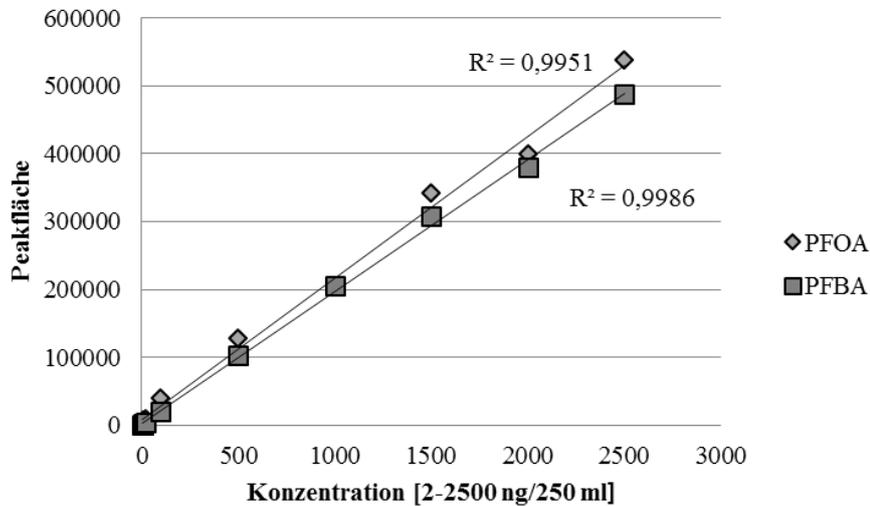


Abbildung 34 Kalibrierungsdiagramm für PFBA und PFOA im Bereich von 8-10.000 ng/l [164].

Die Genauigkeit des Verfahrens wurde bewertet indem 250 ml Leitungswasser mit dem Gemisch aus zehn PFCA (C3-C12) aufgestockt wurden. Danach wurden die Wiederfindungsraten durch den Vergleich mit Standardlösungen ermittelt. Die Ergebnisse der Genauigkeit und Präzision wurden für Leitungswasser als

zufriedenstellend befunden (Tabelle 14). Zur Bestimmung der Wiederfindungsraten in komplexeren Matrices wurden Flusswasser und Kläranlagezulauf auf die Konzentration von 80 ng/l aufgestockt (Tabelle 14).

Während die Korrelationskoeffizienten oberhalb von 0.98 lagen, unterschieden sich die Ergebnisse für einzelne Stichproben erheblich voneinander (siehe RSD-Werte in Tabelle 14). Eine Ursache könnte die geringe Homogenität der Proben sein. Ein weiteres mögliches Problem stellt ein dünner Film auf der Oberfläche der Gefäßwand dar, der sich während der SPE-Extraktion (Ausschütteln von Wasser mit der SPE-Phase) gebildet hat. Für beide Matrices konnte ein, mit der Kettenlänge korrelierter, wesentlich wachsender Trend beobachtet werden. Die niedrigsten Wiederfindungsraten wurden für die PFCA mit der kürzesten gemessenen Kettenlänge erzielt. Die festen Partikel störten bei dem Extraktionsprozess und sollten vor der SPE entfernt werden.

Tabelle 14 Bestimmung von PFCA in 250 ml Leitungswasser, Flusswasser und Zulauf aus der Kläranlage (80 ng/l) [164].

Verbindung	Leitungswasser (n=3)		Flusswasser (n=4)			KA Zulauf (n=4)		
	RSD%	WFR* [%]	R	RSD%	WFR* [%]	R	RSD%	WFR* [%]
PFBA	2.44	95.5	0.9932	17.04	64.13	0.9991	35.42	49.45
PFPA	2.09	98.0	0.9975	15.95	79.15	0.9842	18.15	59.69
PFHxA	2.73	97.4	0.9963	23.30	73.74	0.9977	15.24	65.10
PFHpA	4.67	97.1	0.9982	17.37	88.64	0.9971	13.02	77.87
PFOA	8.91	99.9	0.9946	27.23	87.28	0.9977	15.75	77.00
PFNA	6.86	96.5	0.9951	18.43	84.70	0.9958	12.93	83.65
PFDA	5.66	97.7	0.9973	19.10	83.44	0.9884	15.15	92.17
PFUnDA	6.18	100.7	0.9976	18.87	91.58	0.9831	20.07	95.69
PFDoDA	1.76	94.7	0.9943	6.37	95.00	0.9894	15.58	83.62

* WFR – Wiederfindungsrate

Zur Verifizierung des neuentwickelten Verfahrens wird üblicherweise ein Vergleich mit einer unabhängigen, validierten Methode durchgeführt. Eine GC-MS Analyse wurde mit der LC-MS/MS Methode in zwei Experimenten verglichen. Die Probenvorbereitung für die GC-MS und die LC-MS/MS ist unterschiedlich, weil die Proben bei der TES-Methode nicht filtriert werden. Es gab jedoch keine andere Möglichkeit, die GC-MS Ergebnisse zu verifizieren. Aus diesem Grund wurde das neuentwickelte GC-MS Verfahren mit LC-MS/MS verglichen, welche derzeit die Methode der Wahl für die PFCA-Analyse ist.

Im ersten Teil des Experiments wurde eine Probe bei Labor Limbach Analytics GmbH hergestellt, indem Wasser mit einer Mischung aus sieben PFCA aufgestockt wurde. Die Konzentration betrug für jede PFCA 15 ng pro 250 ml Probe. Die gemessenen Ergebnisse stimmten in angemessener Weise mit den bekannten Konzentrationen überein (Tabelle 15). Diese Methode ist somit zur Bestimmung der PFCA in Wasser geeignet.

Tabelle 15 Bestimmung von PFCA in Standardlösungen vorbereiteten durch ein externes Labor - 250 ml aufgestockt auf eine Konzentration von 15 ng/250 ml [164].

Verbindung	Gemessene Menge – Mittelwert für n=3 [ng/250 ml]	WFR[%]	RSD %
PFBA	13.42	89.5	2.44
PFPA	15.32	102.1	2.30
PFHxA	14.08	93.9	10.94
PFHpA	15.85	105.7	9.88
PFOA	15.99	106.6	11.16
PFNA	15.74	104.9	12.08
PFDA	15.62	104.1	10.80

Im zweiten Teil des Vergleichsexperiments wurden Proben aus zwei Kläranlagen in Baden-Württemberg gemessen: Mühlen (Horb am Neckar) und Kiebingen (Rottenburg am Neckar). Die Kläranlage Horb-Mühlen mit dem Einwohnerwert (EW) von 2.500 gehört zu den kleinen Kläranlagen und wird mit zwei Reinigungsverfahren betrieben: Belebung mit gemeinsamer Schlammstabilisierung und Denitrifikation. Die Kläranlage Rottenburg-Kiebingen ist eine größere mechanisch biologische Kläranlage (EW 45.800), die mit simultaner aerober Klärschlammstabilisierung betrieben wird. Diese Gebiete haben keine bekannte,

besorgniserregende PFCA Kontaminationsquellen. Daher liegen die Erwartungswerte der PFCA Konzentrationen im niedrigen ng/l-Bereich.

Die Proben wurden im Juni 2018 entnommen und bei 5 °C in Polypropylenflaschen aufbewahrt. Die entnommenen Proben bestanden aus einem 24-Stunden-Gemisch aus dem Ablauf jeder Kläranlage. Maximal 24 Stunden nach der Entnahme wurden die Proben mittels GC-MS analysiert.

Zusätzlich wurden diese in gekühlten Containern zum Labor Limbach Analytics GmbH geschickt, wo sie stabilisiert wurden (mit NH₄OH) und innerhalb von 14 Tagen mittels LC-MS/MS gemessen wurden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 16 aufgelistet.

Tabelle 16 Ergebnisse der Probenanalyse mit GC-MS und LC-MS/MS [164].

PFCA	Kalibrationsbereich [ng/l]	R ²	Gemessen mittels GC-MS		Gemessen mittels LC-MS/MS	
			Probe 1	Probe 2	Probe 1	Probe 2
PFPA	4-80	0.9983	<4	<4	14	12
PFHxA	4-80	0.9991	<4	5.1	5	16
PFHpA	4-80	0.9997	4.63	7.34	11	18
PFOA	4-80	0.9999	<4	<4	<5	8
PFNA	4-80	0.9993	<4	5.84	<5	7
PFDA	4-80	0.9994	<4	<4	<5	<5
PFUnDA	4-80	0.9942	nd	nd	<10	<10
PFDoDA	20-160	0.9912	nd	nd	<10	<10

* nd - nicht nachgewiesen, <4 - niedriger als LOQ von 4 ng/l

Die GC-MS-Ergebnisse in Tabelle 16 wurden aus einer Kalibriergerade berechnet. Die Blind- und Standardlösungen wurden im Leitungswasser hergestellt. Das Wasser, das Extraktionsverfahren und das GC-MS System liefern immer Blindwerte. Vor der Auswertung der Ergebnisse wurden für alle Peaks die Blindwerte abgezogen.

Die Unterschiede in den Ergebnissen, könnten durch den Posttransport der Probe zum Partnerlabor verursacht worden sein. Wie im Punkt 6.6 beschrieben, sollte Filtration keinen signifikanten Einfluss auf die Ergebnisse haben, da die Retention der PFCA auf der SPE-Phase durch Ionenaustausch verursacht ist. Auch wenn die festen Partikel zusammen mit der SPE-Phase in die Kartuschen gelangen, werden die Analyten aus den Partikeln mit Aceton herausgewaschen und sollten nicht in das

Extrakt gelangen. Bei komplexeren Matrices kann sich jedoch eine hohe Anzahl fester Partikel negativ auf das Extraktionsverfahren auswirken.

Es findet sich eine gute Übereinstimmung der mittels GC-MS und LC-MS/MS erzielten Ergebnissen. Bei der Beurteilung muss berücksichtigt werden, dass die Proben für GC und LC Analysen unterschiedlich vorbereitet sind.

7. Entwicklung einer Derivatisierungsmethode mit Dialkylacetalen.

Bereits 1977 beschrieb Elliott die Derivatisierung von Perfluorcarbonsäuren mit Dimethylformamid-dimethylacetal (DMF-DMA) [117]. In seiner Studie untersuchte er die Signalantworten des Flammenionisationsdetektors (FID) und des Wärmeleitfähigkeitsdetektors (WLD) auf diese Analyten. Sein Ziel war es, die Analyse von PFCA als Methylester nach einer Derivatisierungsreaktion durchzuführen. Die herkömmlichen Methoden zur Herstellung von Fettsäuremethylester (MeOH/H₂SO₄, BSA und MeOH/BCl₃) erwiesen sich bei PFCA als ungeeignet. Aus diesem Grund hat er die Reaktion mit DMF-DMA durchgeführt. Elliott stellte jedoch fest, dass die Zugabe einer kleinen Menge destillierten Wassers notwendig war, um die Reaktion zu katalysieren. Seine Ergebnisse zeigten, dass sowohl für FID, als auch für WLD die gleiche Kettenlängenverteilung für Kohlenwasserstoffcarbonsäuren erzielt wurde. Andererseits zeigten die FID-Ergebnisse für perfluorierte Carbonsäuren eine deutlich andere Verteilung, als die WLD-Ergebnisse. Er stellte fest, dass ein elektrischer Effekt die Signalantwort des Flammenionisationsdetektors auf PFCA beeinflusst. Daher stellt der FID-Detektor eine schlechte Wahl für die Analyse perfluorierter Carbonsäuren dar.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Reaktion von PFCA mit DMF-DMA und DMF-DEA untersucht, um diese Verbindungen mittels GC-MS zu analysieren. Die von Elliott beschriebene Methode konnte nicht direkt übernommen werden, da die Injektion von Wasser in das GC-MS System vermieden werden sollte. Aus diesem Grund wurde in dieser Arbeit die Reaktion ohne Zugabe von Wasser durchgeführt und untersucht.

Im Zuge der weiteren Forschung hat sich herausgestellt, dass PFCA unter diesen Bedingungen keine Ester bilden. Es ist anzunehmen, dass die von Elliott beschriebene Umesterung nur in Gegenwart von Wasser funktioniert. Die weiteren Kapitel beschreiben die Identifikation des Produktes der Reaktion von PFOA mit DMF-DMA und die Anwendung dieser Reaktion, zur Bestimmung von PFCA in festen Proben.

7.1. Untersuchung der Reaktion von DMF-Dialkylacetalen mit Carbonsäuren

Elliott hat in seiner Arbeit signifikante Unterschiede zwischen der Reaktion von DMF-DMA mit Kohlenwasserstoffcarbonsäuren und perfluorierten Carbonsäuren beobachtet [117]. Aus diesem Grund wurden die Reaktionen einer perfluorierten Säure (PFOA) und einer entsprechenden Kohlenwasserstoffcarbonsäure (Oktansäure) mit

Dimethylformamid-diethylacetal (DMF-DEA) verglichen (siehe 9.8). Der Grund für die Anwendung von DMF-DEA anstelle von DMF-DMA für diese Reaktion liegt darin, dass Perfluorcarbonsäuren sehr kurze Retentionszeiten in den meisten GC-Säulen aufweisen. Es konnte nicht ausgeschlossen werden, dass PFOA-Methylester durch ihre kurze Retentionszeit auf dem Chromatogramm nicht gefunden werden kann. DMF-DEA sollte in dieser Reaktion ein Ethylester bilden, der eine längere Retentionszeit in der Säule aufweist.

Während in der Reaktion der Oktansäure mit DMF-DEA nur ein Reaktionsprodukt beobachtet werden konnte, waren in der gleichen Reaktion mit PFOA zwei Produkte sichtbar. Die GC-EI-MS-Chromatogramme dieser Derivatisierungsreaktionen sind in Abbildung 35 dargestellt. Die mit 1, 2 und 3 gekennzeichneten Peaks, wurden als DMF-DEA, Ethyldimethylcarbammat und Ethylorthoformiat, mit Hilfe der NIST Bibliothek identifiziert. Die den Peaks 4, 5 und 6 zugeordneten Reaktionsnebenprodukte wurden nicht weiter untersucht.

Die GC-MS Analyse des Oktansäure-Derivates führte zu der Erkenntnis, dass Oktansäure auf eine für Carbonsäuren typische Weise, d. h. durch Bildung eines Esters reagiert. Dieser Oktansäure-Ethylester wurde als ein Peak, bei einer Retentionszeit von 16.8 min, auf dem Chromatogramm gefunden (Peak 7 in Abbildung 35). Im Gegensatz zu Oktansäure hat PFOA ein Hauptprodukt und ein Nebenprodukt gebildet. Die Retentionszeiten betragen 6.3 min. für den PFOA-Ester (Nebenprodukt, Peak 8) und 12.3 min. für ein weiteres nicht vorhersehbares PFOA-Derivat (Hauptprodukt, Peak 9). Die Peakhöhe des unbekanntes Hauptprodukts war zwanzigmal größer, als die des PFOA-Ethylesters.

Der Peak Nr. 10 zeigte zwar die gleiche Retentionszeit wie Peak Nr. 8 (PFOA-Ethylester), das Massenspektrum mit dem Hauptfragment-Ion bei m/z 73 wies aber darauf hin, dass dieses Signal von der GC-Säule kam.

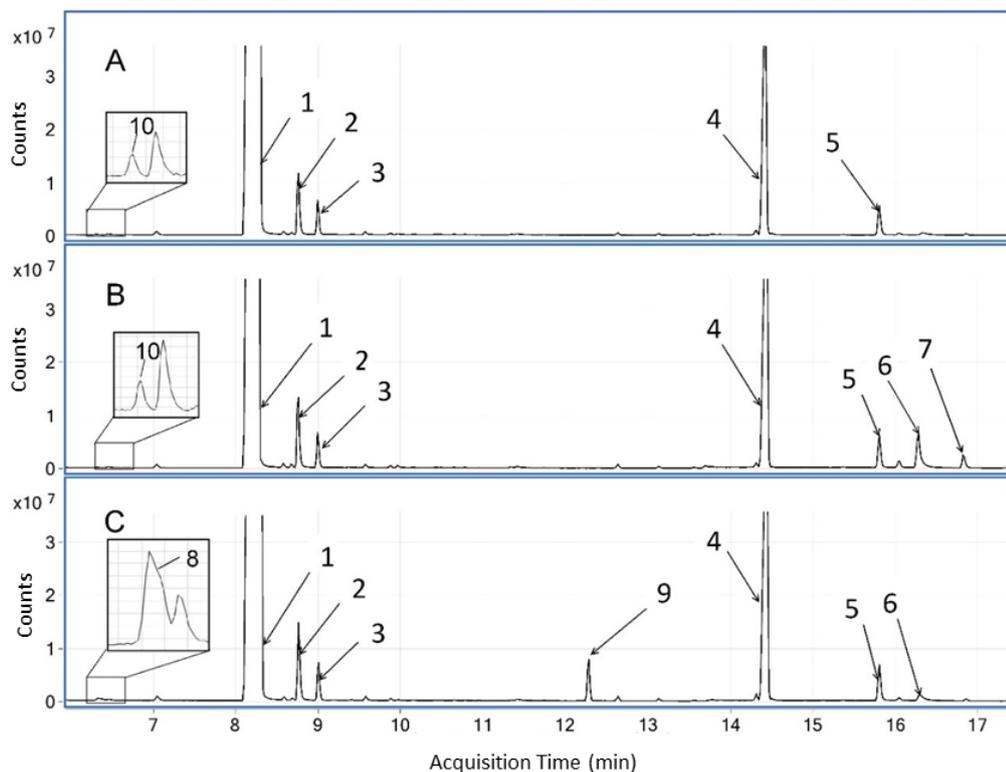


Abbildung 35 Die Reaktionsprodukte der Derivatisierung mit DMF-DEA. A: Blindprobe, B: Derivatisierung von Oktansäure, C: Derivatisierung von PFOA [166].

Um die Reaktionsprodukte eindeutig zu identifizieren, wurden deren Massenspektren genauer analysiert. Das EI-Massenspektrum des Oktansäure-Derivates (Peak 7), wurde in Abbildung 36A dargestellt. Das Molekül-Ion $[M]^+$ wurde bei m/z 172 beobachtet. Das Auftreten der Fragment-Ionen bei m/z 157, $[M-Me]^+$, m/z 143, $[M-Et]^+$ und m/z 127, $[M-OEt]^+$, wurde als erwartete Fragmentierung des Ethylesters erkannt. Darüber hinaus konnten die Signale bei m/z 88 und m/z 101 den Produkten der McLafferty-Umlagerung bzw. γ -Spaltung zugeordnet werden, die für den Carbonsäureethylester charakteristisch sind [145]. Diese Zuordnung zu Oktansäureethylester wurde auch durch den Vergleich mit der NIST Massenspektraldatenbank bestätigt.

Das Massenspektrum von PFOA-Ethylester befindet sich in Abbildung 36B. Das Molekül-Ion konnte bei m/z 442 nicht nachgewiesen werden. Stattdessen war im Spektrum ein $[M-H]^+$ Ion bei m/z 441 sichtbar. Diese Verbindung unterlag einer typischen Fragmentierung durch den Verlust einer Ethylgruppe, die zu einem Fragment-Ion bei m/z 413 führte [124]. Der Rest des Spektrums, wurde von Perfluoralkylfragment-Ionen dominiert, d. h. einer Reihe von Peaks, die bei m/z 69 begannen und sich um $\Delta=50$ unterschieden, was der Masse des CF_2 Fragments

entspricht. Die Ionen mit m/z bei 69, 100, 119, 131, 169, 219, 231 und 281 passen zu den Fragmentierungsmustern der perfluorierten Kette, welche bereits in der Literatur beschrieben wurden [123,124,162].

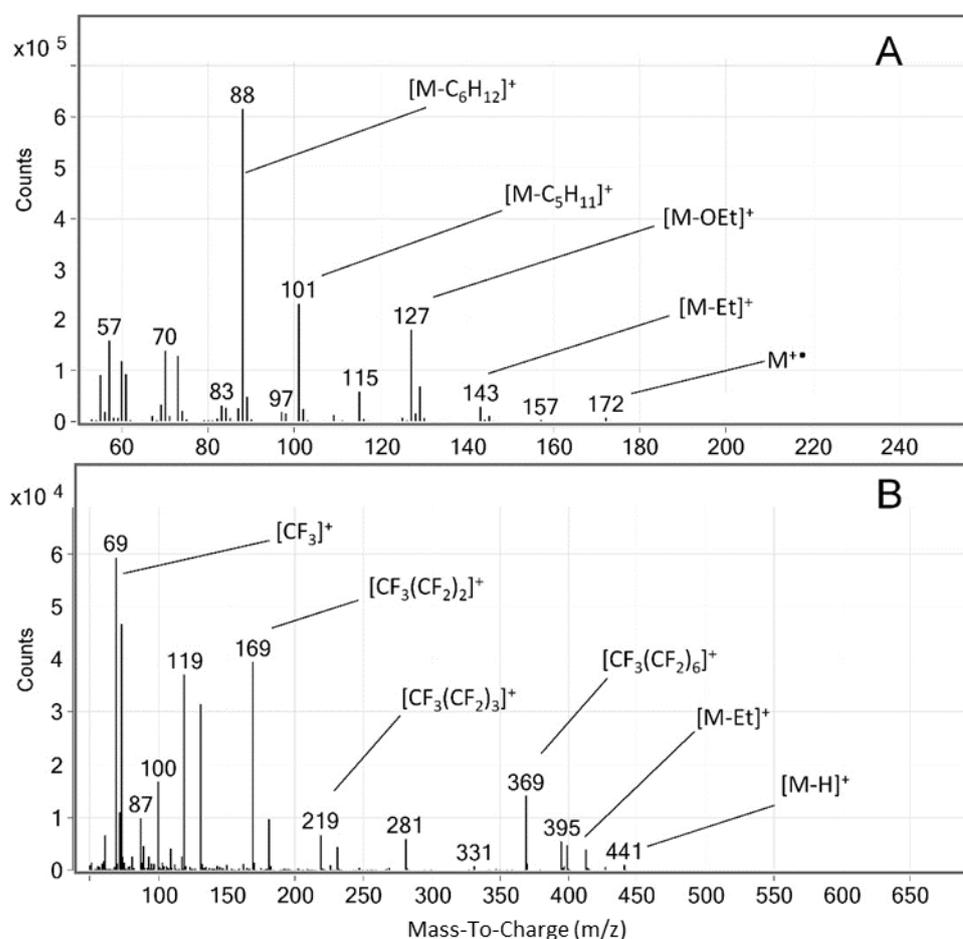


Abbildung 36 70 eV EI-Massenspektren extrahiert aus GC-MS-Daten. A: Ein Massenspektrum von Oktansäureethylester, MW = 172 u, und B: Ein Massenspektrum von PFOA-Ethylester, MW 442 u [166].

Das EI-Massenspektrum des Hauptprodukts der PFOA-Derivatisierung (Peak 9, Abbildung 35C) unterschied sich deutlich von dem des Esters, durch eine geringere Anzahl an Fragment-Ionen. Der Basispeak wurde bei m/z 426 beobachtet (Abbildung 37). Die Massendifferenzen zu m/z 407 (Verlust von 19 u, F^*), m/z 376 (Verlust von 50 u, CF_2) wiesen darauf hin, dass diese Fragment-Ionen zur Fragmentierung der perfluorierten Kette gehörten. Das Ion bei m/z 469 erschien nicht zur gleichen Retentionszeit in der Blindprobe, was darauf hinwies, dass dieses Ion zu dem Reaktionsprodukt gehört. Es konnte im weiteren Verlauf der Forschung, einem Fragment-Ion $[M-H]^+$ zugeordnet werden. Die Masse der gesuchten Verbindung betrug somit 470 u.

Der Basispeak bei m/z 426 stellt das primäre Hauptfragment-Ion dar. Die Fragment-Ionen, die für eine perfluorierte Kette charakteristisch sind, z. B. $[\text{CF}_3]^+$ (m/z 69) oder $[\text{CF}_3(\text{CF}_2)_2]^+$ (m/z 169), konnten in diesem Spektrum ebenfalls beobachtet werden. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt, kann das Spektrum weder einem erwarteten Reaktionsprodukt zugeordnet werden, noch kann die Struktur der Verbindung allein auf der Grundlage der EI-Daten aufgeklärt werden.

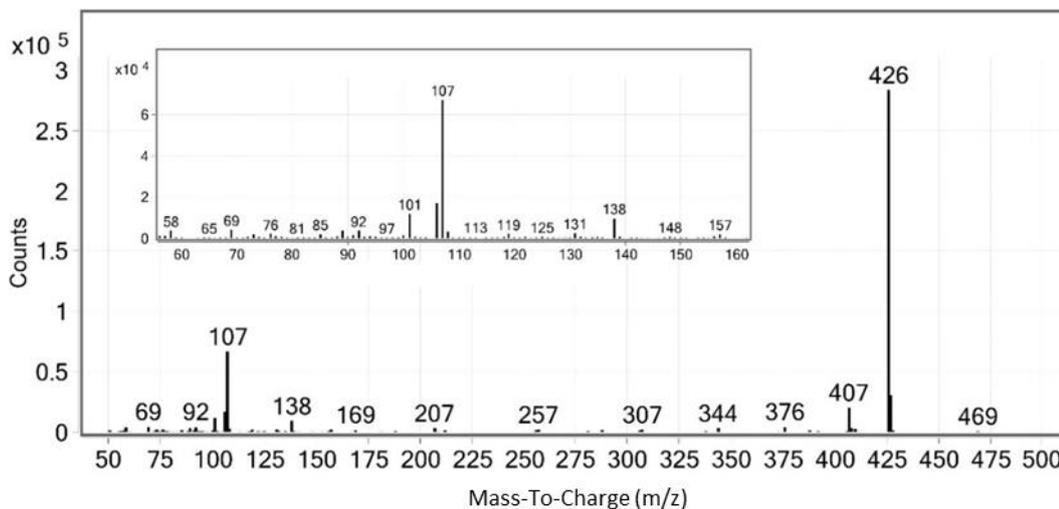


Abbildung 37 Das EI-Massenspektrum des unbekannten PFOA-Derivatisierungsproduktes, korreliert mit dem Peak 9 im Chromatogramm in der Abbildung 35 [166].

Da das Hauptprodukt der Reaktion von PFOA mit DMF-DEA kein Ester sein kann, wurden weitere Untersuchungen zur Strukturaufklärung durchgeführt. Um die Retentionszeiten und Massenspektren der Hauptprodukte zu vergleichen, wurde PFOA mit DMF-DMA und DMF-DEA derivatisiert (siehe 9.9).

In Abbildung 38 wurden die Chromatogramme beider Reaktionen dargestellt. In beiden Chromatogrammen wurde der gleiche Peak (Hauptprodukt) gefunden, der mit Nummer ,1‘ markiert wurde. Die Retentionszeiten und Massenspektren dieses Peaks, wurden nach beiden Reaktionen als identisch befunden. Dies wies darauf hin, dass sich in beiden Reaktionen das gleiche Produkt gebildet hat. Auf dem Chromatogramm nach der Derivatisierung mit DMF-DEA war noch ein zusätzlicher kleiner Peak (,2‘) sichtbar, der als PFOA-Ethylester identifiziert wurde. Nach der Reaktion mit DMF-DMA konnte kein Peak des PFOA-Methylesters gefunden werden, da diese Verbindung eine kürzere Retentionszeit aufweist, und somit der Methylester zusammen mit dem Lösungsmittel eluiert.

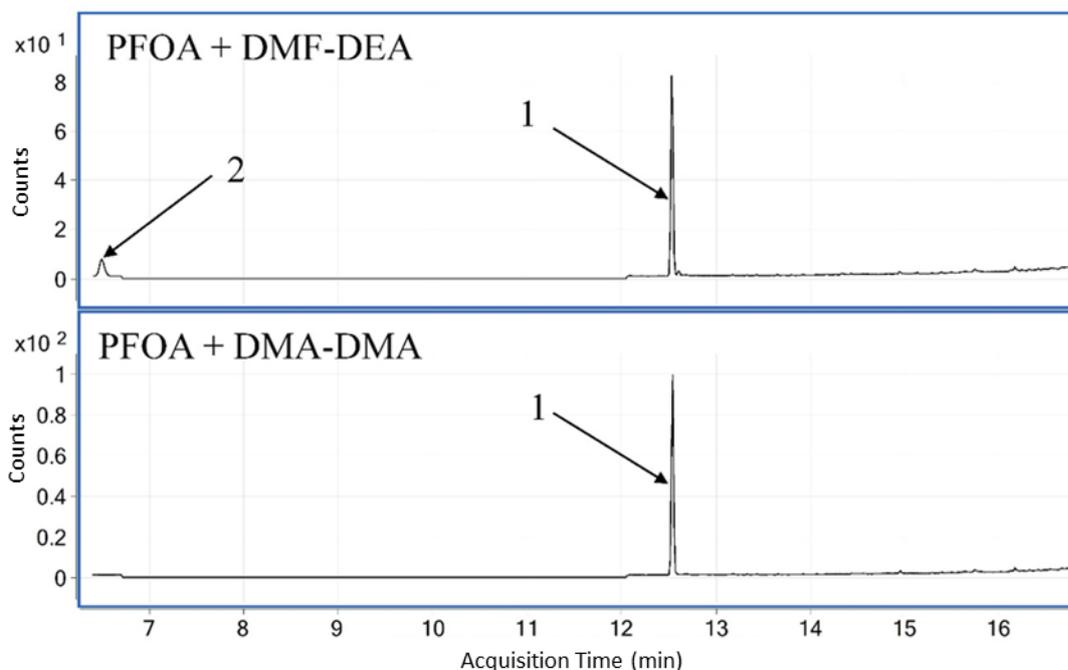


Abbildung 38 Chromatogramme zweier Proben nach der Derivatisierung von PFOA mit DMF-DEA (oben) und DMF-DMA (unten).

Für das Hauptprodukt der Reaktion von PFOA mit DMF-DEA, wurde zusätzlich eine GC-Messung mit einer anderen Ionisationstechnik (Positive Chemische Ionisation, PCI) durchgeführt (siehe Methode 9.14.4). In diesem Spektrum wurde das gleiche Hauptfragment-Ion wie bei der EI-Messung beobachtet. Außer dem Fragment-Ion bei m/z 426 wurden auch größere Fragment-Ionen bei m/z 442 und 451 beobachtet, jedoch konnte das Fragment-Ion bei m/z 107 nicht gefunden werden. Das PCI-Spektrum des PFOA-Derivates befindet sich in Abbildung 39.

Die Hypothese, dass die Masse der Verbindung 470 u beträgt, wird durch die Massendifferenzen von Fragment-Ionen bei m/z 451 (Verlust von 19 u, F^{*}) und m/z 442 (Verlust von C₂H₄, 28 u,) gestützt. Alternativ könnte das Signal bei m/z 442 auch auf ein Fragment [M+H-Et]⁺ hinweisen.

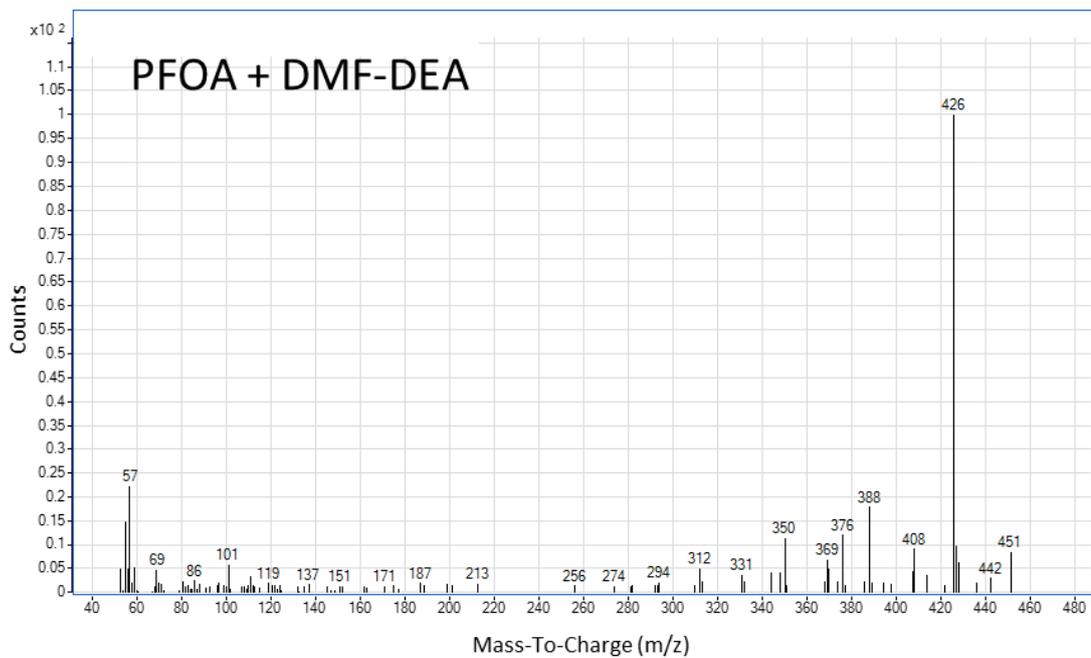


Abbildung 39 PCI Messung von PFOA nach der Reaktion mit DMF-DEA mit Methan als Reagenzgas.

7.2. Identifizierung des Reaktionsproduktes

Das unbekannte Produkt der PFOA nach der Reaktion mit DMF-DMA, wurde einer genauen Massenanalyse unterzogen. Unter der Annahme, dass es sich bei dem unbekanntem Produkt um ein polares Molekül handelt, wurde die Probe zunächst mit einer Elektrospray-Ionisation (ESI) im positiven Ionenmodus gemessen (Methode siehe 9.17). Das Ergebnis dieser Messung befindet sich in Abbildung 40.

Das ESI-Spektrum lieferte nur ein Signal bei m/z 615.1812, dass leider nicht mit dem EI-Ergebnis korreliert werden konnte. Während das Vorläufer-Ion selbst, bei einer Kollisionsspannung von nur 5 V aus dem Spektrum verschwand, zeigte das Tandem-Massenspektrum dieses Ions kein Fragment-Ion über m/z 180. Dies weist sowohl auf eine energiearme Zersetzung des Vorläufers, als auch auf die Bildung eines massearmen Fragment-Ions hin.

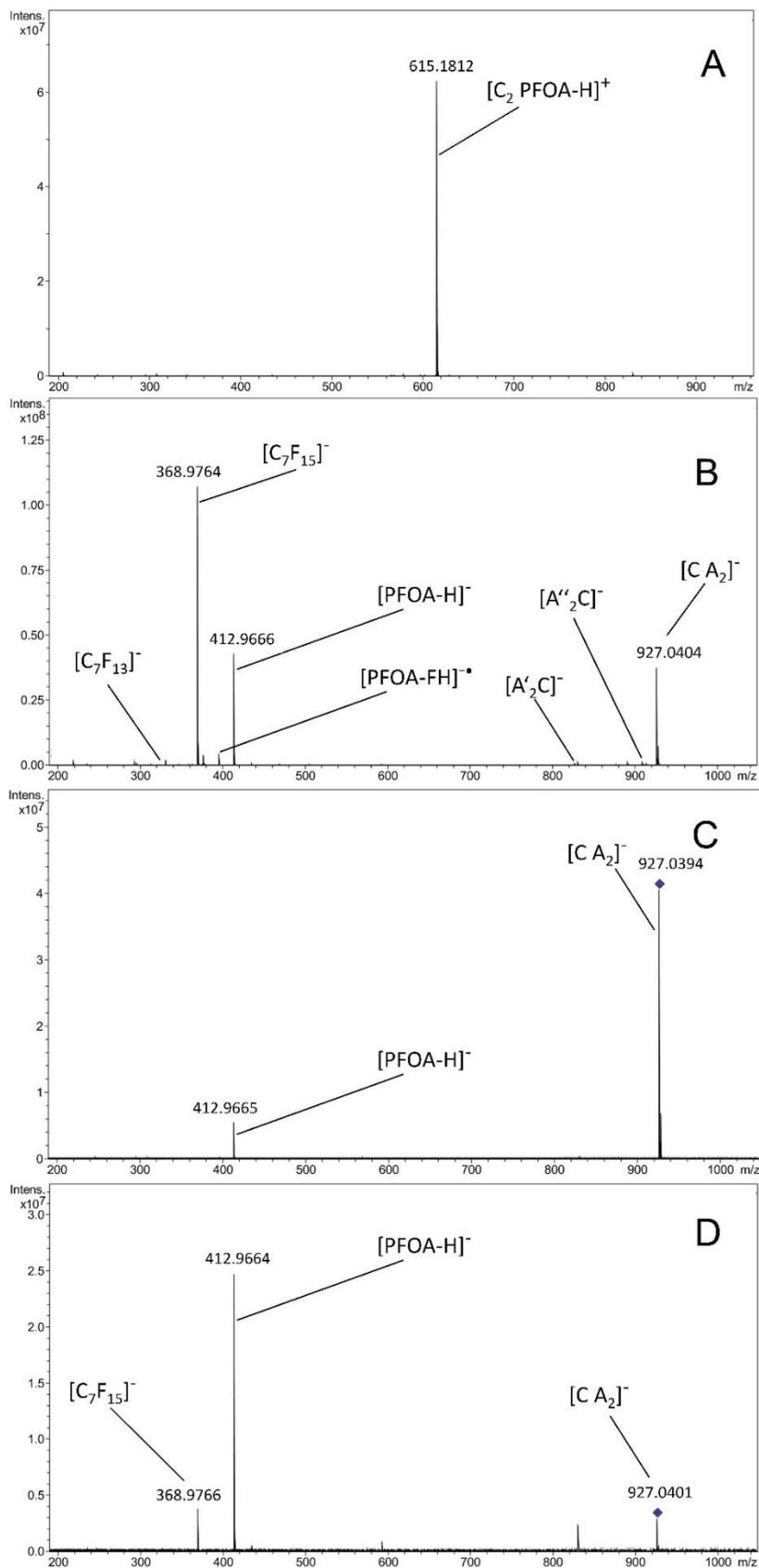


Abbildung 40 ESI-Massenspektren des Derivatisierungsprodukts. A: Ein ESI-Spektrum mit positiven Ionen, B: ein ESI-Spektrum mit negativen Ionen, C: Isolierung des Vorläuferions bei m/z 927 ergibt bereits einen Fragment-Ionenpeak mit niedriger Intensität bei m/z 413 und D: Tandem-Massenspektrum des Ions bei m/z 927 bei einer Kollisionsspannung von 5 V [166].

Durch eine nachfolgende ESI-Analyse im Negativ-Ionen-Modus konnte erkannt werden, dass das Ion bei m/z 615.1812 nicht dem $[M+H]^+$ Ion eines Moleküls entsprach. Eine Bestätigung dieser Annahme könnte sein, dass im negativen ESI, kein entsprechendes $[M-H]^-$ Ion gefunden wurde. Stattdessen zeigte das negative ESI das intensivste Signal bei m/z 368.9764 (Abbildung 40B).

Weitere Signale mit relevanter Intensität wurden bei m/z 412.9666 und bei m/z 927.0404 beobachtet. Einige andere Peaks, beispielweise bei m/z 330.9800 und m/z 376.9855, zeigten signifikant niedrigere Intensitäten. Das Signal bei m/z 412.9666 konnte eindeutig als $[PFOA-H]^-$ Ion identifiziert werden. Seine strukturelle Zusammensetzung wurde als $[C_8F_{15}O_2]^-$ bei m/z 412.9664 berechnet. Der Verlust von CO_2 aus dem $[PFOA-H]^-$ Ion ergab ein $[C_7F_{15}]^-$ Fragment-Ion bei m/z 368.9764 (berechnet 368.9766). Der anschließende Verlust eines Fluor-Moleküls aus $[C_7F_{15}]^-$ führte zu einem Fragment-Ion bei m/z 330.9800 (berechnet für $[C_7F_{13}]^-$ m/z 330.9798). Der Verlust von $F^•$ aus $[PFOA-H]^-$ ergab ein Fragment-Ion bei m/z 394.9761 (berechnet für $[PFOA-FH]^-$ m/z 394.9758).

Aus diesen Daten ist nun klar, dass PFOA einen relevanten Teil der unbekanntem Fragment-Ionen liefert. Daraus konnte geschlossen werden, dass das PFOA-Anion $[PFOA-H]^-$ ein Bestandteil eines Cluster-Ions darstellt. Das Signal bei m/z 927.0404, konnte dem $[CA_2]^-$ Cluster-Ion zugeordnet werden. Diese Hypothese führte zu einer möglichen elementaren Zusammensetzung von $[C_{21}H_{13}F_{30}N_2O_4]^-$ (berechnet 927.0402). Zwei weitere Signale bei m/z 891.0604 und m/z 909.0511 konnten einem $[CA'_2]^-$ Cluster und einem $[CA''_2]^-$ Cluster zugeordnet werden. Diese Signale entsprechen folgende Strukturformel: $[(C_8HF_{14}O_2)_2C]^-$ (berechnet 891.0590) und $[(C_8F_{15}O_2)(C_8HF_{14}O_2)C]^-$ (berechnet 909.0496). Diese Annahme wurde zudem durch die Tandem-MS des Ions bei m/z 927 gestützt (Abbildung 40D).

Aus diesen Daten konnte geschlossen werden, dass das Kation des $[CA_2]^-$ Cluster-Ions eine nominelle Masse von 101 u aufweist. Von der vorgeschlagenen Zusammensetzung $[C_{21}H_{13}F_{30}N_2O_4]^-$ wurden die Bestandteile von zwei PFOA-Anionen abgezogen. Auf diese Weise konnten die übrigen Bestandteile dieser Formel $[C_5H_{13}N_2]^+$ dem Kation des Clusters-Ions zugewiesen.

Zur Bestätigung der ESI Ergebnisse, wurde die Probe nach der Reaktion sowohl im Positiv- als auch im Negativ-Ionen-Modus einer DART Technik unterzogen

(Methode siehe 9.18). Ähnlich wie bei der ESI, ergab das DART-Spektrum mit positiven Ionen nur ein Signal bei m/z 615.1801 (Abbildung 41A).

Die negativen-Ionen DART Analyse zeigte das am häufigsten vorkommende Ion bei m/z 412.9665, das zuvor als $[\text{PFOA-H}]^-$ identifiziert wurde. Dieses Signal wurde von einem zweiten Peak bei m/z 927.0401 und einem dritten bei m/z 368.9767 begleitet. Das Fragment-Ion bei m/z 368.9767 konnte durch den Verlust von CO_2 aus dem $[\text{PFOA-H}]^-$ Ion gebildet werden. Ein weiterer Peak mit relevanter Intensität wurde bei m/z 826.9404 beobachtet.

Während das Signal bei m/z 927.0401 demselben $[\text{CA}_2]^-$ Cluster-Ion zugeordnet werden konnte, das bereits bei der ESI identifiziert wurde, hatte das Signal bei m/z 826.9404 kein entsprechendes Ion im ESI-Spektrum. Die vorgeschlagene Elementzusammensetzung von $[\text{C}_{16}\text{HF}_{30}\text{O}_4]^-$ (berechnet 826.9401) weist auf die Bildung von $[\text{PFOA}_2\text{-H}]^-$ Cluster-Ionen hin. Die Tandem-MS Analyse des Ions bei m/z 615 ergab nur ein Signal mit einer bemerkenswerten Intensität bei m/z 615.1801 (Abbildung 41B).

Die DART-Ergebnisse stimmten mit den Ergebnissen der ESI-Spektren überein und deuten stark auf die Bildung eines massenarmen Kations, mit der Zusammensetzung $[\text{C}_5\text{H}_{13}\text{N}_2]^+$, hin.

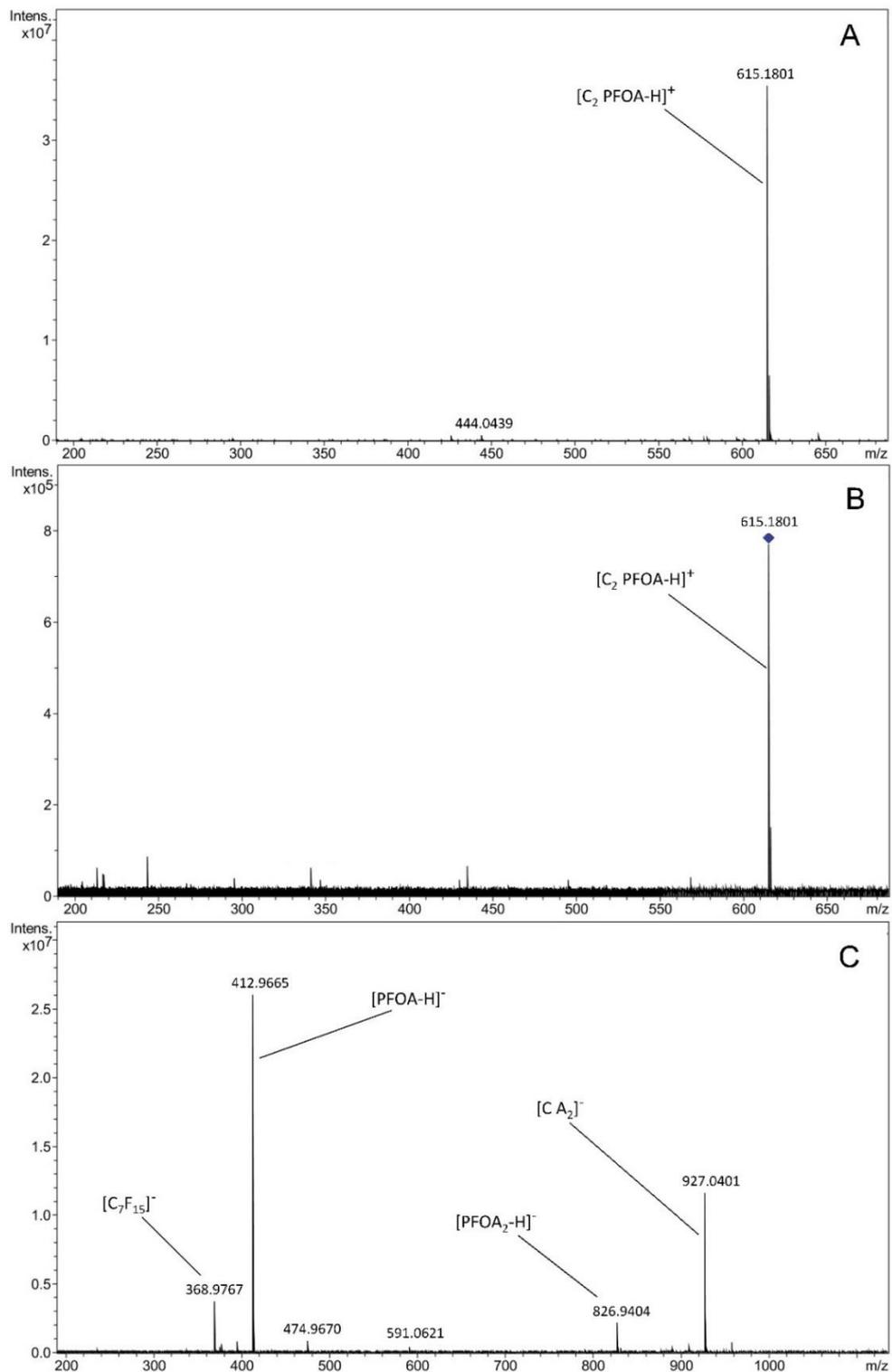


Abbildung 41 DART-Massenspektren des Derivatisierungsprodukts. Ein positives DART-Ionenspektrum, B-Tandem-Massenspektrum des Ions bei m/z 615 bei 5 V Kollisionsoffset-Spannung, C negatives DART-Ionenspektrum [166].

Während die ESI- und DART-Massenspektren der Annahme entsprachen, dass es sich bei der unbekannt Substanz um ein Salz handelte, konnten keine endgültigen Beweise für diese Zusammensetzung geliefert werden. Ein Grund dafür ist dass das FT-ICR-Instrument nicht im Bereich unter m/z 180 messen kann. Um diese Annahme

zu stützen, wurden Liquid Injection Field Desorption/Ionization (LIDFI) Spektren mit einem TOF-Massenspektrometer aufgenommen (Methode 9.19). Mit diesem Instrument können die Ionen in diesem niedrigen Bereich nachgewiesen werden. Die Felddesorption (FD) ist für die Analyse organischer Salze $[C^+A^-]$ gut etabliert und liefert bekanntermaßen Signale, die dem intakten Kation C^+ entsprechen. Typischerweise werden dieses von Cluster-Ionen der allgemeinen Zusammensetzung $[C_nA_{n-1}]^+$ begleitet [167,168].

Der Unterschied zwischen FD und LIFDI besteht hauptsächlich darin, wie die Emitterladung erreicht wird [169] und ist daher für die Aufklärung dieses Themas irrelevant, da die LIFDI ansonsten dasselbe Verhalten aufweist [170]. Zudem können FD und LIFDI Molekül-Ionen von fast jeder Verbindung, bis zu einer Masse von etwa 2000 u, liefern [171,172]. Falls es sich bei der unbekannt Substanz um kein organisches Salz handelte, würde daher die Molekularmasse der Verbindung auch durch dieses Experiment aufgedeckt werden.

Die Durchführung des Experiments ergab ein LIFDI-Spektrum mit einem Basispeak bei m/z 101.12, der dem $[C_5H_{13}N_2]^+$ Iminium-Kation zugeordnet werden konnte (Abbildung 42). Erwartungsgemäß wurde dieses Signal von einem zweiten Peak bei m/z 615.15 (Intensität 20.5%) und einem dritten, bei m/z 1129.20 (Intensität 0.3%) begleitet. Diese konnten den $[C_2A]^+$ und $[C_3A_2]^+$ Cluster-Ionen mit folgenden Strukturformel: $[(C_5H_{13}N_2)_2 PFOA]^+$ und $[(C_5H_{13}N_2)_3 PFOA_2]^+$ zugeordnet werden. Das LIFDI-Experiment zeigte außerdem, dass während des Derivatisierungsprozesses keine molekulare Verbindung gebildet wurden.

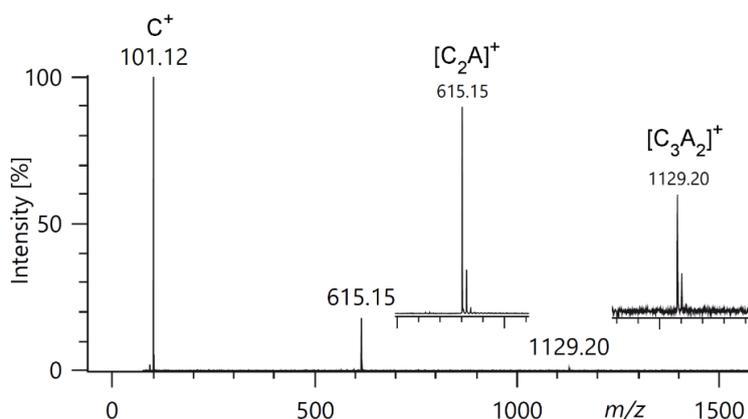


Abbildung 42 LIFDI-Massenspektrum des vermuteten Salzes, welches bei der Derivatisierung von PFOA gebildet wird. Der intensivste Peak bei m/z 101.12 entspricht dem Iminium-Kation $[C_5H_{13}N_2]^+$. Die anderen bei m/z 615.15 und m/z 1129.20 können $[(C_5H_{13}N_2)_2 PFOA]^+$ und $[(C_5H_{13}N_2)_3 PFOA_2]^+$ Cluster-Ionen zugeordnet werden. Die Einschübe zeigen vergrößerte Ansichten der Cluster-Ionen-Peaks [166].

Um die Möglichkeit auszuschließen, dass das Ion bei m/z 101.12 durch eine gewisse Fragmentierung des DMF-DMA Molekül-Ions entsteht, wurde ein Kontrollexperiment durchgeführt. Aufgrund der Flüchtigkeit von DMF-DMA wurde diese Verbindung im FI-Modus gemessen, indem die gasförmige Probe über die Transferkapillare dem Emitter zugeführt wurde. Das FI-Spektrum zeigte das Molekül-Ion $[\text{C}_5\text{H}_{13}\text{NO}_2]^+$ bei m/z 119.10 als Basispeak. Der begleitende Peak bei m/z 88.09, kann durch Verlust von CH_3O^+ einem Fragment-Ion zugeordnet werden. Dieses Experiment hat gezeigt, dass bei der Messung von reinem DMF-DMA kein Peak bei m/z 101 auftritt.

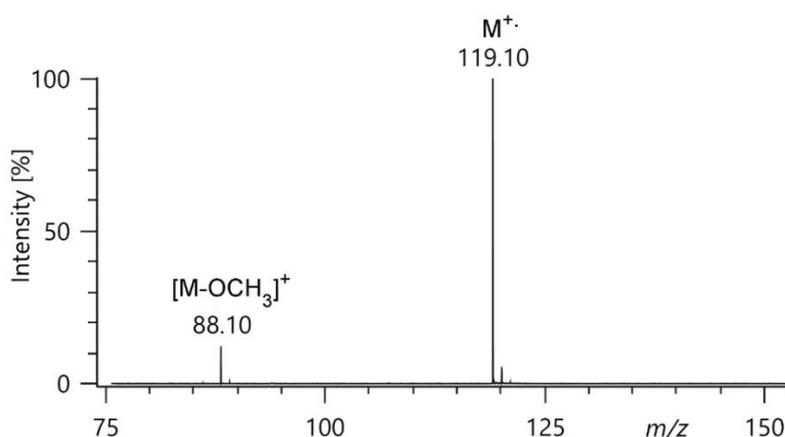


Abbildung 43 FI-Massenspektrum von DMF-DMA. Das Molekül-Ion $[\text{C}_5\text{H}_{13}\text{NO}_2]^+$ wird bei m/z 119.10 beobachtet, der Peak bei m/z 88.10 kann durch Verlust von CH_3O^+ einem Fragment-Ion zugeordnet werden. Bei m/z 101 ist kein Signal sichtbar [166].

Das Derivatisierungsmittel (DMF-DMA) unterliegt in Gegenwart von Perfluorcarbonsäure eindeutig einer Umlagerung und bildet ein sehr stabiles Kation, welches bei m/z 101 nachgewiesen werden kann. Mit diesen Erkenntnissen konnten die GC-MS-EI Daten im Lichte dieser Interpretation überarbeitet werden, um zusätzliche Informationen zu liefern. Zu diesem Zweck wurden die Nebenprodukte der Reaktionen mit GC-MS untersucht (Derivatisierungsmethode siehe 9.7). Das Ergebnis einer Reaktion von PFOA mit DMF-DEA befindet sich in Abbildung 44. Der Peak von Triethylorthoformiat wurde mit Nr. 4 markiert. Der Peak Nr. 2 entspricht dem PFOA-Ethylester. Die Peaks Nr. 1 und 3 wurden als Ethyl-N-ethylcarbammat und Ethyldimethylcarbammat identifiziert. Die Identifizierung der Nebenprodukte wurde mittels der NIST-Datenbank durchgeführt.

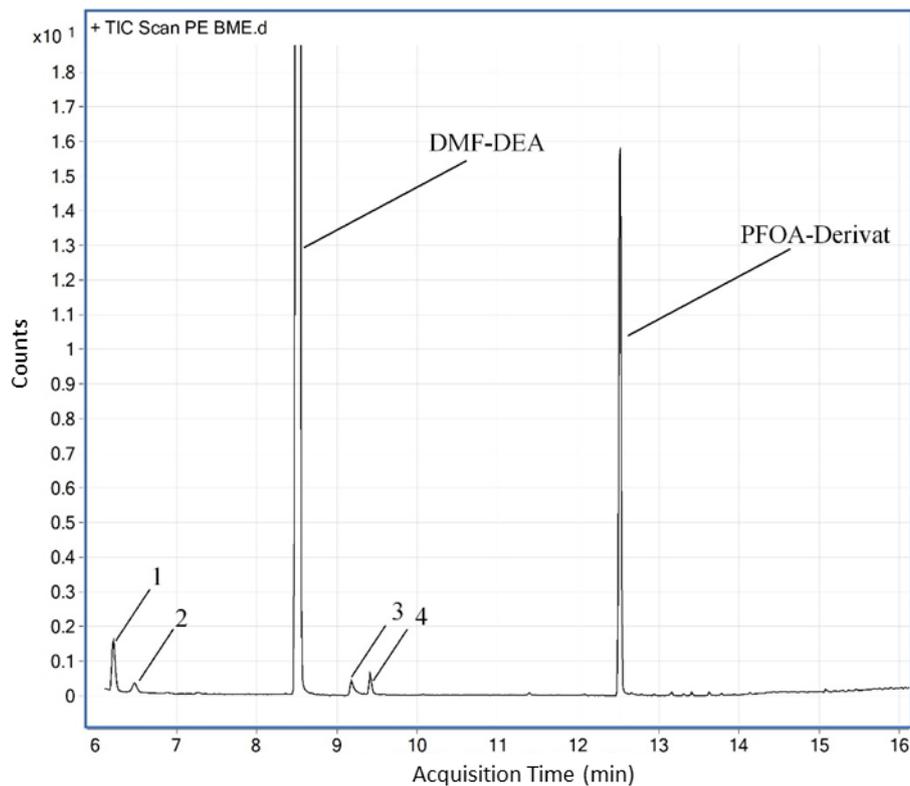


Abbildung 44 Chromatogramm der Reaktionsprodukte der PFOA mit DMF-DEA.

Die Nebenprodukte einer Reaktion mit DMF-DMA können eine sehr kleine Masse besitzen und weisen damit eine kurze Retention auf der HP-5ms Säule auf. Daher wurde zusätzlich eine Analyse mit einem Varian GC-MS System durchgeführt, welches mit einer anderen Säule (DB-WAXetr) ausgestattet war (Methode siehe 9.15). Eines der gefundenen Nebenprodukte der Reaktion mit DMF-DMA war Trimethylorthoformiat. In analoger Weise wurde bei der Reaktion mit DMF-DEA Triethylorthoformiat beobachtet (Abbildung 45).

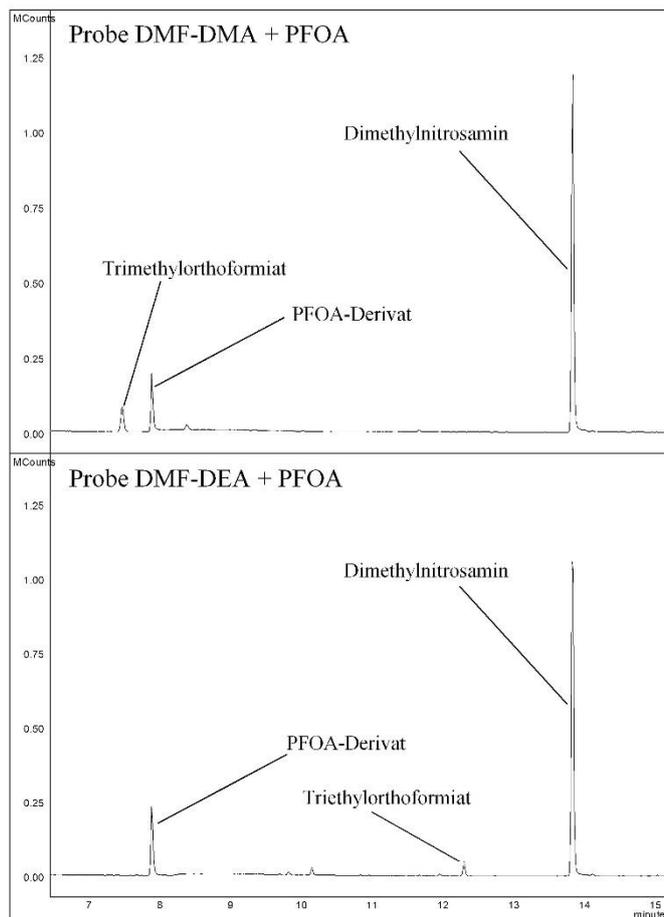
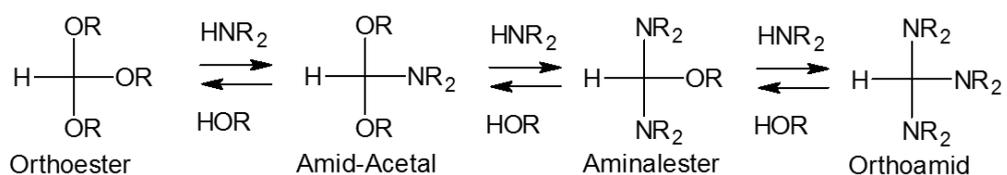


Abbildung 45 Chromatogramme der Produkte der PFOA Reaktion mit DMF-DMA und DMF-DEA nach der Trennung in einer DB-WAXetr Säule.

Aus diesen Messungen wurden neue Erkenntnisse gewonnen. Um ein Trimethylorthoformiat zu bilden, tauschen zwei DMF-DMA-Moleküle eine Methoxy- und eine Dimethylaminogruppe aus. Eine solche Reaktion kann unter sauren Bedingungen stattfinden, bei denen DMF-DMA eine Methoxy-Gruppe, unter Bildung eines Alkylorthoesters verliert, während die freie Dialkylaminogruppe einen Aminalester bildet. Ähnliche Gleichgewichtsreaktionen wurden bereits von Scheeren et al. [173], Winberg et al. [174] und Wicherink (Schema 1) beschrieben.



Schema 1 Gleichgewichtsreaktion zwischen Orthoester und Orthoamid [166,175].

Carbonylgruppe (1694 cm^{-1}) zeigte einen sehr breiten Peak und konnte daher leicht von ihren Salzen unterschieden werden. Die IR-Absorption der in den Reaktionsprodukten vorhandenen Carbonylgruppen mit TBAOH und DMF-DMA trat bei niedrigeren Wellenzahlen auf, d. h. bei 1692 cm^{-1} bzw. 1689 cm^{-1} . Dies weist auf eng verwandte Strukturen beider Produkte hin und kann daher als weitere Bestätigung einer Ionenstruktur des unbekanntes Produkts angesehen werden.

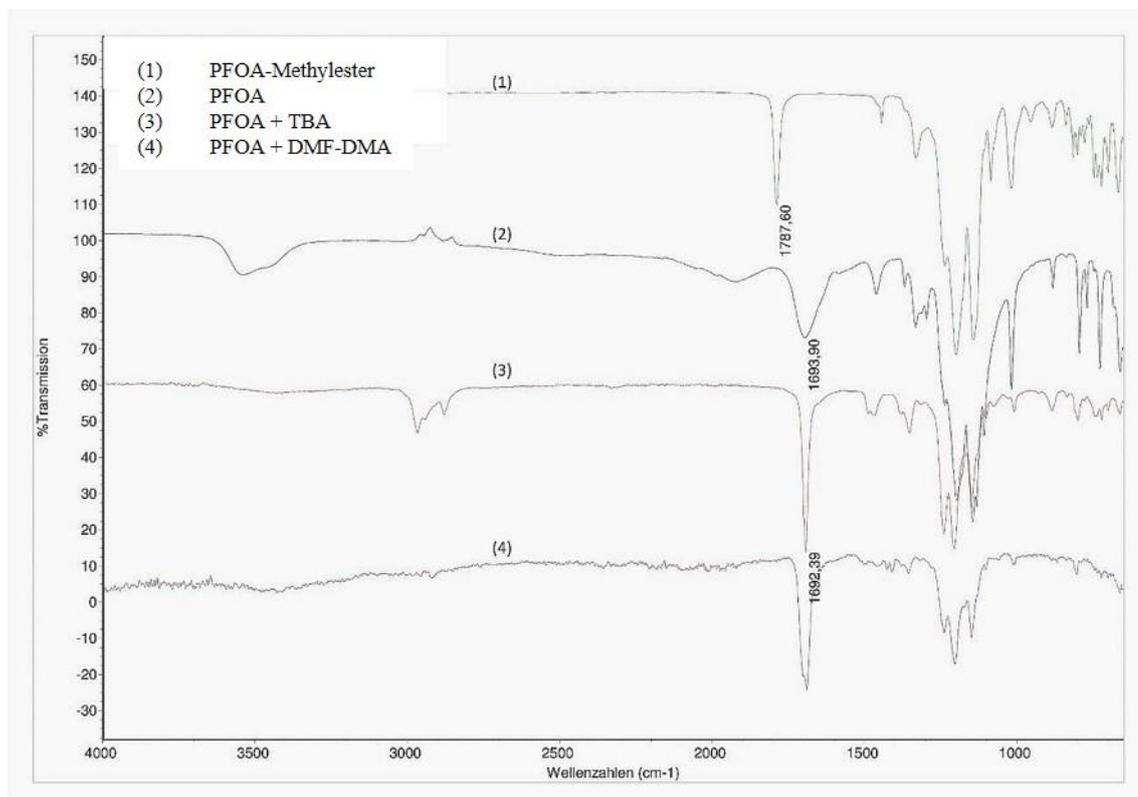


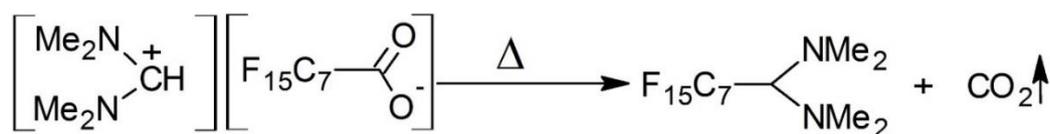
Abbildung 46 FTIR-Spektrum von PFOA, PFOA-Methylester und Reaktionsprodukten von PFOA mit Tetrabutylammoniumhydroxid und DMF-DMA.

Bisher wurden die Reaktionen der PFOA mit DMF-DMA bei der Raumtemperatur durchgeführt. Um den Einfluss der Temperatur auf diese Reaktion zu untersuchen, wurden die Proben (PFOA + DMF-DMA) nach der Inkubation der Probe bei $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ für 30 Minuten und bei $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ für 15 Minuten mit einer Probe verglichen, die nicht erwärmt wurde. Die resultierenden Chromatogramme zeigten keinen Unterschied in den relativen Peakintensitäten oder Retentionszeiten. Diese Ergebnisse zeigten, dass die ausgewählten Temperaturen keinen Einfluss auf die Salzbildung hatten.

Ein Salz, welches aus PFOA und DMF-DMA gebildet wird, kann jedoch nicht in dieser Form mittels GC-MS nachgewiesen werden. Eine weitere Reaktion muss innerhalb des Injektionsblocks des GC erfolgen. Es kann ausgeschlossen werden, dass sich das Salz zersetzt, da bei dieser Reaktion PFOA freigesetzt würde. In diesem Fall sollte ein breiter Peak von Perfluoroktansäure mit geringer Intensität beobachtet werden. Nach dieser Reaktion bildet sich jedoch ein scharfer Peak, der die Möglichkeit einer Salzzersetzung und der damit einhergehenden Bildung der freien Säure eindeutig ausschließt. Die Derivatisierungsreaktion eines PFCA-Tetrabutylammoniumsalzes in der Injektorkammer wurde schon in der Literatur beschrieben [68,178]. Bei einer solchen Reaktion wird ein Alkylester der entsprechenden Säure gebildet.

Die erste mögliche Reaktion in der Injektionskammer, die berücksichtigt wurde, war die Bildung eines Amids. Basierend auf den GC-MS EI-Massenspektren, hat die Struktur des Amids jedoch eine zu geringe Masse (441 u). Im EI-Spektrum wurde ein größeres Fragment-Ion bei m/z 469 beobachtet. Es konnten außerdem keine anderen sichtbaren Ionen der Fragmentierung eines Amids zugeordnet werden.

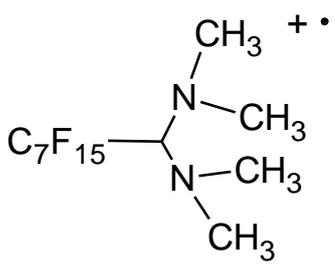
Die zweite mögliche Reaktion dieses Salzes im Injektor ist die Decarboxylierung. Das Phänomen des CO_2 -Verlusts aus einer Halogenessigsäure im GC-Injektor ist in der Literatur ausführlich beschrieben [179,180]. Das Produkt, welches in dieser Reaktion entsteht, ist in Schema 4 gezeigt. Die Temperatur der Injektionskammer (200-300°C) wurde mit dem Symbol Δ gekennzeichnet.



Schema 4 Die Reaktion von PFOA-Salz in der Injektionskammer [166].

Die Ionen, die im EI-Massenspektrum dieses Produktes zu finden sind, können den Fragment-Ionen von 1,1-Perfluorooktyl-(N,N,N',N'-tetramethyl)-diamin (PFOA-DMA) zugeordnet werden. Die wichtigsten im EI-Massenspektrum sichtbaren Fragmente sind in Tabelle 17 dargestellt.

Tabelle 17 EI-Fragmentierungsmuster von derivatisierter PFOA

PFOA-DMA, Masse 470 u			
			
Abgangsgruppe		Fragment-Ion	
Masse [u]	Struktur	<i>m/z</i>	Struktur
1	H [•]	469	$[C_7F_{15}-C-(NMe_2)_2]^+$
44	NMe ₂ [•]	426	$[C_7F_{15}-CH-NMe_2]^+$
63	FNMe ₂	407	$[(CF_2)_7=CH-NMe_2]^+$
332	C ₇ HF ₁₃ [•]	138	$[Me_2N-CF_2-NMe_2]^+$
363	CF ₃ CF ₂ NMe ₂	107	$[CF_2=CH-NMe_2]^+$

Das Ion bei m/z 469 entspricht einem $[M-H]^+$ Fragment-Ion, dass auf zwei Arten entstehen kann. Die erste Möglichkeit ist in Tabelle 17 dargestellt, dabei wird ein Wasserstoff-Atom von dem tertiären Kohlenstoff-Atom abgespalten. Eine weitere Möglichkeit ist eine für die Amine charakteristische α -Spaltung [144]. In diesem Fall wird ein Wasserstoff aus einer Methylgruppe des Moleküls entfernt. Diese α -Spaltung führt bei tertiären Aminen zu zwei, bzw. drei Tochter-Ionen [144]. In dieser Verbindung kann diese Spaltung verursachen, dass die C₇F₁₅-Gruppe aus dem Molekül entfernt wird. Dadurch entsteht ein Ion $[CH(NMe_2)_2]^+$, dass bei m/z 101 sowohl im EI Spektrum (Abbildung 37), als auch im PCI Spektrum (Abbildung 39) gefunden werden kann. Das in dem Massenspektrum dominierende Haupt-Ion mit m/z 426, entsteht durch den Verlust eines Aminodimethyl-Radikals. Die hohe Intensität im Spektrum resultiert aus der großen Stabilität des Ions. Darüber hinaus, sind in der Struktur zwei Aminodimethylgruppen vorhanden. Die Abspaltung jeder diesen Gruppen, bildet das gleiche Fragment-Ion bei m/z 426, was dazu führt, dass die Intensität des Signals erhöht ist. Die Aminbildung im Injektor, kann durch den CO₂-Verlust im Salz belegt werden.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Reaktion von PFCA mit DMF-Dialkylacetalen in zwei Schritten erfolgt: Zuerst wird ein Salz gebildet, welches bei der Injektion in das GC-MS System weiter reagiert. In der zweiten Reaktion wird das Salz unter CO₂-Abspaltung in ein Amin umgewandelt. Dieses ist dann auf dem Chromatogramm als ein symmetrischer, scharfer Peak zu finden. Aus diesem Grund kann man in dieser Reaktion Perfluorcarbonsäuren derivatisieren, um weiter eine qualitative und quantitative GC-MS Analyse durchzuführen.

7.3. Optimierung der Derivatisierungsreaktion

Für eine weitere Methodenentwicklung sollte eines von zwei untersuchten Derivatisierungsmitteln (DMF-DMA und DMF-DEA), ausgewählt werden. Mit der ausgewählten Verbindung sollte eine Analysemethode zur Bestimmung von PFCA erarbeitet werden. Es wurde festgestellt, dass DMF-DMA in der Säule deutlich kürzere Retentionen aufweist, als DMF-DEA und dadurch auf dem Chromatogramm nicht sichtbar ist. DMF-DEA kann als Peak mit der Retentionszeit von 8.7 min gefunden werden (Abbildung 44). Dieser Peak könnte in weiteren Analysen bei der Integration der Peaks stören. Aus diesem Grund wurde für die weitere Forschung und Optimierung DMF-DMA verwendet.

Zusätzlich zur Analyse von PFOA, wurden auch andere PFCA derivatisiert, um zu überprüfen, ob DMF-DMA auch mit anderen Perfluorcarbonsäuren in gleicher Weise reagiert. Zu diesem Zweck wurde eine Mischung aus zehn PFCA (100 µl PFPrA-PFDoDA Lösung, je 100 µg/ml), mit 50 µl 0.4 M DMF-DMA derivatisiert. Abbildung 47 zeigt ein extrahiertes Ionenchromatogramm (EIC) mit derivatisierten PFCA.

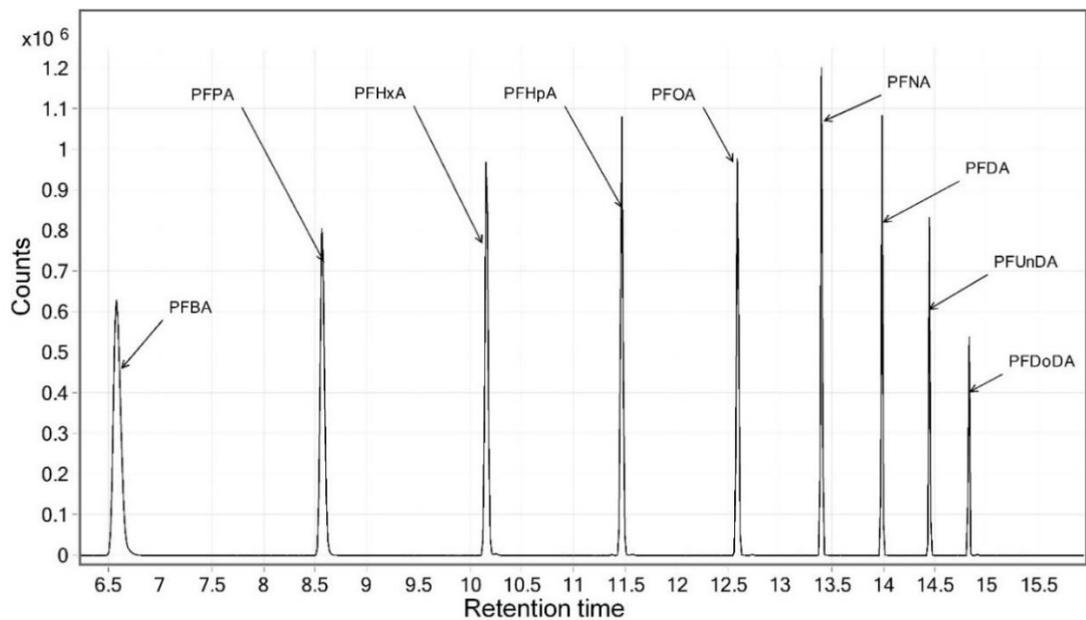


Abbildung 47 Überlagerung der extrahierten Ionenchromatogramme der PFCA von C4 bis C12 nach deren Reaktion mit DMF-DMA [166]. Für jeden Peak wurde ein Signal $[M-NMe_2]^+$ ausgewählt.

Die Retentionszeit des Perfluorpropionsäurederivat ist sehr kurz und eluiert daher mit dem Lösungsmittel. Aus diesem Grund, kann es bei der Messung mit der verwendeten GC-Säule nicht detektiert werden. Zusätzlich wurde die gleiche Analyse mit DMF-DEA anstelle von DMF-DMA durchgeführt. Wie erwartet, waren die Retentionszeiten und die Massenspektren aller Derivate, für beide Derivatisierungsmittel identisch.

Aufgrund der Tatsache, dass die Derivatisierungsreaktion im Injektor stattfindet, ist die Temperatur des Injektors ein sehr wichtiger Parameter bei der Analyse und sollte zunächst optimiert werden. Zur Optimierung der Injektionsbedingungen wurden fünf Temperaturen der Injektionskammer getestet: 220 °C, 225 °C, 250 °C, 275 °C und 300 °C. Für alle untersuchten PFCA, außer PFBA, wurden die höchsten Peaks bei 275 °C beobachtet (Abbildung 48). Aus diesem Grund wurde für alle weiteren Experimente 275 °C als Temperatur für die Injektionskammer festgelegt.

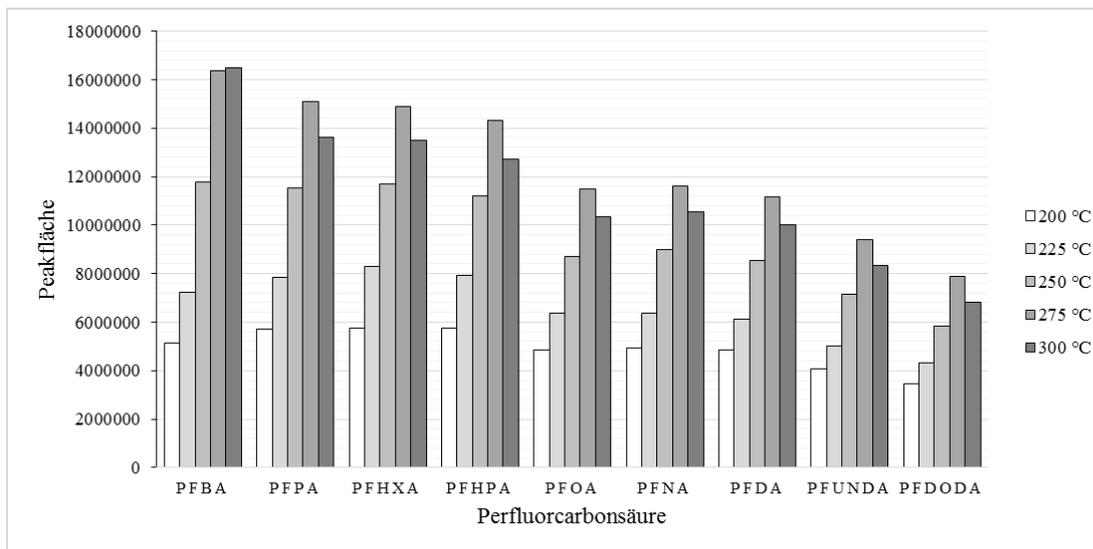


Abbildung 48 Einfluss der Injektionstemperatur auf die Peakflächen von PFCA nach der Reaktion mit DMF-DMA.

In der Spurenanalytik wird oft eine splitlose Injektion verwendet, um die maximale Signalintensität zu erreichen. In dieser Forschung konnte jedoch festgestellt werden, dass auch in Blindproben die PFCA Peaks zu beobachten sind. Dies führte dazu, dass in der Blindprobe die Peaks nach splitloser Injektion entsprechend höher waren. Somit konnte eine splitlose Injektion die Empfindlichkeit der Methode nicht verbessern und bietet keine Vorteile. Aus diesem Grund wurde eine Splitinjektion (1:5) für alle Analysen verwendet. Die Verhältnisse der Peakhöhen zwischen Blindproben und Proben, blieben unverändert und es wurden ähnliche NWG wie bei der gepulsten splitlosen Injektion erreicht. Der Vorteil einer Splitinjektion besteht darin, dass bei der Messung der realen Proben weniger Verunreinigungen in das GC-MS System gelangen. Auf Grund dessen kommt es zu weniger Verschmutzungen des Systems, insbesondere des Liners, der Säule und der Ionenquelle.

Als nächstes wurde eine Ermittlung der Abhängigkeiten der Reaktion von Lösungsmittel durchgeführt. Zu diesem Zweck wurde DMF-DMA in fünf verschiedenen Lösungsmitteln vorbereitet: Acetonitril, Aceton Methyl-*tert*-butylether (MTBE), Methanol, Pyridin und Toluol. Im Vergleich mit Acetonitril hat die Zugabe von Aceton zu zweimal höheren Produktpeaks geführt und signifikant die Peaks von Nebenprodukten reduziert (Abbildung 49). Es konnte ein zusätzliches Produkt (4-(Dimethylamino)-3-buten-2-on) detektiert werden, dass sehr nahe an den PFDODA-Derivat-Peaks eluierte. Darüber hinaus sind die Peaks der Probe mit MTBE höher, als

die Ergebnisse mit Aceton und Acetonitril und bildeten zudem kein ungewünschtes Nebenprodukt.

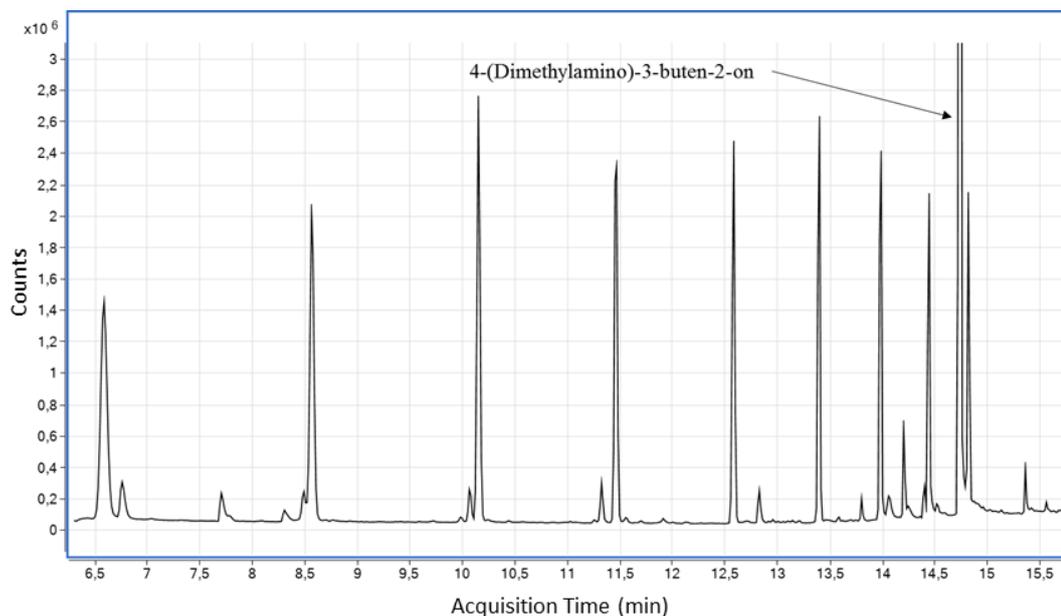


Abbildung 49 Die DMF-DMA Derivatisierung von PFCA nach der Zugabe von Aceton.

Wie vermutet, konnten mit Methanol fast keine sichtbaren Peaks in der Probe gemessen werden. Methanol ist ein geeignetes Lösungsmittel für die Konkurrenzreaktion – Umesterung der Säure. Pyridin, welches zusammen mit DMF-DMA in handelsüblichem Methyl-8[®]-Reagenz als Lösungsmittel verwendet wird, fördert ebenso wie Methanol die Bildung des Esters. Toluol erzeugt einige zusätzliche Peaks, die nicht weiter untersucht wurden. Es konnte lediglich festgestellt werden, dass diese Nebenprodukte einen aromatischen Ring in der Struktur besitzen, da typische Fragment-Ionen wie beispielweise m/z 91 detektiert werden konnten [145]. Aus diesem Grund, konnte MTBE als geeignetes Lösungsmittel für diese Reaktion festgelegt werden. Im weiteren Verlauf, wurde auch Hexan, als Lösungsmittel für die Messung im SIM-Modus getestet. Die Peaks unter Verwendung von Hexan als Lösungsmittel, waren ca. 10% höher als die Peaks nach der Reaktion mit MTBE. Dies führt zu der Erkenntnis, dass beide Lösungsmittel für die Reaktion verwendet werden können.

Wie bereits erwähnt, wiesen auch Blindproben immer Spuren von PFCA im System auf. Um dieses Problem zu beheben, wurde zunächst die Reinheit des Lösungsmittels (MTBE) überprüft. Die zusätzliche Destillation des Lösungsmittels

wurde durchgeführt, wobei jedoch kein Unterschied in den Blindwerten beobachtet werden konnte.

Die überwiegende Mehrheit der veröffentlichten Studien präsentierte Derivatisierung von PFOA nach der Verdampfung des Extrakts. Da es durch das Lösungsmittelabdampfen zum Verlust der Analyten kommen kann, wurde die Probe mit und ohne Lösungsmittelverdampfung gemessen, um mögliche Analytenverluste zu untersuchen. Eine PFCA-Lösung (1 ml, 5 ng/ml) in MTBE, wurde unter einem leichten Stickstoffstrom zur Trockne abgedampft und erneut in 100 µl MTBE gelöst, was zu einer Probenkonzentration von 50 ng/ml führte. Die Ergebnisse wurden mit einer Probe (50 ng/ml) verglichen, die nicht abgedampft wurde. Dabei konnte ein Verlust, der mit abnehmender Kettenlänge und Flüchtigkeit der Analyten korrelierte, beobachtet werden. Die niedrigsten Wiederfindungsraten wurden für die PFCA mit der kürzesten gemessenen Kettenlänge erzielt. Der Verlust von Analyten lag bei 89 % für PFBA und 73.3 % für PFPA. Bei langkettigen Säuren war der Verlust entsprechend kleiner und lag bei 61.7 % für PFUnDA und 60.2 % für PFDoDA. Um der Verlust von Analyten zu vermeiden, wurden in dieser Arbeit die Proben und Probenextrakte nicht abgedampft und in deren ursprünglichen Konzentration gemessen.

7.4. Reaktion von DMF-DMA mit Pentafluorbenzoesäure

Vorausgesetzt Pentafluorbenzoesäure reagiert auf die gleiche Weise mit Acetalen wie PFCA, könnte diese Verbindung als interner Standard für die PFCA-Analyse dienen. Die Durchführung einer Reaktion der Pentafluorbenzoesäure mit DMF-DMA, ergab ein Produkt, welches als entsprechendes Amin identifiziert werden konnte. Der Basispeak $[M-NMe_2]^+$ wurde bei m/z 224 beobachtet. Das Massenspektrum der Pentafluorbenzoesäure, sowie ihre mögliche Fragmentierung, befinden sich im elektronischen Zusatzmaterial.

7.5. Vergleich mit anderen Derivatisierungsmethoden

Zwei Literaturmethoden zur Derivatisierung unter Verwendung von BSTFA [92] und Benzylbromid [63], wurden mit der Derivatisierung durch DMF-DMA zur Bestimmung von PFCA verglichen.

Die Derivatisierungsmethode mit BSTFA, basierte auf der Beschreibung Lv et al. [92] wurde zu diesem Zweck modifiziert: Durch einen langsameren Temperaturanstieg, sollte eine bestmögliche Trennung aller neun PFCA erzielt

werden. Außerdem wurde die Probe nach der Reaktion nicht weiter verdünnt. In dieser Untersuchung konnten allerdings nur fünf von neun PFCA (100 µg/ml) nachgewiesen werden (Abbildung 50). Im Vergleich zur Methode mit DMF-DMA, hat die Verwendung von BSTFA sowohl Vorteile, als auch Nachteile. Die Anwendung von BSTFA ergab einen großen Peak, der drei Minuten des Chromatogramms abdeckt. Da das PFCA-8-TMS-Derivat zur gleichen Zeit wie BSTFA die GC-Säule verlässt, konnte dies nicht im Chromatogramm nachgewiesen werden. In Abbildung 50 ist lediglich der Anfang des BSTFA-Peaks sichtbar, da der MS Detektor zum Schutz des Filaments in diesem Moment ausgeschaltet wurde. Die kurzkettigen PFCA mit vier, fünf und sechs Kohlenstoffatomen in der Struktur, eluierten im gleichen Zeitbereich wie das Lösungsmittel und können deshalb nicht gemessen werden. Darüber hinaus konnten andere Peaks im Chromatogramm gefunden werden (Abbildung 50, Peaks 1-5), die von Nebenprodukten der Reaktion stammen. Zwar liefert diese Reaktion höhere Peaks von Derivaten der langkettigen PFCA, jedoch sind die Retentionszeiten von PFBA-PFH_xA sehr kurz und somit eluierten die Analyten zu schnell aus der Säule, was eine Analyse erschwert.

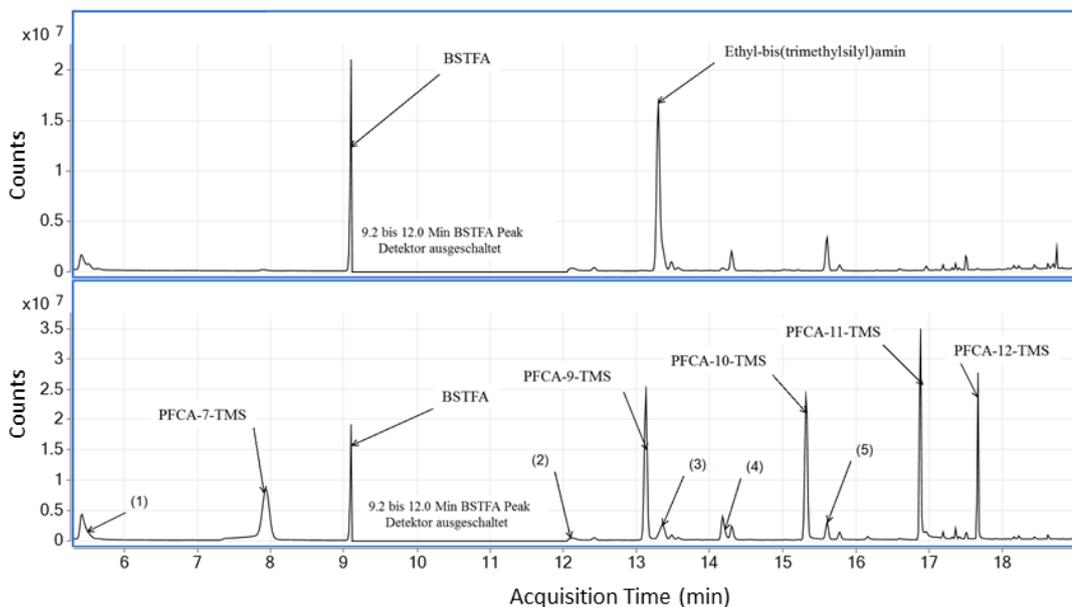


Abbildung 50 TIC-Chromatogramm mit PFCA-BSTFA-Reaktionsprodukten.

Die Derivatisierungsmethode mit Benzylbromid basierte auf der Beschreibung von Orata et al. [63]. Die genaue Probenvorbereitung wurde im Punkt 9.11 beschrieben. Die Peakintensitäten von PFCA-Derivaten waren nach dieser Reaktion sehr gering (Abbildung 51). Zudem konnte auf dem Chromatogramm ein großer Peak

von Benzylbromid beobachtet werden. Diese Methode zeigte keine Vorteile gegenüber der DMF-DMA Derivatisierungsmethode.

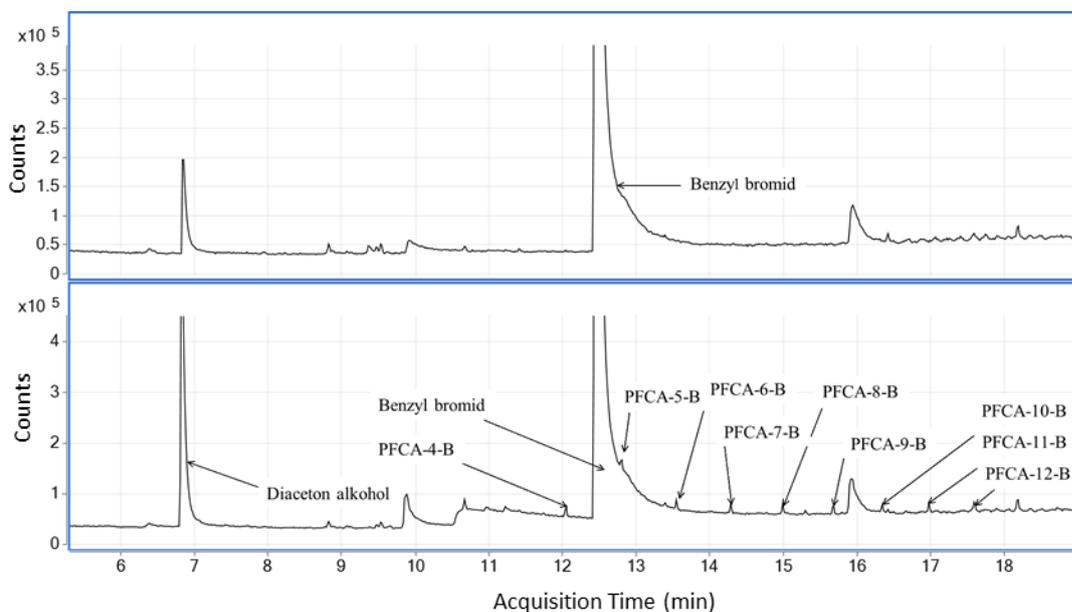


Abbildung 51 Chromatogramm nach der Reaktion von PFCA-Lösung mit Benzylbromid. Oberes Chromatogramm - Blindprobe, unteres Chromatogramm: Die Probe mit dem PFCA-Gemisch nach der Derivatisierung.

7.6. Beurteilung der Methode

Für die DMF-DMA Derivatisierungsmethode, wurden die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen, sowie Linearität und Präzision bestimmt. Zusätzlich wurde der Einfluss der Matrix auf die Reaktion untersucht.

Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen sind in Tabelle 18 dargestellt. Diese Werte wurden mit folgenden Formeln berechnet:

$$NWG = x + 3 \times s$$

$$BSG = x + 10 \times s$$

x – Mittelwert aus sechs Blindwertmessungen

s – Standardabweichung von sechs Blindproben

Tabelle 18 Nachweis- und Bestimmungsgrenze für PFCA-Derivate, ermittelt für Standardlösungen in MTBE.

PFCA	Nachweisgrenze (NWG) [ng/ml]	Bestimmungsgrenze (BSG) [ng/ml]	BSG für 0.5 g Probe extrahiert mit 5 ml [ng/g]
PFBA	0.18	0.26	2.6
PFPA	0.15	0.23	2.3
PFH _x A	0.15	0.21	2.1
PFHpA	0.27	0.44	4.4
PFOA	0.38	0.48	4.8
PFNA	0.20	0.33	3.3
PFDA	0.24	0.47	4.7
PFUnDA	0.19	0.37	3.7
PFDoDA	0.24	0.31	3.1

Für die Kalibration wurden die Standardlösungen in Konzentrationen von 2 bis 1500 ng/ml hergestellt. Die Präzision konnte anhand von sechs Messungen pro Probe bei der Konzentration von 10 ng/ml untersucht werden. Die Ergebnisse der Untersuchungen zur Präzision (RSD%) und der ermittelten Bestimmtheitsmaße R^2 sind in Tabelle 19 zusammengefasst.

Tabelle 19 Retentionszeiten, Quantifizierungen, R^2 und RSD% [181].

Verbindung	Retentionszeit [min]	Quantifizierungs-Ion [m/z]	RSD (%)	R^2
PFBA	6.621	226	4.84	0.9957
PFPA	8.578	276	4.34	0.9981
PFH _x A	10.159	326	6.21	0.9966
PFHpA	11.464	376	3.29	0.9976
PFOA	12.581	426	2.85	0.9972
PFNA	13.393	476	2.31	0.9974
PFDA	13.988	526	2.4	0.9971
PFUnDA	14.437	576	2.05	0.9972
PFDoDA	14.814	626	1.91	0.9986

Um den Einfluss der Matrix auf die Ergebnisse zu beurteilen, wurden zwei Experimente durchgeführt. Im ersten Experiment wurden die Proben vor der Extraktion mit PFCA-Lösung aufgestockt. Im zweiten Experiment wurden die Proben nach der Extraktion aber vor der Derivatisierung mit PFCA-Lösung aufgestockt.

a) Einfluss der Matrix auf die Extraktion

Für das erste Experiment, wurden eine Zahnseide (ZS), ein Imprägnierspray (IP), eine Laborhandschuh aus Baumwolle (BW), ein Allzweck Tuch (Vis, 82% Viskose 18% Polypropylen) und ein Teflondeckel eines Headspaceglas (TD) zerschnitten und eingewogen. Die Einwaage jeder Probe betrug ca. 100 mg. Zu den Proben wurden dann 10 ng je PFCA zugegeben. Danach wurden die Proben mit 2 ml MTBE/IS Lösung extrahiert, durch Einwegspritzenfilter filtriert und anschließend derivatisiert (9.7). Die PFCA Konzentrationen in den aufgestockten Proben wurden mit zwei Methoden ausgewertet: Direkte Auswertung der Peakflächen mittels Kalibriergerade und die Auswertung des Verhältnisse Peakfläche/Interner Standard (IS, Pentafluorbenzoesäure). Die Ergebnisse wurden in Tabelle 20 zusammengestellt.

Tabelle 20 Wiederfindungsraten für aufgestockten Proben mit 10 ng je PFCA.

Wiederfindungsrate (%)										
PFCA	ZS	ZS IS	IP	IP IS	BW	BW IS	Vis	Vis IS	TD	TD IS
PFBA	99	86	NG	NG	NG	NG	77	63	43	82
PFPA	108	76	76	91	2	11	95	65	21	60
PFHxA	111	79	73	88	4	19	100	69	23	59
PFHpA	124	94	74	89	4	20	119	97	28	70
PFOA	113	81	66	81	4	21	106	78	33	78
PFNA	116	83	68	82	6	27	107	78	42	91
PFDA	116	83	64	77	6	30	108	78	43	91
PFUnDA	118	84	62	74	7	33	107	78	54	109
PFDoDA	118	85	61	74	7	35	109	79	70	136

*NG- nicht gefunden

Die Ergebnisse waren für alle Proben sehr unterschiedlich. Die Auswertung der Zahnseide ohne internen Standard zeigte höhere Wiederfindung als mit IS, wobei diese Ergebnisse deutlich 100% überschritten haben. Da die Baumwolle die Perfluorcarbonsäuren aufgenommen hat, waren die Wiederfindungsraten sowohl mit, als auch ohne IS sehr niedrig.

Zusätzlich wurden die nicht aufgestockten Proben mit einem internen Standard quantitativ analysiert, dabei konnte ein Problem bei der Auswertung beobachtet werden. Die Signale von Pentafluorbenzoesäure verliefen nicht proportional zu den PFCA-Signalen. Beispielsweise war der Peak von PFB in der Zahnseide deutlich kleiner, als in der Blindprobe. Das hat dazu geführt, dass das Peakverhältnis zwischen PFCA und PFB entsprechend größer war. Dieser Umstand führte dazu, dass es bei der Auswertung aufgrund des Peakverhältnisses relativ große Konzentrationen errechnet werden. Aus diesem Grund ist die Anwendung von PFB als interner Standard für die

Auswertung mit einer Kalibriergerade nicht möglich, da sich die PFCA/PFB Peakintensitäten nicht proportional verändern. Basierend auf diesen Ergebnissen sollte die Quantifizierungsmethode optimiert werden.

b) Einfluss der Matrix auf die Extraktion

Das Ziel des zweiten Experiments war es, den Einfluss der Matrix auf die Reaktion zu testen. Die Proben wurden nach der MTBE-Extraktion mit einer PFCA-Lösung aufgestockt. Folgende Proben wurden untersucht: Titelseite von einer Zeitschrift (ZT), Backpapier (BP), Popcornhülle (PB), Zahnseide (ZS) und Imprägnierspray (IP). Die Proben wurden mit 10 ng je PFCA vor der Derivatisierung aufgestockt. Die Ergebnisse wurden in Tabelle 21 zusammengefasst. In den meisten Fällen waren die Peaks der Proben größer als die in den Standards.

Tabelle 21 Einfluss der Matrix auf Peakfläche des Standards.

PFCA	Prozentuales Verhältnis des Peaks in dem Extrakt und in MTBE				
	ZT	BP	PB	ZS	IP
PFBA	111.5	104.8	107.9	103.5	89.7
PFPA	103.5	96.5	103.8	98.6	109.9
PFHxA	101.2	96.4	106.7	97.5	112.2
PFHpA	100.6	96.2	102.9	96.0	113.2
PFOA	101.0	98.4	103.6	94.9	115.0
PFNA	105.9	98.5	106.7	97.4	125.7
PFDA	108.7	96.6	111.3	98.6	119.9
PFUnDA	109.0	97.4	110.6	102.8	122.1
PFDoDA	113.8	91.0	118.6	101.9	128.3

Diese Unterschiede waren umso deutlicher, je geringer die Konzentration von PFCA war. Für die mit 0.5 ng/ml aufgestockte Zahnseide (ZS) und Klärschlamm (KS) Extrakte, haben die Peakflächen 29% bis 93% der Peakflächen des Standards erreicht (Tabelle 22). In der gleichen Tabelle sind auch die Ergebnisse vom Extrakt einer Teflondichtung (TD) gezeigt. Diese Probe wurde mit 1 ng/ml PFCA-Lösung aufgestockt und zeigten die niedrigsten Ergebnisse.

Tabelle 22 Einfluss der Matrix auf Peakfläche des Standards. Aufgestockte Konzentrationen: 0.5 ng/ml PFCA Lösung für die Extrakte von Zahnseide und Klärschlamm und 1 ng/ml PFCA Lösung für der Extrakt von Teflondichtung.

PFCA	Prozentuales Verhältnis des Peaks in dem Extrakt und in MTBE		
	ZS	KS	TD
PFBA	79.3	29.1	28.9
PFPA	59.0	84.9	32.2
PFH _x A	85.3	89.9	35.7
PFHpA	78.9	79.4	34.3
PFOA	66.0	90.1	35.7
PFNA	61.1	93.0	35.0
PFDA	40.8	77.4	36.8
PFUnDA	66.5	82.4	38.2
PFDoDA	76.6	86.4	39.6

Basierend auf diesen Ergebnissen, stellte sich eine klassische Kalibration mit Standardlösungen, für dieses Verfahren als nicht optimal heraus. Die Unterschiede zwischen den Peakintensitäten in den verschiedenen Extrakten waren sehr hoch. Dadurch kommt es bei der Auswertung mit einer Kalibriergerade zu einem großen Fehler.

Die Standardaddition bietet eine quantitative Bestimmung der Proben in komplexen Matrices und stellt damit eine gute Alternative zu diesem Verfahren dar. Zusätzlich kann Pentafluorbenzoesäure, als ein Standard zur Kontrolle der Reaktion und Injektion, benutzt werden. Ein großer Vorteil dieser Methode ist die Kompensation von Matrixeffekten, da die Standards zur Quantifizierung direkt in der Probe erstellt werden. Dies ist bei dieser Art von Reaktionen besonders wichtig, da DMF-DMA zuerst ein Iminium-Kation bildet und auch die Matrix diesen Prozess beeinflussen könnte.

7.7. Quantitative PFCA Analyse in verschiedenen Probenmatrices

Diese Derivatisierungsmethode eignet sich gut für ein schnelles Screening von festen Proben, nach einer Extraktion mit einem organischen Lösungsmittel. Da die Probe sich in einem Kunststoffgefäß befindet, ist die Erwärmung der Probe nicht möglich. Der Grund dafür ist die Flüchtigkeit des MTBE, die aus einem undichten Gefäß verdampfen würde. Für ein Screening wird eine Probe nach der Extraktion und Filtration derivatisiert (siehe 9.7) und mittels GC-MS gemessen (siehe 9.14.2). Zusätzlich wird die gleiche Probe zu einer Konzentration von 1 ng/ml aufgestockt und gemessen. Zur weiteren Quantifizierung werden diese Proben gewählt, für die PFCA

Peaks beobachtet werden können, die nicht auf dem Chromatogramm einer Blindprobe zu finden sind. Um sicherzustellen, dass die Reaktion in dieser Probenmatrix funktioniert hat, müssen die PFCA-Peaks in der aufgestockten Probe sichtbar sein. Basierend auf der Peakfläche der PFCA wird die Konzentration der Perfluorcarbonsäure abgeschätzt, um eine weitere quantitative Analyse, mit Hilfe eines Standard-Additionsverfahrens durchzuführen.

Zur quantitativen Untersuchung wurden aus jedem Extrakt mindestens drei Proben vorbereitet: eine nicht aufgestockte Probe (Analyseprobe) und mindestens zwei aufgestockte Proben, mit zu den Probensignalen angepassten Konzentrationen. In der Regel entspricht dies einer eineinhalbfachen und zweifachen, geschätzten Konzentration des Analyten in der Probe. Vor der quantitativen Analyse muss ein lineares Ansprechverhalten der eingesetzten Analysenmethode für den untersuchten Analyten im gesamten untersuchten Konzentrationsbereich überprüft werden. Zu diesem Zweck wird eine Kalibriergerade erstellt, deren Bestimmtheitsmaß R^2 größer als 0.98 sein sollte, was eine Voraussetzung für die Analyse darstellt.

Vor jeder Messung werden drei Blindproben gemessen, um die System-Blindwerte einzuberechnen. Die Auswertung erfolgt mit Hilfe der Formel F.10, welche im Abschnitt 4 abgeleitet wurde.

Die neuentwickelte Analysenmethode wurde für drei verschiedene Probenmatrizes getestet: Zahnseide, Textilien und Klärschlamm. Vorgehensweise bei der Extraktion der Proben und Filtration von Extrakten wurde in Punkt 9.10 beschrieben. Die Derivatisierung aller Proben erfolgt nach der Beschreibung in Punkt 9.7. Die Parameter der GC-MS Analyse sind in 9.14.2 gezeigt.

Zwei Sorten von Zahnseide: Real Quality und Elmex[®] wurden auf ihren PFCA Gehalt untersucht. In beiden Proben konnten keine PFCA gefunden werden, weshalb auch keine quantitative Analyse möglich war.

Das Institut für Textilforschung in Denkendorf (DITF), hat vier Textilien zur Verfügung gestellt, die möglicherweise mit PFCA imprägniert wurden. Zur genaueren chemischen Zusammensetzung der PFCA gab es keine Informationen. Die Proben (500 mg) wurden mit 5 ml Extraktionslösung extrahiert und filtriert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 23 zusammengestellt.

Tabelle 23 Ergebnisse der Analyse von Textilien. Die Werte in Klammern sind kleiner als die Bestimmungsgrenze (Tabelle 18).

PFCA	Textil 1 [ng/g]	Textil 2 [ng/g]	Textil 3 [ng/g]	Textil 4 [ng/g]
PFBA	3.8	4.9	3.5	5.3
PFPA	3.7	4.5	3.0*	3.9
PFHxA	12.35	4.7	6.0	20.0
PFHpA	7.9	11.0	<4.4 (2.2)*	4.2
PFOA	13.6	<4.8 (1.2)	5.9*	18.4
PFNA	<3.3 (2.9)	<3.3 (2.2)	<3.3 (1.6)*	<3.3 (2.8)
PFDA	5.8	<4.7 (2.8)	<4.7 (1.7)*	5.8
PFUnDA	<3.7 (2.3)	<3.7 (3.4)	<3.7 (0.6)	<3.7 (0.1)
PFDoDA	3.2	3.6	8.4	3.3

* $R^2 < 0.98$ (0.94 - 0.97)

Das Analytik Institut Rietzler GmbH stellte Klärschlammproben (getrocknet und homogenisiert) zur Verfügung. Für zwei Proben konnten weder mit LC-MS/MS, noch mittels GC-MS PFCA nachgewiesen werden. Zur Überprüfung, ob die Methode für solche Umweltproben geeignet ist, wurden eine Klärschlammprobe und ihre Extrakte mit PFCA aufgestockt. Wie die Ergebnisse in Tabelle 24 zeigen, stört diese Matrix nicht bei der Derivatisierung. Die Wiederfindungsraten für das Extrakt waren zufriedenstellend. Für die Probe wurden entsprechend niedrigerer Werte gemessen. Diese Werte können stark vom Extraktionsprozess abhängig sein, der für jede Art der Probe individuell optimiert werden sollte.

Tabelle 24 Wiederfindungsraten (WFR) für Klärschlammproben aufgestockt mit PFCA.

PFCA	Ergebnis Extrakt [ng/g]	WFR für Extrakt [%]	Ergebnis Probe [ng/g]	WFR für Probe [%]	Aufgestockte Konzentration [ng/g]
PFBA	15.27	101.8	14.59	97.3	15.0
PFPA	15.18	101.2	14.35	95.7	15.0
PFHxA	10.44	104.4	9.91	99.1	10.0
PFHpA	20.37	101.9	9.52	47.6	20.0
PFOA	9.45	94.5	9.29	92.9	10.0
PFNA	5.07	101.5	4.96	99.2	5.0
PFDA	4.84	96.7	4.71	94.3	5.0
PFUnDA	24.59	98.3	21.32	85.3	25.0
PFDoDA	18.20	91.0	16.91	84.6	20.0

Zur Verifizierung der neuentwickelten Methode wurde ein Vergleichsexperiment durchgeführt, bei dem die Proben mittels GC-MS und LC-MS/MS analysiert wurden. Zu diesem Zweck wurden die extrahierten Proben geteilt, und die Hälfte des Probenextraktes wurde zur Analytik Institut Rietzler GmbH geschickt, um die Probe mittels LC-MS/MS zu messen (siehe 9.16). Die andere Hälfte des Extraktes wurde für die GC-MS Analyse verwendet (Methoden siehe 9.7 und 9.14.2).

Im ersten Teil des Experiments wurde ein aufgestocktes Extrakt einer Zahnseide analysiert. Die Zahnseide Oral B ist mit Mineralwachs beschichtet, was zu Problemen bei der LC-MS/MS Analyse führen konnte. Deshalb wurde Mineralwachs vor der Analyse entfernt (siehe 9.10). Der Vergleich der Ergebnisse und die Wiederfindungsraten für die GC-MS Methode, wurden in Tabelle 25 zusammengestellt. Die Unterschiede zwischen den Ergebnissen waren für fast alle PFCA kleiner als 10 %. Der größte Unterschied wurde bei der am häufigsten vorkommenden Perfluorcarbonsäure - PFOA - beobachtet. Die Probe wurde nicht mit PFOA aufgestockt und deshalb kann davon ausgegangen werden, dass die Extrakte bei der Probenvorbereitung mit PFOA kontaminiert wurden.

Tabelle 25 Vergleich der Ergebnisse der GC-MS Methode mit LC-MS/MS Analyse eines aufgestockten Extraktes.

PFCA	Ergebnis LC-MS/MS [ng/ml]	Ergebnis GC-MS [ng/ml]	Aufgestockte Konzentration [ng/ml]	Wiederfindungsrate GC-MS [%]
PFBA	1.50	1.494	1.5	99.6
PFPA	1.70	1.548	1.6	96.8
PFHxA	0.49	0.495	0.5	99.0
PFHpA	1.70	1.805	1.7	106.2
PFOA	0.03	0.097	0	-
PFNA	0.40	0.404	0.4	101.0
PFDA	0.50	0.524	0.5	99.7
PFUnDA	2.40	2.392	2.5	95.7
PFDODA	3.00	3.090	3.0	103.0

Um zu überprüfen, ob die Abtrennung des Mineralwachses einen Einfluss auf die Wiederfindungsraten hat, wurde ein mit PFCA aufgestockter Extrakt vor und nach der Entfernung von Mineralwachs untersucht. Die Ergebnisse befinden sich im elektronischen Zusatzmaterial. Die Konzentrationen von allen PFCA waren um 1 %

(für PFBA) bis 11.5 % (für PFDoDA) kleiner, als in dem Extrakt ohne Entfernung des Wachses. Wie erwartet stieg der Unterschied mit der Kettenlänge, da die längeren PFCA weniger polar und somit besser im Wachs löslich sind, als kurzkettige PFCA. Aus diesem Grund sollte auf die Entfernung des Mineralwachses vor der Analyse möglichst verzichtet werden.

In dem nächsten Experiment wurden zwei mittels GC-MS analysierte Textilien (T1 und T2 in Tabelle 23) zusätzlich mittels LC-MS/MS gemessen. Für die Probe T1, lagen die Unterschiede zwischen 0.01 und 0.48 ng/ml wohingegen die Abweichungen bei Probe T2 zwischen 0.01 und 0.14 ng/ml geringer waren (Tabelle 26).

Die Experimente zeigten, dass mit dieser Methode die PFCA-Bestimmung mit hoher Präzision möglich ist.

Tabelle 26 Vergleich der Ergebnisse von Textilien mittels LC-MS/MS und GC-MS. Die Werte in Klammern sind kleiner als die Bestimmungsgrenze (Tabelle 18).

PFCA	Blind MTBE LC [ng/ml]	T1 MTBE LC [ng/ml]	T1 MTBE GC [ng/ml]	Unterschied T1 LC/GC [%]
PFBA	0.33	0.37	0.38	97.9
PFPA	0.3	0.39	0.37	106.8
PFHxA	0.099	1.1	1.22	90.2
PFHpA	0.14	0.58	0.78	74.6
PFOA	0.065	0.87	1.35	59.3
PFNA	<0.05	0.22	<0.33 (0.29)	77.2
PFDA	<0.05	0.37	0.57	64.5
PFUnDA	0.1	0.29	<0.37 (0.23)	94.8
PFDoDA	0.073	0.22	0.32	90.9
PFCA	Blind MTBE LC [ng/ml]	T2 MTBE LC [ng/ml]	T2 MTBE GC [ng/ml]	Unterschied T2 LC/GC [%]
PFBA	0.33	0.51	0.53	96.2
PFPA	0.3	0.59	0.54	111.8
PFHxA	0.099	0.51	0.53	97.1
PFHpA	0.14	1.2	1.19	100.6
PFOA	0.065	0.17	<0.48 (0.16)	104.5
PFNA	<0.05	0.21	<0.33 (0.18)	115.8
PFDA	<0.05	0.26	<0.47 (0.25)	103.9
PFUnDA	0.1	0.44	<0.37 (0.35)	125.8
PFDoDA	0.073	0.35	0.32	109.0

Die gleichen Textilien wurden zusätzlich mit Methanol extrahiert, um den Einfluss des Extraktionsmittels zu beurteilen. Die Ergebnisse der GC und LC-Analysen der MTBE-Extrakte waren sehr ähnlich. Im Gegensatz dazu zeigte die LC-

Messung der MTBE und Methanol Extrakte der gleichen Probe große Unterschiede (Tabelle 27). Die Konzentrationen in den Methanol-Extrakten waren viel höher, als die Konzentrationen in MTBE-Extrakten. Das weist darauf hin, dass das Extraktionsmittel für jede Matrix vorher sorgfältig ausgewählt werden sollte.

Tabelle 27 Die LC-MS/MS Ergebnisse von Methanol und MTBE Extrakten zweier Textilproben.

PFCA	Textil Nr 1 Methanol Extrakt [ng/ml]	Textil Nr 1 MTBE Extrakt [ng/ml]	Textil Nr 2 Methanol Extrakt [ng/ml]	Textil Nr 2 MTBE Extrakt [ng/ml]
PFBA	2.0	0.37	1.3	0.51
PFPA	2.8	0.39	1.4	0.59
PFH _x A	2.4	1.1	1.3	0.51
PFH _p A	11.0	0.58	3.3	1.2
PFOA	3.5	0.87	0.45	0.17
PFNA	4.3	0.22	0.37	0.21
PFDA	2.7	0.37	0.41	0.26
PFUnDA	0.74	0.29	0.92	0.35
PFDoDA	1.6	0.22	4.7	0.44

8. Zusammenfassung

Die Hauptproblematik der PFCA-Analytik mittels GC-MS ist die Notwendigkeit der Derivatisierung der Carboxylgruppe. Da die Konzentrationen von PFCA in Gewässern üblicherweise im niedrigen Nanogramm pro Liter-Bereich liegen, ist die Empfindlichkeit der Methode ein entscheidender Faktor zur erfolgreichen Analyse. Da die verschiedenen Veröffentlichungen zur PFCA-Derivatisierung sehr komplizierte Verfahren beinhalten, wurden in dieser Arbeit zwei neue Derivatisierungsverfahren für die PFCA Analyse erarbeitet.

Im Vorfeld dieser Untersuchungen wurde eine bisher nicht beschriebene Derivatisierungsmethode für PFCA mit Triphenylsilanol entwickelt. Aufgrund der niedrigen Empfindlichkeit des HPLC-UV Systems, konnte keine quantitative Analyse der realen Proben erfolgen. In der weiteren Entwicklung konnte herausgefunden werden, dass auch andere Trialkylsilanole zur Umesterung von PFCA führen. Bei der Entwicklung der Reaktion mit Trimethylsilanol (TMSiOH) erwies sich diese Verbindung zwar als geeignet zur Derivatisierung von PFCA, die kurzketigen PFCA-Derivate hatten jedoch zu kurze Retentionszeiten, um diese auf dem Chromatogramm darzustellen. Es konnte festgestellt werden, dass die Derivatisierung mit Silanolen eine einfache und ausbaufähige Methode zur Umsetzung der Perfluorcarbonsäuren darstellt. Die aus diesen Messungen gewonnenen Erkenntnisse haben zur Verbesserung der Derivatisierungsreaktion mit Triethylsilanol (TESiOH) geführt.

Nach einer Reaktion mit TESI OH wurden auf dem Chromatogramm alle gesuchten PFCA-Derivate gefunden, und die Gesamtzeit der vollständigen Trennung von 19.5 Minuten ist zufriedenstellend. Für PFOA, die am Häufigsten vorkommende Verbindung in dieser Gruppe, wurde ein MS-EI Spektrum ausführlich analysiert. Ein GC-MS-NCI System konnte zusätzlich für diese Analyse getestet werden, erwies sich jedoch nicht als vorteilhafter im Vergleich zu einem einfachen GC-MS-EI System. Eine Möglichkeit der Isomeren-Analyse wurde mithilfe eines verzweigten Isomers der PFNA untersucht. Diese Studie hat gezeigt, dass die verzweigten PFCA Isomere ähnliche, aber unterscheidbare Spektren liefern, und mittels GC-MS auf dem Chromatogramm sehr einfach getrennt werden konnten.

Darüber hinaus wurde diese Reaktion auch mit anderen Säuren durchgeführt. Zu den untersuchten Analyten gehörten PFOA, Oktansäure und polyfluorierte Carbonsäuren. Es konnte gezeigt werden, dass für eine erfolgreiche TESI OH Reaktion,

das Alpha-C-Atom der Carboxylsäure mit stark elektronegativen Substituenten verbunden werden muss. Die Verbindungen, in der die COOH direkt mit einer CF₂ Gruppe verbunden sind, reagieren vollständig und bilden dabei Triethylsilylester. Die Verbindungen, die eine CH₂ Gruppe anstelle einer CF₂ Gruppe enthalten, reagieren nur teilweise, sodass die nicht umgesetzte Säure auf dem Chromatogramm sichtbar ist.

Zur Methodenetablierung wurden geeignete Injektions-, Chromatographie- und Detektionsbedingungen für die betreffenden Analyten erarbeitet. Das Gesamtanalysenverfahren unter Verwendung der Analysenstandards wurde ebenfalls untersucht. Die Optimierung der Reaktionsbedingungen erfasste Reaktionszeit, Menge der Schwefelsäure in der Probe, Waschen des Extraktes sowie die Ermittlung des Einflusses von Salz, Ammoniumhydroxid und Ethanol. Anschließend wurde die Derivatisierungsausbeute bestimmt und festgestellt, dass diese stark von der Löslichkeit der Analyten im Wasser abhängt.

Im Weiteren, wurde die Möglichkeit der Durchführung der Reaktion in größeren Probenvolumen untersucht. Eine Reaktion in größeren Probenvolumen konnte jedoch nur teilweise umgesetzt werden und der Ansatz wurde nicht weiter verfolgt, da es bei der Verwendung großer Volumina zu großen Mengen an Abfallprodukten und Lösungsmittelabfällen kommt, die aus umwelttechnischen Gründen vermieden werden sollten.

Die Untersuchung der realen Wasserproben zeigte deutlich, dass die klassische Festphasenextraktion für diese Methode nicht optimal ist. Aus den ersten SPE-Versuchen wurden wichtige Erkenntnisse gewonnen, die zur Verbesserung der Handhabung von mehreren Litern Wasserproben führten. Auf der Grundlage dieser Beobachtungen wurde ein d-SPE Verfahren entwickelt, das an die Reaktionsbedingungen angepasst wurde. Mehrere wichtige Parameter, wie Konditionierung der Phase, Extraktionszeit, Auswahl der SPE-Phase und pH-Wert, wurden untersucht und optimiert. Darüber hinaus konnte der Einfluss der Filtration auf die Ergebnisse untersucht werden. Die klassischen Spritzenfilter, die beim LC-MS/MS Verfahren verwendet werden, haben keine nützliche Anwendung gefunden.

Verschiedene Vorgehensweisen wurden verwendet, um die Blindwertproblematik zu reduzieren. Die Etablierung valider Analysenverfahren erfolgte anhand von Leitungswasser, als möglichst stabile Matrix. Diese wurden mittels Kalibrierungen auf ihre Nachweisempfindlichkeit und Robustheit untersucht

und bewertet. Hieraus ergaben sich über Kalibration und Wiederfindungsexperimente, abgesicherte, lineare Arbeitsbereiche mit Bestimmungsgrenzen im niedrigen ng/l Bereich.

Im Weiteren konnten die Hintergrundkontamination und ihre möglichen Quellen im Labor beschrieben werden. Es wurde gezeigt, dass die Wasserreinigungssysteme eine wichtige Quelle der Kontamination darstellen. Besonders zu beachten sind die Blindwerte, wenn die Wartung des Systems (Patronenwechsel, neue Dichtungen) durchgeführt wurde. Matrixeffekte und mit ihnen verbundene Beschränkungen des Verfahrens, wurden am Beispiel einer Flusswasserprobe und einer Zulaufprobe beschrieben.

Die Verifizierung der Methode erfolgte durch Ermittlung der Bestimmungsgrenzen sowie Wiederholbarkeit, Genauigkeit und Linearität der Methode. Die in einem externen Labor hergestellten Lösungen mit unbekannter Menge an PFCA wurden ebenfalls untersucht. Die Konzentration von 60 ng/l wurde mit der TES-Methode korrekt bestimmt.

Die vorgestellte Derivatisierungsmethode ist einfach, schnell, neuartig, sensitiv und quantitativ präzise, bei der Bestimmung von Perfluorcarbonsäuren, (C3-C12) in Wasserproben. In beiden gemessenen Proben konnten Spuren mehrerer PFCA gefunden werden. Die Unterschiede zwischen den Bestimmungsgrenzen hingen von der Blindkontamination, der Molmasse der Verbindung und der Extraktionseffizienz ab.

Der große Vorteil dieser Methode liegt in ihrer Einfachheit, da andere Derivatisierungsmethoden für die GC, beispielsweise mit 2,4-Difluoranilin, meist sehr aufwendig sind [81,128]. Eine sehr kurze Retentionszeit des Perfluorpropionsäure-Derivates führt dazu, dass der Analyt nahe am Lösungsmittel eluiert. Aus diesem Grund ist für diesen Analyt die Methode nicht ausreichend robust. Wahrscheinlich kann jedoch eine weitere Entwicklung der Methode, beispielsweise durch Anpassung der Phase in der Säule des Gaschromatographen, zur erfolgreichen Analyse führen.

Das Verfahren hat großes Potenzial, da nicht nur Triethylsilanol, sondern auch andere Silanolverbindungen, PFCA in Ester umwandeln können. Die Anwendung der Triphenylsilanol-Derivatisierung und der HPLC-UV-Detektion, könnte beispielweise für den Adsorptionstest von PFCA im Wasser hilfreich sein.

Es ist bekannt, dass Reaktionen zur Herstellung von Silylestern (z. B. mit BSTFA) im Allgemeinen feuchtigkeitsempfindlich sind [104]. Dies macht die neu beschriebene Reaktion noch interessanter, da diese in Wasser stattfindet. Dadurch kann diese Derivatisierungsreaktion in Proben mit höheren Konzentrationen an PFCA ($\mu\text{g/l}$) direkt in der Matrix, ohne zusätzliche Vorbereitungsschritte durchgeführt werden.

Das hier beschriebene Verfahren ist somit die erste Silylierungsmethode zur Bestimmung von PFCA in Wasserproben. Silylierung von PFCA (mit BSTFA) wurde bisher nur für Bodenproben [89] sowie für Textilien und Verpackungsmaterialien [92] beschrieben. Um die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen zu verbessern, muss das Wasser mit einer wesentlich geringeren PFCA-Kontamination als Leitungswasser verwendet werden. Wasseraufbereitungssysteme können jedoch auch zusätzliche Verunreinigungen verursachen.

Darüber hinaus kann die Anwendung der Tandem-Massenspektrometrie anstelle des in dieser Forschung verwendeten EI-MS-Systems die Nachweisgrenzen erheblich verbessern. Obwohl die durchschnittlichen Nachweisgrenzen dieser Methode niedriger sind wie bei LC-MS/MS-Systemen, kann sie als kostengünstige und allgemein verfügbare Alternative angesehen werden. Zudem kann der Vergleich der Messungen mit LC- und GC-Systemen dazu beitragen, die erhaltenen Ergebnisse zu überprüfen und die PFCA-Analyse zuverlässiger zu machen. Diese beiden Techniken können bei der Analyse von PFCA eher als komplementär, denn als wettbewerbsfähig angesehen werden.

Die Perfluorcarbonsäuren treten nicht nur im Wasser auf, sondern, wie in mehreren Studien bewiesen wurde, auch in vielen Alltagsprodukten. Diese Produkte sind meistens fest und daher müssen die PFCA vor der Analyse extrahiert werden. Da die Analyten nach der Extraktion sich nicht in einer wässrigen Phase, sondern in einem organischen Lösungsmittel befinden, konnte die Derivatisierung mit TESiOH zu diesem Zweck nicht verwendet werden.

Aus diesem Grund wurden mehrere Untersuchungen mit anderen Derivatisierungsmitteln, wie BSTFA und Benzylbromid durchgeführt. Es hat sich herausgestellt, dass diese Reaktionen einige Nachteile haben: Beispielsweise zeigten die Chromatogramme sowohl mehrere Peaks von Nebenprodukten, als auch die Peaks

von Derivatisierungsmitteln, welche die Peaks der Analyten überdecken könnten. Daher wurden die DMF-DMA und DMF-DEA als Derivatisierungsmittel für PFCA getestet.

In dieser Arbeit wurden zum ersten Mal massenspektrale Untersuchungen von PFCA, nach der Derivatisierung mit Dialkylacetalen durchgeführt. Ausgangspunkt dieser Forschung war die Feststellung, dass sowohl DMF-DMA als auch DMF-DEA mit PFOA das gleiche Derivat bilden. Die Reaktion von DMF-DMA mit aliphatischen Carbonsäuren wurde ausführlich in der Literatur beschrieben. Es ist bekannt, dass in dieser Reaktion ein Methyl ester der Carbonsäure gebildet wird. Am Anfang wurden die Produkte der Derivatisierung von Perfluoroktansäure und Oktansäure mit DMF-DEA verglichen. Bei der Derivatisierung von PFOA war der Ester lediglich als Nebenprodukte zu finden. Die GC-MS-EI Massenspektren von Oktansäure-Ethylester, PFOA-Ethylester und einem unbekanntem PFOA-Derivat, wurden in dieser Arbeit aufgenommen und analysiert. Zusätzlich wurden auch GC-MS-PCI Spektren des unbekanntem Derivates untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die Methoxy/Ethoxy Gruppen der DMF-DMA und DMF-DEA, an der neuentdeckten Reaktion mit PFOA nicht teilnehmen. Dieses überraschende Ergebnis musste weiter untersucht werden.

In weiteren Experimenten wurden mehrere massenspektrometrische Techniken verwendet, um die Struktur des Produktes dieser Reaktion zu identifizieren. Die Reaktionsprodukte von DMF-DMA mit PFOA, wurden einer genauen Massenanalyse unterzogen. In einem ersten Schritt wurde diese Reaktion mittels Electrospray-Ionsation (ESI) im positiven und negativen Ionenmodus untersucht. Zur Bestätigung der ESI Ergebnisse wurde die Probe nach der Reaktion sowohl im Positiv-, als auch im Negativ-Ionen-Modus einer DART Technik unterzogen. Die ESI und DART-Ergebnisse führten zu einer Vermutung, dass in der Probe mehrere Cluster-Ionen gefunden wurden. Diese DART- und ESI-Spektren deuteten stark auf die Bildung eines massearmen Kations mit der Zusammensetzung $[C_5H_{13}N_2]^+$ hin. Somit konnte festgestellt werden, dass die unbekannte Substanz ein Salz ist. Um dies zu beweisen, wurde eine LIFDI-TOF-MS Analyse durchgeführt. Die Durchführung des Experiments ergab ein LIFDI-Spektrum, dass dem Iminium-Kation zugeordnet wurde.

Als nächstes wurden die Nebenprodukte der Reaktion mittels GC-MS analysiert. Es wurde unter anderen Trimethylorthoformiat gefunden, was zu der Erkenntnis geführt hat, dass zwei DMF-DMA-Moleküle eine Methoxy- und eine Dimethylaminogruppe ausgetauscht haben. So konnte im nächsten Schritt, ein sehr

stabiles N,N,N',N'-Tetramethylformamidinium-Kation aus dem Aminalester, durch Verlust einer OCH₃-Gruppe, gebildet werden. Mit Hilfe von massenspektrometrischen Messungen wurde schließlich das Produkt als ein Salz mit einem PFOA-Anion und einem N,N,N',N'-Tetramethylformamidinium-Kation identifiziert. Die FTIR-Analyse des Produktes und der Vergleich der Spektren von PFOA-Methylester und PFOA-Tetrabutylammoniumsalz konnten diese Vermutung bestätigen.

Das Salz, welches als ein Peak in GC-MS detektiert wurde, konnte jedoch nicht das endgültige Produkt der Reaktion sein. Aus diesem Grund wurden GC-MS EI und PCI Spektren aufgenommen und es wurde festgestellt, dass diese Verbindung einer weiteren Reaktion unterliegt. Basierend auf den Messergebnissen konnte geschlossen werden, dass dieses Salz durch CO₂-Verlust im Injektor ein Amin bildet. Die im EI Spektrum sichtbare Fragment-Ionen diesesamins wurden identifiziert und erklärt.

Nach der Aufklärung des Ablaufs der Reaktion konnte eine DMF-DMA Derivatisierungsmethode entwickelt werden. Zuerst wurden die Reaktions-, Injektions- und Messbedingungen optimiert. Aus dieser Untersuchung wurden klare Erkenntnisse gewonnen: Während Alkohole und Pyridin die Veresterungsreaktion fördern, eignen sich die unpolaren Lösungsmittel, wie Hexan und MTBE, gut für die Amin-Bildung. Danach wurde die Reaktion mit der Inkubation der Probe bei 60 °C für 30 Minuten und bei 80 °C für 15 Minuten untersucht. Das Ergebnis bestätigte die Vermutung, dass die Reaktion im Injektor stattfindet. Es konnte kein Unterschied zwischen der Reaktion bei Raumtemperatur und der Reaktion bei 60 °C und 80 °C beobachtet werden.

Ein weiteres Ziel war es, die Leistungsfähigkeit der gaschromatographischen Analyse von PFCA nach der Derivatisierung zu beurteilen. Dies erfolgte anhand festgelegter charakteristischer Kenngrößen: Präzision und Linearität. Im Anschluss wurden die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der Methode ermittelt. Diese lagen für allen Analyten im niedrigen ng/ml Bereich. Zusätzlich wurden die Effekte der Matrix auf die Reaktion untersucht. Es wurde festgestellt, dass sich die Peakflächen der Analyten in der Matrix von den Peakflächen der Analyten in MTBE unterscheiden können. Dieses Ergebnis führte dazu, dass keine klassische Quantifizierung anhand einer Kalibriergerade durchgeführt werden konnte. Zur Analyse von PFCA in realen Proben wurde deshalb das Standard-Additionsverfahren verwendet.

Alle PFCA wurden in imprägnierten Textilien vergleichend, sowohl mit LC-MS/MS, als auch mit der GC-MS Methode nachgewiesen. Der Vergleich der DMF-DMA Methode mit einer LC-MS/MS Methode durch Messung einer mit PFCA aufgestockten Probe, war zufriedenstellend. In Klärschlammproben konnten mit der DMF-DMA Methode keine PFCA nachgewiesen werden, jedoch waren die Wiederfindungsraten von aufgestockten Klärschlammproben für alle PFCA im Bereich von 91 % bis 104 %. Die Extraktionslösungen sollten für jede Probenart sorgfältig ausgewählt und überprüft werden. Wenn diese Voraussetzung erfüllt wird, kann die in dieser Arbeit entwickelte DMF-DMA Methode zur Analyse von PFCA in festen Proben verwendet werden.

Während die Derivatisierung mit TESiOH sich gut für wässrige Proben eignet, ist die DMF-DMA Reaktion die Methode der Wahl für feste Proben. Beide in dieser Arbeit entwickelten Methoden, haben das Potenzial in vielen Laboratorien zur PFCA Analyse verwendet werden zu können. Sowohl die TESiOH-Derivatisierung, als auch DMF-DMA-Derivatisierung, sind sehr schnell, einfach und die Probenvorbereitung erfolgt in wenigen Schritten. Darüber hinaus ist keine besondere Laborausstattung erforderlich, um diese Reaktionen durchzuführen. GC-MSD ist eine der einfachsten und günstigsten Kopplung einer gaschromatographischen Trennung und massenspektrometrischen Detektion. Dies qualifiziert die entwickelten Methoden dafür eine Standardanalysemethode für PFCA in vielen analytischen Laboratorien zu werden. Das ist besonders wichtig, weil GC-MSD Systeme günstiger und einfacher zu bedienen sind, als die LC-MS/MS Systeme. In dieser Arbeit stellte die Hintergrundkontamination das größte Problem für beide Methoden dar. Viele Kontaminationsquellen konnten schnell auffindig gemacht und eliminiert werden, andere konnten sehr lange nicht identifiziert werden. Niedrigere Nachweis- und Bestimmungsgrenzen beider Methoden können durch Anwendung von empfindlicheren MS-Detektoren erreicht werden.

9. Experimenteller Teil

9.1. Verweis auf ein elektronisches Zusatzmaterial

Alle Rohdaten der in dieser Arbeit gezeigten Chromatogramme und Ergebnistabellen wurden als elektronisches Zusatzmaterial auf der CD gespeichert.

9.2. Verwendete Chemikalien

Tabelle 28 Verwendete Chemikalien mit CAS Nummer, Reinheit und Herstellerangaben.

Chemikalie (Abkürzung)	CAS	Reinheit	Hersteller
Pentafluorpropionsäure (PFPrA)	422-64-0	97 %	abcr
Heptafluorbuttersäure (PFBA)	375-22-4	99 %	abcr
Perfluorpentansäure (PFPA)	2706-90-3	98 %	abcr
Perfluorhexansäure (PFHxA)	307-24-4	98 %	abcr
Perfluorheptansäure (PFHpA)	375-85-9	98 %	abcr
Perfluoroktansäure (PFOA)	335-67-1	95 %	abcr
Perfluornonansäure (PFNA)	375-95-1	97 %	abcr
Perfluordekansäure (PFDA)	335-76-2	98 %	abcr
Perfluorundekansäure (PFUnDa)	2058-94-8	95 %	abcr
Perfluordodekansäure (PFDoDA)	307-55-1	96 %	abcr
Perfluor-3,5,5-trimethylhexansäure (iso-PFNA)	238403-51-5	84 %	abcr
Oktansäure	124-07-2	99 %	Sigma Aldrich
Trimethylsilanol (TMS)	1066-40-6	95 %	abcr
Triethylsilanol (TES)	597-52-4	97 %	abcr
Triphenylsilanol (TPS)	791-31-1	98 %	abcr
Dimethylformamid dimethylacetal (DMF-DMA)	4637-24-5	97 %	abcr
Dimethylformamid diethylacetal (DMF-DEA)	1188-33-6	95 %	Sigma Aldrich
Methyl- <i>tert</i> -butylether	1634-04-4	>99.8 %	LGC
Acetonitril (ACN)	75-05-8	>99.9 %	LGC
Aceton (ACT)	67-64-1	>99.8 %	Merck
Methanol (MeOH)	67-56-1	>99.8 %	Merck
Ethanol (EtOH)	64-17-5	>99.8 %	Merck
Schwefelsäure 5M (H ₂ SO ₄)	7664-93-9	-	Fluka
Salzsäure 1N (HCl)	7647-01-0	-	Merck

Ammoniumhydroxid-Lösung ~25% in Wasser	1336-21-6	-	Fluka
1-Butyl-3-methylimidazoliumtricyanomethanid	878027-73-7	>98.0 %	Merck
Perfluoroktansulfonsäure (PFOS)	1763-23-1	97 %	abcr
Nonafluoro-3,6-dioxaheptansäure (NFHA)	151772-58-6	98 %	abcr
11H-Perfluorundekansäure (1HUnDA)	1765-48-6	98.5 %	abcr
2H,2H,3H,3H-Perfluorundekansäure (2HUnDA)	34598-33-9	97 %	abcr

Für die Festphasenextraktion wurden die Phasen Strata X-AW (Phenomenex) und Oasis WAX (Waters) verwendet.

9.3. Allgemeine Vorkehrungen zur Blindwertreduktion

Um alle möglichen Kontaminationsquellen zu eliminieren wurden mehrere Vorkehrungen zur Blindwertreduktion getroffen. Die bei der SPE verwendeten Flaschen aus Polypropylen wurden zuerst mit Aceton und dann mit Reinstwasser gespült. Auf die gleiche Weise wurden alle verwendeten Glasgefäße behandelt. Das Wasser wurde nach jedem Patronenwechsel in der Reinstwasseranlage auf gestiegene Blindwerte überprüft. Da Methyl-*tert*-butylether eine Quelle für PFCA Kontamination sein kann, wurde das Lösungsmittel vor der Verwendung destilliert, um die Blindwerte zu erniedrigen. Nach dem Austausch des Liners im GC wurden mindestens zehn Blindproben gemessen, bevor die Analyse von Proben gestartet wurde.

9.4. Vorbereitung den Stammlösungen

Die Stammlösungen von Perfluorcarbonsäuren wurden auf folgende Weise vorbereitet: 50 mg der entsprechenden Säure wurden eingewogen und in 5 ml Acetonitril (TES Methode) oder MTBE (DMF-DMA Methode) gelöst. Die Stammlösungen wurden bei 5 °C maximal vier Wochen aufbewahrt und zu gewünschten Konzentrationen weiter verdünnt. Um die Konzentration von 100 µg/ml zu erreichen wurden 50 µl jeder Säure in 5 ml eines Lösungsmittels verdünnt.

9.5. Methode zur Derivatisierung mit Triphenylsilanol und Trimethylsilanol

In einem Eppendorf Safe-Lock Gefäß aus Polypropylen wurde 1 ml PFOA-Lösung (100 µg/ml in Wasser) mit 100 µl 5M H₂SO₄ gemischt, weiter eine 50 µl Trimethylsilanol-Lösung oder Triphenylsilanol-Lösung (10 mg/ml in Acetonitril)

hinzu gegeben und die Probe leicht geschüttelt. Anschließend wurden 300 µl Heptan hinzu pipettiert und die Probe für 60 Minuten ausgeschüttelt. Die Messung der oberen Phase erfolgte mit GC-MS (TMSiOH) oder HPLC-UV (TPSiOH).

9.6. Optimierte Methode zur Derivatisierung mit TESI₂OH nach der d-SPE

Bei der optimierten Methode geschah die Derivatisierung durch die Zugabe von 250 µl 5 M H₂SO₄ und 1 ml gesättigter NaCl Lösung zur 3 ml Wasserprobe in einem Eppendorf Safe-Lock Gefäß. Anschließend wurden 250 µl einer 75 mM Triethylsilanollösung (10 mg/ml in Heptan) zugegeben und die Probe für 30 Minuten geschüttelt. Zur Messung wurde die obere Phase (Heptan) direkt in das GC-MS-System injiziert. Die PFCA-Derivate sind mindestens 24 Stunden bei Raumtemperatur und 7 Tage bei 8 °C stabil.

9.7. Optimierte Derivatisierungsmethode mit DMF-DMA und DMF-DEA

Die Derivatisierung mit DMF-DMA wurde in zwei Schritten durchgeführt. Zuerst wurde die in MTBE gelöste Probe (200µl) in einem GC-Mikrogefäß platziert. Anschließend wurde eine 50 µl Derivatisierungsmittel-Lösung (0.4 M DMF-DMA in MTBE) dazugegeben und das Gefäß dicht verschlossen. Die Messung erfolgte direkt mittels GC-MS.

Für die Untersuchung von Nebenprodukten der Reaktion wurden 200 µl PFOA Lösung (100 µg/ml) mit 50 µl 0.4 M DMF-DMA oder 0.4 M DMF-DEA gemischt und anschließend mittels GC-MS gemessen.

9.8. Die Derivatisierung von PFOA und Oktansäure mit DMF-DEA

PFOA und Oktansäure wurden eingewogen (50 mg) und in 5 ml Acetonitril gelöst. Danach sind die Lösungen zu den Konzentrationen von 100 µg/ml in Acetonitril verdünnt worden. Die Proben (1 ml) wurden mit 0.5 ml 0.2 M DMF-DEA in einem verschlossenen Gefäß für 15 Minuten bei 100 °C erhitzt. Anschließend folgte die Analyse der Proben mittels GC-MS.

9.9. Die Derivatisierung von PFOA mit DMF-DEA und DMF-DMA.

PFOA wurde eingewogen (50 mg) und in 5 ml Acetonitril gelöst. Nach der weiteren Verdünnung mit Acetonitril zu einer Konzentration von 200 µg/ml, wurden zwei Proben vorbereitet. Eine Lösung (200 µl) wurde mit 50 µl 0.2 M DMF-DEA in

einem GC-Gefäß gemischt. Die zweite Probe wurde durch das Mischen von 200 µl PFOA Lösung mit 50 µl 0.2 M DMF-DMA vorbereitet. Beide Proben sind ohne Erhitzen direkt in das GC-MS injiziert worden.

9.10. Vorbereitung von festen Proben für die DMF-DMA Methode

Alle zu untersuchenden Proben wurden eingewogen (100-500 mg) und nach der Zugabe des Extraktionsmittels 10 Minuten ausgeschüttelt. Danach folgte die Extraktion der Proben für 30 Minuten bei Raumtemperatur im Ultraschallbad. Als Extraktionsmittel wurde MTBE verwendet, welches 50 ng/ml Pentafluorbenzoesäure zur Kontrolle der Derivatisierungsreaktion enthielt. Die Proben wurden nachfolgend filtriert. Zu diesem Zweck wurde ein Einwegspritzenfilter Chromafil® GF/PET-20-25 von Macherey-Nagel (Düren, Deutschland) verwendet. Die Extrakte (200 µl) wurden anschließend mit einem Derivatisierungsmittel (50 µl 0.4 M DMF-DMA in MTBE) gemischt und direkt in das GC-MS injiziert.

Für das Vergleichsexperiment zwischen LC und GC wurden Textilien und Zahnseide geschnitten, eingewogen (500 mg) und nach der Zugabe des Extraktionsmittels (5 ml MTBE oder Methanol, ohne IS) 10 Minuten ausgeschüttelt. Danach folgte die Extraktion der Proben für 30 Minuten bei Raumtemperatur im Ultraschallbad und Filtration. Um das Wachs von dem Extrakt der Zahnseide abzutrennen, wurde die Probe nach der Extraktion für 30 Minuten in den Gefrierschrank gestellt. Im Anschluss wurde die Probe zentrifugiert und die feste Phase entfernt. Die mit MTBE extrahierten Proben wurden mittels GC-MS und LC-MS/MS analysiert. Die Methanol-Extrakte wurden ausschließlich mittels LC-MS/MS gemessen.

Für eine quantitative Analyse wurden die Extrakte nach der Filtration auf mindestens drei Gefäße mit je 180 µl aufgeteilt. Zu der Analyseprobe wurden 20 µl MTBE und zu den aufgestockten Proben je 20 µl einer Standardlösung zugegeben. Die Konzentration der Standardlösung wurde an die Konzentration von PFCA in der Probe angepasst.

9.11. Die Derivatisierung von PFCA mit Benzylbromid

Die Derivatisierungsmethode mit Benzylbromid basiert auf der Beschreibung von Orata et al. [63]. Die Probe (100 µg/ml PFCA-Gemisch) wurde in Aceton gelöst. Anschließend wurden 0.1 ml einer 100 mM Benzylbromidlösung in Aceton zugegeben

und die Probe für 15 Minuten bei 80 °C erhitzt. Das Aceton befand sich bei dieser Temperatur in der Gasphase, was jedoch die Reaktion nicht beeinflusst hat. Im Anschluss daran wurde die Probe unter leichtem Stickstoffstrom zur Trockne eingedampft und in 0.5 ml Methylchlorid gelöst. Die Messung der Probe erfolgte im TIC-Modus. Sowohl die Injektionsbedingungen als auch die Messbedingungen waren dieselben wie bei den mit BSTFA und DMF-DMA derivatisierten Proben (9.14.2).

9.12. Festphasenextraktion

9.12.1. SPE für die Derivatisierung mit TMSiOH

Zuerst ist die feste Phase mit 2 ml 0.1% Methanol, dann 2 ml Methanol und zuletzt 2 ml destilliertem Wasser konditioniert worden. Anschließend wurde ein Liter Wasserprobe mit einer Durchflussgeschwindigkeit von 5 ml pro Minute mit Hilfe von Vakuum durch die SPE-Kartusche geleitet. Danach wurde die Probe mit 2 ml Wasser, 2 ml 1% Ameisensäure in Aceton-Acetonitril (1:1, Vol./Vol.) und 2 ml Methanol gewaschen. Die absorbierten Analyten wurden dreimal mit 0.8 ml 0.1% Ammoniumhydroxid in Methanol eluiert. Die Probe ist bis zur Trockne eingedampft und dann mit 0.5 ml destilliertem Wasser aufgenommen worden.

9.12.2. Optimierte d-SPE für die Derivatisierung mit TESiOH

Die SPE Phase (50 mg, Strata X-AW) wurde 30 Minuten in eine Wasserprobe (250 ml + 1 ml 1 N HCl) eingelegt. Danach ist die feste Phase in eine leere SPE-Kartusche mit Polyethylen-Fritte gegeben und mit 250 µl Aceton gewaschen worden. Im nächsten Schritt wurde die Probe mit 250 µl NH₄OH (0.1 % Lösung in Ethanol) eluiert und das Eluat in ein Eppendorf Safe-Lock Gefäß überführt. Zusätzlich wurde die feste Phase mit 2 ml gesättigter NaCl-Lösung eluiert, die dann ebenfalls in ein Eppendorf Safe-Lock Gefäß überführt wurden. Im letzten Schritt wurde ein Derivatisierungsverfahren mit dem, nach d-SPE erhaltenen angesäuerten Extrakt durchgeführt.

9.13. HPLC-UV

Die HPLC-Analyse wurde mit einem LaChrom HPLC-System mit L-7420 UV/Vis-Detektor durchgeführt. Getrennt wurde in einer Reprosil C18 Säule mit einer Partikelgröße von 5 µm und den Abmessungen 150 mm x 4 mm. Die mobile Phase war Methanol/Wasser mit einer Durchflussgeschwindigkeit von 0.7 ml/min. Die

gesamte Analysezeit betrug 15 Minuten. Die Analyten wurden bei einer Wellenlänge von 222 nm detektiert. Die Gradienten der mobilen Phase sind in Tabelle 29 dargestellt. Das Injektionsvolumen im HPLC-System betrug 50 µl.

Tabelle 29 Gradienten der mobilen Phasen für HPLC-UV.

Zeit	Wasser	Methanol
0.00	20%	80%
2.00	20%	80%
18.00	0%	100%
19.00	20%	80%
22.00	20%	80%

9.14. GC-MS Agilent

Das GC-MS System, mit dem die meisten Untersuchungen durchgeführt wurden, stammt von Agilent. Die Basisinformationen sind in Tabelle 30 aufgelistet.

Tabelle 30 Technische Informationen zu dem Agilent GC-MS System

GC-MS Agilent	
GC-MS System	Gaschromatograph Agilent 7890B Ein lineares Quadrupol-Massenspektrometer Agilent 5977B
Software	Mass Hunter Workstation Software Mass Hunter Data Analysis (Messung) Mass Hunter Qualitative Analysis B.07.00
Trärgas	Helium 4.6; 1.0 ml/min

9.14.1. GC-MS Parameter für die TES Methode

Die GC-MS-Analyse wurde unter Verwendung eines Agilent Systems durchgeführt, welches mit einer DB-5MS-Kapillarsäule (Agilent J&W Scientific, 30 m, 0,25 mm Innendurchmesser, Filmdicke: 0,25 µm) ausgestattet war. Die Proben wurden im Splitless-Modus injiziert.

Für die Analyse der PFCA-Mischung mit der TES Methode begann der Temperaturverlauf des GC-Ofens bei 40 °C für 8 Minuten und stieg dann mit 5 °C/min auf 80 °C. Danach wurde die Temperatur auf 320 °C erhöht. Die Gesamtanalysezeit betrug 22.5 Minuten. Die Transferline wurde auf 320 °C eingestellt. Die injizierte Menge hatte ein Volumen von 1 µl und die Temperatur des Injektors wurde auf 250°C

eingestellt. Alle Analysen wurden im GC-MS-Full-Scan-Modus (TIC, engl. *Total Ion Current*) im Bereich von m/z 50–650 und im SIM-Modus (engl. *Selected Ion Monitoring*) durchgeführt. Die im SIM-Modus gemessenen m/z -Werte für einzelne PFCA-Verbindungen sind in Tabelle 31 dargestellt.

Tabelle 31 Die Retentionszeiten und quantitative Ionen für die SIM-Messung der TES Methode.

Analyt	Retentionszeit [min]	Quant. Ionen [m/z]
PFPrA	8.69	249
PFBA	9.62	299
PFPA	10.59	349
PFHxA	11.65	399
PFHpA	12.85	449
PFOA	14.06	499, 319
PFNA	15.33	549, 369
PFDA	16.61	599, 419
PFUnDA	17.88	649, 469
PFDODA	19.12	699, 519

9.14.2. GC-MS Parameter für die DMF-DMA Methode

Die GC-MS-Analyse wurde unter Verwendung eines Agilent Systems durchgeführt, welches mit einer HP-5MS-UI Kapillarsäule (Agilent J&W Scientific, 30 m, 0.25 mm Innendurchmesser, Filmdicke: 0.25 μ m) ausgestattet war.

Für die Analyse der PFCA-Mischung mit der DMF-DMA Methode begann das Temperaturprogramm bei 40 °C, welche für 6.5 Minuten gehalten wurden. Danach stieg die Temperatur mit 10 °C/min auf 100 °C und wurde anschließend mit 30 °C/min bis auf 320 °C erhöht und 5 Minuten gehalten. Die Gesamtanalysezeit betrug 24.83 Minuten. Die Transferline war auf 320 °C eingestellt. Die Proben wurden im Pulsed Splitless Modus (35 psi 0.5 min, purge flow 100 ml/min 1.5 Minute) oder im Split-Modus (1:5) gemessen. Die injizierte Menge betrug 1.4 μ l und die Temperatur des Injektors 275 °C. Alle Analysen wurden im GC-MS TIC-Modus im Bereich von m/z 50–850 und im SIM-Modus durchgeführt. Die im SIM-Modus gemessenen m/z -Werte für einzelne PFCA-Verbindungen sind in Tabelle 32 dargestellt.

Tabelle 32 Retentionszeiten und quantitative Ionen für die DMF-DMA Methode.

Analyt	Retentionszeit [min]	Quant. Ionen [m/z]
PFBA	6.491	226
PFPA	8.510	276
PFH _x A	10.113	326
PFHpA	11.431	376
PFOA	12.558	426
PFNA	13.382	476
PFDA	13.962	526
PFO _n DA	14.426	576
PFO _o DA	14.803	626

9.14.3. GC-MS-NCI

In einem Eppendorf Safe-Lock Gefäß aus Polypropylen wurde 1 ml PFOA-Lösung (5 µg/ml in Wasser) mit 100 µl 5M H₂SO₄ gemischt, weiter eine 50 µl Trimethylsilanol-Lösung oder Triethylsilanol-Lösung (10 mg/ml in Acetonitril) hinzu gegeben und die Probe leicht geschüttelt. Anschließend wurden 300 µl Heptan hinzu pipettiert und die Probe für 60 Minuten ausgeschüttelt.

Die MS Spektren der PFOA Derivate nach der Reaktion mit TMSiOH und TESiOH wurden auch bei der NCI (*Negativ-Ionen-Chemische Ionisation*) aufgenommen. Zu diesem Zweck ist die EI-Ionenquelle durch eine CI-Ionenquelle im GC-MS System (siehe 9.14.1) ersetzt worden. Als Reagenzgas für PFOA-TMS wurde Methan mit der Reinheit 4.5 (99.995%) verwendet. Für die Analyse von PFOA-TES wurde Methan durch Ammoniak 4.5 ersetzt, um das Filament des MS zu schützen. Der Durchfluss des Reagenzgas wurde auf 2 ml/min eingestellt. Die Temperaturen der Ionenquelle und des Quadrupols betragen 150 °C. Emission und Elektronenenergie wurden auf 50 µA und 150 eV eingestellt, die Transferline auf 280 °C. Das Temperaturprogramm war identisch zu dem in Punkt 9.14.1. Die NCI Spektren wurden im TIC Modus im Bereich von m/z 50–650 aufgenommen.

9.14.4. GC-MS-PCI

Eine positive chemische Ionisation wurde verwendet, um die Spektren der PFOA Derivate nach der Reaktion mit DMF-DMA und DMF-DEA aufzunehmen. Benutzt wurde ein Agilent GC-MS System mit CI-Ionenquelle und Methan (Reinheit

4.5) als Reagenzgas. Der Durchfluss des Reagenzgases wurde auf 1 ml/min festgelegt. Die Temperaturen der Ionenquelle und des Quadrupols betragen 250 °C und 150 °C. Emission und Elektronenenergie wurden auf 50 µA und 150 eV eingestellt. Die injizierte Menge hatte ein Volumen von 1 µl und die Temperatur des Injektors war auf 275 °C eingestellt. Die Injektionen wurden in einem Split-Modus (1:10) durchgeführt. Die Transferline wurde auf 280 °C eingestellt. Das Temperaturprogramm war identisch zu dem in 9.14.2. Die Spektren wurden im TIC Modus im Bereich von m/z 50–850 aufgenommen.

9.15. GC-MS Varian

Ein Varian CP-3800 Gaschromatograph mit Varian Saturn 2200 Massenspektrometer wurde zur Untersuchung von Nebenprodukten der Reaktionen von PFOA mit DMF-DMA bzw. DMF-DEA verwendet. Die Basisinformationen über das GC System sind in Tabelle 33 aufgelistet.

Tabelle 33 Technische Informationen zu dem Varian GC-MS System.

GC-MS Varian	
GC-MS System	Gaschromatograph Varian CP-3800 Massenspektrometer Saturn 2200 (Ionenfalle)
Software	MS Workstation SP1 Version 6.5
Trärgas	Helium 4.6; 1.0 ml/min

Die Trennung erfolgte in einer J&W DB-WAXetr Säule (Agilent J&W Scientific, 30 m, 0.25 mm Innendurchmesser, Filmdicke: 0.5 µm). Die Injektion wurde im Split Modus (1:10) durchgeführt. Die injizierte Menge betrug 1 µl und die Temperatur des Injektors wurde auf 275 °C, die Temperatur der Ionenfalle auf 180 °C und die Temperatur der Transferline auf 220 °C eingestellt. Das Temperaturprogramm begann bei 40 °C und wurde für 5 Minuten bei dieser Temperatur gehalten. Danach stieg die Temperatur mit 10 °C/min auf 200 °C und wurde 10 Minuten gehalten. Die Gesamtanalysezeit betrug 31 Minuten.

9.16. LC-MS/MS

Die LC-MS/MS Analysen von Abwasser- und Leitungswasserproben wurden im Labor Limbach GmbH nach DIN 118 38407-42: 2011-03 [33] durchgeführt. Es wurde ein Shimadzu Nexera LC System mit der Säule Sunshell C18 (2.1x100 mm)

verwendet. Die mobile Phase bestand aus 20 mM Ammoniumformiat mit 0.1 Vol. % Ameisensäure (A) und Methanol mit 0.1 Vol % Ameisensäure (B). Das System wurde so programmiert, dass es einen linearen Gradienten mit einer anfänglichen Zusammensetzung von 5 % B in A bis 95 % B in A hatte. Der Fluss durch die Säule betrug 0.45 ml/min. Das Injektionsvolumen wurde auf 40 µl eingestellt. Ein Sciex Triple Quadrupole 5500-Massenspektrometer wurde an das LC-System gekoppelt und im ESI-Negativionenmodus betrieben.

Die LC-MS/MS Analysen von Textilien und Zahnseide-Extrakten wurden im Labor Analytik Institut Rietzler GmbH nach DIN 38407-F42:2011-03 durchgeführt. Es wurde ein Shimadzu Nexera X2 System mit einem Massenspektrometer AB Sciex QTrap 5500 verwendet. Die Trennung erfolgte in einer C18 Säule Synergi Fusion-RP von Phenomenex (150 x 2 mm, 4 µm) mit Gradienten aus H₂O (5 mmol Ammonium acetat) und Methanol (0.05 % Essigsäure) mit einem Fluss von 0.3 ml/min bei 35 °C.

9.17. ESI-FT-ICR-MS

Für die ESI Analyse wurde eine 10 mM PFOA-Lösung in Acetonitril hergestellt. Zu diesem Zweck wurden 20.7 mg PFOA eingewogen und in 5 ml Acetonitril gelöst. Anschließend wurden 50 µl DMF-DMA in 1 ml Acetonitril gelöst und diese Lösung zehnfach verdünnt. Die Konzentration des Derivatisierungsmittel betrug 37.4 mM. Danach wurden 500 ml PFOA-Lösung mit 500 µl DMF-DMA Lösung gemischt und gemessen.

Ein Bruker-Apex-Qe-Fourier-Transform-Ionenzyklotronresonanz (FT-ICR)-Massenspektrometer (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Deutschland) wurde verwendet, um die ESI-MS-Experimente durchzuführen. Das Gerät ist mit einem supraleitenden 9,4-T-Magneten und einer, von ESI zu MALDI umschaltbaren Ionenquelle (Dual-Source-MTP), ausgestattet. Der Massenanalysator dieses Instruments umfasst einen Radiofrequenz (RF)-Hexapol (h1), einen massenselektiven, linearen Quadrupol (Q), einen zweiten RF-Hexapol (h2) und eine Hochspannungs-Ionentransferstrecke, um Ionen von h2 in die ICR-Zelle zu transferieren. Der RF-Hexapol h2 wurde verwendet, um Ionen für 0,2 bis 2,0 Sekunden vor der ICR-Massenanalyse zu sammeln (akkumulieren). Die Ionen wurden unter Verwendung von Standardeinstellungen angeregt und detektiert. Die Datenerfassung erfolgte im Breitbandmodus mit 2 MB Datenpunkten. Typischerweise wurden 16 Transienten für ein Spektrum im Amplitudenmodus akkumuliert. Die externe Massenkalisierung für

den Bereich m/z 200–1800 ist mit Agilent ES Tunemix (G2421A) [182,183] durchgeführt worden. Die Massengenauigkeit betrug 1–2 ppm. Die Proben wurden als Lösungen mit $\leq 10^{-3}$ M in Acetonitril injiziert und mittels ESI-MS im positiven und negativen Ionen-Modus untersucht.

Für Tandem-MS-Experimente wurde das Stoßgas Argon mit einem Durchfluss von 0.5 l/s in h2 eingelassen. Vorläufer-Ionen wurden im Quadrupol unter Verwendung eines 8-u-Massenfensters ausgewählt, um die gesamte Isotopenverteilung einzubeziehen und dann durch Einstellen einer Kollisionsoffset-Spannung (3–10 V) nach Bedarf in h2 hinein beschleunigt, um den gewünschten Fragmentierungsgrad zu erzielen.

Das Gerät wurde mit der Software Bruker ApexControl (V 3.0.0) gesteuert und die Datenanalyse mit der Software Bruker DataAnalysis (V 4.3) durchgeführt.

9.18. DART-FT-ICR-MS

Für die DART Analyse wurde eine 10 mM PFOA-Lösung in Acetonitril hergestellt. Zu diesem Zweck sind 20.7 mg PFOA eingewogen und in 5 ml Acetonitril gelöst worden. Anschließend wurden 50 μ l DMF-DMA in 1 ml Acetonitril gelöst und diese Lösung zehnfach verdünnt. Die Konzentration des Derivatisierungsmittels betrug 37.4 mM. Danach wurden 500 ml PFOA-Lösung mit 500 μ l DMF-DMA Lösung gemischt und gemessen.

Das Bruker Apex-Qe FT-ICR-Massenspektrometer wurde auch zur DART Analyse verwendet. Der RF-Hexapol h2 wurde verwendet, um die Ionen für 0,2–2,0 Sekunden vor der ICR-Massenanalyse zu sammeln (akkumulieren). Die Ionen sind unter Verwendung der Standardeinstellung [184,185] angeregt und detektiert worden. Der Bereich von m/z 200–2500 war ausgewählt und pro Spektrum wurden 16 Transienten akkumuliert. Die Breitbandspektren wurden mit 1 MB Datenpunkten aufgenommen. Das Gerät wurde mit der Software Bruker ApexControl (V 3.0.0) gesteuert und die Datenanalyse mit der Software Bruker DataAnalysis (V 4.0) durchgeführt.

Die ESI-Quelle wurde durch die DART-SVP-Ionenquelle (IonSense Inc., Saugus, MA) ersetzt, die unter Verwendung des sogenannten Vapor-Interfaces anstelle des ESI-Sprühkopfs an das ESI-Interface montiert wurde. Das Vapor-Interface bildet eine zusätzliche Pumpstufe (Membranpumpe), um die Heliumgasbelastung des Instruments während des DART-Betriebs zu verringern. Die Substanzen wurden im

DART-Transmissionsmodus unter Verwendung der OpenSource gemessen, d.h., ein Einwegprobenträger, bei dem der Analyt von einem feinen Metalldrahtgitter desorbiert wird, wurde verwendet [186,187]. Die externe Massenkalisierung im DART-Modus mit positiven und negativen Ionen wurde unter Verwendung der ionischen Flüssigkeit 1-Butyl-3-methylimidazoliumtricyanomethanid als Lösung in einer Konzentration von 1 mg/ml durchgeführt [188].

Die Massengenauigkeit betrug 2 ppm. Für die DART-Analyse der Probe sind Lösungen mit $\leq 10^{-3}$ M in Acetonitril verwendet und 3 μ l der jeweiligen Lösung auf die Probenträger der Open Source aufgetragen worden. Die Temperatur der DART-Quelle wurde auf 250 °C eingestellt.

Für Tandem-MS-Experimente wurde das Stoßgas Argon mit einem Durchfluss von 0.6 l/s in h2 eingelassen. Vorläufer-Ionen wurden im Quadrupol unter Verwendung eines 8-u-Massenfensters ausgewählt, um die gesamte Isotopenverteilung einzubeziehen und dann durch Einstellen einer Kollisionsoffset-Spannung (3–10 V) in h2 beschleunigt.

9.19. LIFDI-TOF-MS

In LIFDI kann Acetonitril als Lösungsmittel nicht verwendet werden, da es beim Eintritt in das Vakuum einfriert und somit den Emitter nicht benetzen kann. Daher wurde für das LIFDI Experiment das Reaktionsgemisch (siehe 9.18) zehnfach in Methanol verdünnt und in einem JEOL AccuTOF GCx-Flugzeitmassenspektrometer (Jeol, Tokio, Japan) in Kombination mit einer neuartigen Liquid Injection Field Desorption-Ionenquelle (LIFDI) (Linden CMS, Weyhe, Deutschland) [189] gemessen.

Ein aktivierter Wolframdrahtemitter (Typ LIFDI 413) auf Basis von 13 μ m Draht wurde eingesetzt und bei einem Gegenelektrodenpotential von –10 kV betrieben. Das Instrumenten-Tuning war im Feldionisationsmodus (FI) an dem Molekül-Ion von Toluol (m/z 92), welches gasförmig über die Probentransferkapillare eingelassen wurde, durchgeführt worden. Die externe Massenkalisierung war im LIFDI-Modus durchgeführt worden, indem eine Mischung von Polystyrolen gemessen wurde, die als Lösung in Toluol [190] zugeführt wurde. Somit konnte für nachfolgende Messungen eine Massengenauigkeit von ± 0.05 u erreicht werden. Die Proben wurden als Lösungen in Methanol zugeführt und der Emitterheizstrom wurde von 0 mA auf

30 mA/min erhöht, bis die Probe vollständig verbraucht war. LIFDI-Spektren wurden bei 1 Spektrum pro Sekunde aufgenommen. Die endgültigen LIFDI-Spektren repräsentieren Akkumulationen der jeweiligen Periode der Ionenbildung.

9.20. FTIR

Zur FTIR-Spektroskopie von PFCA und deren Derivaten wurde ein Nicolet iS5-Fourier-Transformations-Infrarotspektrometer (FTIR) (Thermo Scientific) mit einem ID-5-Zubehör verwendet. Die Messung wurde im Wellenzahlenbereich von 4000–650 cm^{-1} durchgeführt. Um PFAO zu einem seiner Ammoniumsalze umzusetzen, wurde PFOA (1 mg/ml in Acetonitril) mit einem zehnfachen molaren Überschuss von Tetrabutylammoniumhydroxid (TBAOH) gemischt.

Literaturangaben

- [1] Schwarzenbach, R. P.; Escher, B. I.; Fenner, K.; Hofstetter, T. B.; Johnson, C. A.; von Gunten, U.; Wehrli, B. (2006): The challenge of micropollutants in aquatic systems. *Science (New York, N.Y.)* **313** (5790). S.1072–1077. doi: 10.1126/science.1127291
- [2] United Nations Educational, Scientific, and Cultural Organization, World Water Assessment Programme (2003): Water for People, Water for Life—the United Nations World Water Development Report. https://www.un.org/esa/sustdev/publications/WWDR_english_129556e.pdf, abgerufen am: 10.12.2019
- [3] Kim, M.-K.; Zoh, K.-D. (2016): Occurrence and removals of micropollutants in water environment. *Environmental Engineering Research* **21** (4). S.319–332. doi: 10.4491/eer.2016.115
- [4] Ternes, T. A. (1998): Occurrence of drugs in German sewage plants and rivers. *Water research* **32** (11). S. 3245–3260. doi: 10.1016/S0043-1354(98)00099-2
- [5] Loos, R.; Carvalho, R.; António, D. C.; Comero, S.; Locoro, G.; Tavazzi, S.; Paracchini, B.; Ghiani, M.; Lettieri, T.; Blaha, L.; Jarosova, B.; Voorspoels, S.; Servaes, K.; Haglund, P.; Fick, J.; Lindberg, R. H.; Schwesig, D.; Gawlik, B. M. (2013): EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. *Water research* **47** (17). S.6475–6487. doi: 10.1016/j.watres.2013.08.024
- [6] Luo, Y.; Guo, W.; Ngo, H. H.; Nghiem, L. D.; Hai, F. I.; Zhang, J.; Liang, S.; Wang, X. C. (2014): A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *The Science of the total environment* **473-474** . S.619–641. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.12.065
- [7] Petrovic, M., Gonzalez, S., Barceló, D. (2003): Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. *Trends in Analytical Chemistry* **22** (10). S.685–696. doi: 10.1016/S0165-9936(03)01105-1
- [8] Lapworth, D. J.; Baran, N.; Stuart, M. E.; Ward, R. S. (2012): Emerging organic contaminants in groundwater. A review of sources, fate and occurrence. *Environmental Pollution* **163** . S.287–303. doi: 10.1016/j.envpol.2011.12.034
- [9] Eljarrat, E. (2003): Priority lists for persistent organic pollutants and emerging contaminants based on their relative toxic potency in environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry* **22** (10). S.655–665. doi: 10.1016/S0165-9936(03)01001-X
- [10] Jacob, J. (2013): A Review of the Accumulation and Distribution of Persistent Organic Pollutants in the Environment. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics* . S.657–661. doi: 10.7763/IJBBB.2013.V3.297

- [11] Lamastra, L.; Balderacchi, M.; Trevisan, M. (2016): Inclusion of emerging organic contaminants in groundwater monitoring plans. *MethodsX* **3** . S.459–476. doi: 10.1016/j.mex.2016.05.008
- [12] Hernando, M. D.; Mezcua, M.; Fernández-Alba, A. R.; Barceló, D. (2006): Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta* **69** (2). S.334–342. doi: 10.1016/j.talanta.2005.09.037
- [13] Kissa, E. (1994): Fluorinated surfactants. Synthesis, properties, applications. Surfactant science series, Bd. 50. New York: Dekker ISBN 0824790111
- [14] Wang, P.; Wang, T.; Giesy, J. P.; Lu, Y. (2013): Perfluorinated compounds in soils from Liaodong Bay with concentrated fluorine industry parks in China. *Chemosphere* **91** (6). S.751–757. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.02.017
- [15] Yamashita, N.; Kannan, K.; Taniyasu, S.; Horii, Y.; Petrick, G.; Gamo, T. (2005): A global survey of perfluorinated acids in oceans. *Marine pollution bulletin* **51** (8-12). S.658–668. doi: 10.1016/j.marpolbul.2005.04.026
- [16] Lindstrom, A. B.; Strynar, M. J.; Libelo, E. L. (2011): Polyfluorinated compounds: past, present, and future. *Environmental science & technology* **45** (19). S.7954–7961. doi: 10.1021/es2011622
- [17] Goss, K.-U. (2008): The pKa values of PFOA and other highly fluorinated carboxylic acids. *Environmental Science & Technology* **42** (2). S.456–458. doi: 10.1021/es702192c
- [18] Webster, E. M.; Ellis, D. A. (2011): Equilibrium modeling: A pathway to understanding observed perfluorocarboxylic and perfluorosulfonic acid behavior. *Environmental toxicology and chemistry* **30** (10). S.2229–2236. doi: 10.1002/etc.637
- [19] Rayne, S.; Forest, K. (2009): Perfluoroalkyl sulfonic and carboxylic acids: a critical review of physicochemical properties, levels and patterns in waters and wastewaters, and treatment methods. *Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering* **44** (12). S.1145–1199. doi: 10.1080/10934520903139811
- [20] Günter, S.; Schwertfeger, W.; Feiring, A.; Smart, B.; Behr, F.; Vogel, H.; McKusick, B. (2000): Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Fluorine Compounds, Organic. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA ISBN 3527306730
- [21] Blum, A.; Balan, S. A.; Scheringer, M.; Trier, X.; Goldenman, G.; Cousins, I. T.; Diamond, M.; Fletcher, T.; Higgins, C.; Lindeman, A. E.; Peaslee, G.; Voogt, P. de; Wang, Z.; Weber, R. (2015): The Madrid Statement on Poly- and Perfluoroalkyl Substances (PFASs). *Environmental Health Perspectives* **123** (5). A107-11. doi: 10.1289/ehp.1509934.
- [22] Janda, J.; Nödler, K.; Brauch, H.-J.; Zwiener, C.; Lange, F. T. (2019): Robust trace analysis of polar (C2-C8) perfluorinated carboxylic acids by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: method development and

- application to surface water, groundwater and drinking water. *Environmental Science and Pollution Research* **26** . S.7326–7336. doi: 10.1007/s11356-018-1731-x
- [23] Ahrens, L.; Taniyasu, S.; Yeung, L. W. Y.; Yamashita, N.; Lam, P. K. S.; Ebinghaus, R. (2010): Distribution of polyfluoroalkyl compounds in water, suspended particulate matter and sediment from Tokyo Bay, Japan. *Chemosphere* **79** (3). S.266–272. doi: 10.1016/j.chemosphere.2010.01.045
- [24] Vierke, L.; Möller, A.; Klitzke, S. (2014): Transport of perfluoroalkyl acids in a water-saturated sediment column investigated under near-natural conditions. *Environmental Pollution* **186** . S.7–13. doi: 10.1016/j.envpol.2013.11.011
- [25] Gellrich, V.; Stahl, T.; Knepper, T. P. (2012): Behavior of perfluorinated compounds in soils during leaching experiments. *Chemosphere* **87** (9). S.1052–1056. doi: 10.1016/j.chemosphere.2012.02.011
- [26] European Chemical Agency (2018): Candidate list of substances of very high concern for authorisation. <https://echa.europa.eu/en/candidate-list-table>, abgerufen am: 07.05.2018
- [27] Stahl, T.; Mattern, D.; Brunn, H. (2011): Toxicology of perfluorinated compounds. *Environ Sci Eur* **23** (38). S.1–52. doi: 10.1186/2190-4715-23-38
- [28] European Chemicals Agency (2011): RAC adopts 13 scientific opinions on the harmonised classification and labelling of industrial chemicals and pesticide active substances. https://echa.europa.eu/en/web/guest/view-article/-/journal_content/4709c09f-6dde-4aab-8d8c-4991b7622f45, abgerufen am: 21.07.2020
- [29] European Chemical Agency (2018): REACH Restricted Substance List 2018, abgerufen am: 07.05.2018
- [30] Wang, Z.; Cousins, I. T.; Scheringer, M.; Hungerbühler, K. (2013): Fluorinated alternatives to long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids (PFCAs), perfluoroalkane sulfonic acids (PFSA) and their potential precursors. *Environment International* **60** . S.242–248. doi: 10.1016/j.envint.2013.08.021
- [31] Yeung, L. W. Y.; So, M. K.; Jiang, G.; Taniyasu, S.; Yamashita, N.; Song, M.; Wu, Y.; Li, J.; Giesy, J. P.; Guruge, K. S.; Lam, P. K. S. (2006): Perfluorooctanesulfonate and Related Fluorochemicals in Human Blood Samples from China. *Environ Sci Technol* **40** (3). S.715–720. doi: 10.1021/es052067y
- [32] Silva, A. O. de; Mabury, S. A. (2006): Isomer Distribution of Perfluorocarboxylates in Human Blood: Potential Correlation to Source. *Environmental Science & Technology* **40** (9). S.2903–2909. doi: 10.1021/es0600330
- [33] Kannan, K.; Corsolini, S.; Falandysz, J.; Fillmann, G.; Kumar, K. S.; Loganathan, B. G.; Mohd, M. A.; Olivero, J.; van Wouwe, N.; Yang, J. H.; Aldous, K. M. (2004): Perfluorooctanesulfonate and Related Fluorochemicals

- in Human Blood from Several Countries. *Environ Sci Technol* **38** (17). S.4489–4495. doi: 10.1021/es0493446
- [34] Kotthoff, M.; Müller, J.; Jürling, H.; Schlummer, M.; Fiedler, D. (2015): Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in consumer products. *Environmental science and pollution research international* **22** (19). S.14546–14559. doi: 10.1007/s11356-015-4202-7
- [35] Guo, Z.; Liu, X.; Krebs, K. A.; Roache, N. F. (2009): US EPA's Perfluorocarboxylic Acid Content in 116 Articles of Commerce. <https://www.oecd.org/env/48125746.pdf>, abgerufen am: 21.07.2020
- [36] Fiedler, S.; Pfister, G.; Schramm, K.-W. (2010): Poly- and perfluorinated compounds in household consumer products. *Toxicol Environ Chem* **92** (10). S.1801–1811. doi: 10.1080/02772248.2010.491482
- [37] Vestergren, R.; Berger, U.; Glynn, A.; Cousins, I. T. (2012h): Dietary exposure to perfluoroalkyl acids for the Swedish population in 1999, 2005 and 2010. *Environ Int* **49** . S.120–127. doi: 10.1016/j.envint.2012.08.016
- [38] Herzke, D.; Huber, S.; Bervoets, L.; D'Hollander, W.; Hajslova, J.; Pulkrabova, J.; Brambilla, G.; Filippis, S. P. de; Klenow, S.; Heinemeyer, G.; Voogt, P. de (2013): Perfluorinated alkylated substances in vegetables collected in four European countries; occurrence and human exposure estimations. *Environmental Science and Pollution Research* **20** (11). S.7930–7939. doi: 10.1007/s11356-013-1777-8
- [39] D'Hollander, W.; Herzke, D.; Huber, S.; Hajslova, J.; Pulkrabova, J.; Brambilla, G.; Filippis, S. P. de; Bervoets, L.; Voogt, P. de (2015): Occurrence of perfluorinated alkylated substances in cereals, salt, sweets and fruit items collected in four European countries. *Chemosphere* **129** . S.179–185. doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.10.011
- [40] Heo, J.-J.; Lee, J.-W.; Kim, S.-K.; Oh, J.-E. (2014): Foodstuff analyses show that seafood and water are major perfluoroalkyl acids (PFAAs) sources to humans in Korea. *Journal of hazardous materials* **279** . S.402–409. doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.07.004
- [41] Prevedouros, K.; Cousins, I. T.; Buck, R. C.; Korzeniowski, S. H. (2006): Sources, Fate and Transport of Perfluorocarboxylates. *Environmental Science & Technology* **40** (1). S.32–44. doi: 10.1021/es0512475
- [42] Wallington, T. J.; Hurley, M. D.; Xia, J.; Wuebbles, D. J.; Sillman, S.; Ito, A.; Penner, J. E.; Ellis, D. A.; Martin, J.; Mabury, S. A.; Nielsen, O. J.; Sulbaek Andersen, M. P. (2006): Formation of C 7 F 15 COOH (PFOA) and Other Perfluorocarboxylic Acids during the Atmospheric Oxidation of 8:2 Fluorotelomer Alcohol. *Environ Sci Technol* **40** (3). S.924–930. doi: 10.1021/es051858x
- [43] Ellis, D. A.; Martin, J. W.; Silva, A. O. de; Mabury, S. A.; Hurley, M. D.; Sulbaek Andersen, M. P.; Wallington, T. J. (2004): Degradation of Fluorotelomer Alcohols: A Likely Atmospheric Source of Perfluorinated

- Carboxylic Acids. *Environ Sci Technol* **38** (12). S.3316–3321. doi: 10.1021/es049860w
- [44] Rankin, K.; Mabury, S. A.; Jenkins, T. M.; Washington, J. W. (2016): A North American and global survey of perfluoroalkyl substances in surface soils: Distribution patterns and mode of occurrence. *Chemosphere* **161** . S.333–341. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.06.109
- [45] Lechner, M.; Knapp, H. (2011): Carryover of perfluorooctanoic acid (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS) from soil to plant and distribution to the different plant compartments studied in cultures of carrots (*Daucus carota* ssp. *Sativus*), potatoes (*Solanum tuberosum*), and cucumbers (*Cucumis Sativus*). *Journal of agricultural and food chemistry* **59** (20). S.11011–11018. doi: 10.1021/jf201355y
- [46] So, M. K.; Miyake, Y.; Yeung, W. Y.; Ho, Y. M.; Taniyasu, S.; Rostkowski, P.; Yamashita, N.; Zhou, B. S.; Shi, X. J.; Wang, J. X.; Giesy, J. P.; Yu, H.; Lam, P. K. S. (2007): Perfluorinated compounds in the Pearl River and Yangtze River of China. *Chemosphere* **68** (11). S.2085–2095. doi: 10.1016/j.chemosphere.2007.02.008
- [47] Ahrens, L.; Xie, Z.; Ebinghaus, R. (2010): Distribution of perfluoroalkyl compounds in seawater from northern Europe, Atlantic Ocean, and Southern Ocean. *Chemosphere* **78** (8). S.1011–1016. doi: 10.1016/j.chemosphere.2009.11.038
- [48] Yang, L.; Zhu, L.; Liu, Z. (2011): Occurrence and partition of perfluorinated compounds in water and sediment from Liao River and Taihu Lake, China. *Chemosphere* **83** (6). S.806–814. doi: 10.1016/j.chemosphere.2011.02.075
- [49] Loganathan, B. G.; Sajwan, K. S.; Sinclair, E.; Senthil Kumar, K.; Kannan, K. (2007): Perfluoroalkyl sulfonates and perfluorocarboxylates in two wastewater treatment facilities in Kentucky and Georgia. *Wat Res* **41** (20). S.4611–4620. doi: 10.1016/j.watres.2007.06.045
- [50] Post, G. B.; Louis, J. B.; Cooper, K. R.; Boros-Russo, B. J.; Lippincott, R. L. (2009): Occurrence and Potential Significance of Perfluorooctanoic Acid (PFOA) Detected in New Jersey Public Drinking Water Systems. *Environ Sci Technol* **43** (12). S.4547–4554. doi: 10.1021/es900301s
- [51] Young, C. J.; Furdui, V. I.; Franklin, J.; Koerner, R. M.; Muir, D. C. G.; Mabury, S. A. (2007): Perfluorinated Acids in Arctic Snow: New Evidence for Atmospheric Formation. *Environ Sci Technol* **41** (10). S.3455–3461. doi: 10.1021/es0626234
- [52] Verwaltungsgericht Karlsruhe (2015): Verdacht einer schädlichen Bodenveränderung. *Natur und Recht* **37** (7). S.506–508. doi: 10.1007/s10357-015-2867-9
- [53] Regierungspräsidium Karlsruhe (2018): Sicherstellung der Trinkwasserqualität und Bewertungsmaßstäbe, abgerufen am: 07.05.2018

- [54] Ahrens, L.; Felizeter, S.; Sturm, R.; Xie, Z.; Ebinghaus, R. (2009): Polyfluorinated compounds in waste water treatment plant effluents and surface waters along the River Elbe, Germany. *Mar Pollut Bull* **58** (9). S.1326–1333. doi: 10.1016/j.marpolbul.2009.04.028
- [55] Llorca, M.; Farré, M.; Picó, Y.; Müller, J.; Knepper, T. P.; Barceló, D. (2012): Analysis of perfluoroalkyl substances in waters from Germany and Spain. *The Science of the total environment* **431** . S.139–150. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.05.011
- [56] Gellrich, V.; Brunn, H.; Stahl, T. (2013): Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in mineral water and tap water. *Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering* **48** (2). S.129–135. doi: 10.1080/10934529.2013.719431
- [57] Pichon, V. (2000): Solid-phase extraction for multiresidue analysis of organic contaminants in water. *J Chromatogr A* **885** (1-2). S.195–215. doi: 10.1016/S0021-9673(00)00456-8
- [58] Ribeiro, C.; Ribeiro, A. R.; Maia, A. S.; Gonçalves, V. M. F.; Tiritan, M. E. (2014): New trends in sample preparation techniques for environmental analysis. *Critical reviews in analytical chemistry* **44** (2). S.142–185. doi: 10.1080/10408347.2013.833850
- [59] Yao, C.; Li, T.; Twu, P.; Pitner, W. R.; Anderson, J. L. (2011): Selective extraction of emerging contaminants from water samples by dispersive liquid-liquid microextraction using functionalized ionic liquids. *J Chromatogr A* **1218** (12). S.1556–1566. doi: 10.1016/j.chroma.2011.01.035
- [60] Henderson, W. M.; Weber, E. J.; Duirk, S. E.; Washington, J. W.; Smith, M. A. (2007): Quantification of fluorotelomer-based chemicals in mammalian matrices by monitoring perfluoroalkyl chain fragments with GC/MS. *J Chromatogr B* **846** (1-2). S.155–161. doi: 10.1016/j.jchromb.2006.08.042
- [61] Motas Guzmàn, M.; Clementini, C.; Pérez-Cárceles, M. D.; Jiménez Rejón, S.; Cascone, A.; Martellini, T.; Guerranti, C.; Cincinelli, A. (2016): Perfluorinated carboxylic acids in human breast milk from Spain and estimation of infant's daily intake. *The Science of the total environment* **544** . S.595–600. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.11.059
- [62] Ylinen, M.; Hanhijrvi, H.; Peura, P.; Rm, O. (1985): Quantitative gas chromatographic determination of perfluorooctanoic acid as the benzyl ester in plasma and urine. *Arch Environ Contam Toxicol* **14** (6). S.713–717. doi: 10.1007/BF01055778
- [63] Orata, F.; Quinete, N.; Wilken, R.-D. (2009): Long chain perfluorinated alkyl acids derivatisation and identification in biota and abiota matrices using gas chromatography. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* **83** (5). S.630–635. doi: 10.1007/s00128-009-9756-y
- [64] González-Barreiro, C.; Martínez-Carballo, E.; Sitka, A.; Scharf, S.; Gans, O. (2006): Method optimization for determination of selected perfluorinated

- alkylated substances in water samples. *Analytical and bioanalytical chemistry* **386** (7-8). S.2123–2132. doi: 10.1007/s00216-006-0902-7
- [65] Belisle, J. u. Hagen, D. F. (1980): A Method for the Determination of Perfluorooctanoic Acid in Blood and Other Biological Samples. *Anal Biochem* **101** . S.369–376
- [66] Berger, U.; Haukås, M. (2005): Validation of a screening method based on liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry for analysis of perfluoroalkylated substances in biota. *Journal of Chromatography A* **1081** (2). S.210–217. doi: 10.1016/j.chroma.2005.05.064
- [67] Goh, S. X. L.; Lee, H. K. (2018): Automated bundled hollow fiber array-liquid-phase microextraction with liquid chromatography tandem mass spectrometric analysis of perfluorinated compounds in aqueous media. *Analytica chimica acta* **1019** . S.74–83. doi: 10.1016/j.aca.2018.03.003
- [68] Liu, W.-L.; Ko, Y.-C.; Hwang, B.-H.; Li, Z.-G.; Yang, T. C.-C.; Lee, M.-R. (2012): Determination of perfluorocarboxylic acids in water by ion-pair dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry with injection port derivatization. *Analytica chimica acta* **726** . S.28–34. doi: 10.1016/j.aca.2012.03.019
- [69] Ferrer, I. (1999): Validation of new solid-phase extraction materials for the selective enrichment of organic contaminants from environmental samples. *Trends Anal Chem* **18** (3). S.180–192. doi: 10.1016/S0165-9936(98)00108-3
- [70] Cazes, J. (2009): Encyclopedia of Chromatography, 3rd Edition. ISBN 9780429105432
- [71] Stróżyńska, M.; Schuhen, K. (2017): GIT Laborbuch: Festphasenextraktion (SPE). Teil 1 der Laborbuchreihe: Methoden der Probenvorbereitung. <https://www.git-labor.de/forschung/umwelt/git-laborbuch-festphasenextraktion-spe>, abgerufen am: 07.05.2018
- [72] Ferenc, A., Biziuk, M. (2006): Solid Phase Extraction Technique – Trends, Opportunities and Applications. *Pol J Environ Stud* **15** (5). S.677–690
- [73] Camel, V. (2003): Solid phase extraction of trace elements. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* **58** (7). S.1177–1233. doi: 10.1016/S0584-8547(03)00072-7
- [74] DIN (2011): Validierungsdokument zu DIN 38407-42. Bestimmung ausgewählter polyfluorierter Verbindungen in Wasser – Verfahren mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS) nach Fest-Flüssig-Extraktion (F42)
- [75] DIN 38407-42:2011-03 (2011): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Gemeinsam erfassbare Stoffgruppen (Gruppe F) - Teil 42: Bestimmung ausgewählter polyfluorierter Verbindungen (PFC) in Wasser - Verfahren mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS) nach Fest- Flüssig-Extraktion (F 42).

<https://www.beuth.de/de/norm/din-38407-42/137282966>, abgerufen am: 07.05.2018

- [76] Moody, C. A.; Field, J. A. (1999): Determination of Perfluorocarboxylates in Groundwater Impacted by Fire-Fighting Activity. *Environ Sci Technol* **33**. S.2800–2806. doi: 10.1021/es981355+
- [77] Beesoon, S.; Webster, G. M.; Shoeib, M.; Harner, T.; Benskin, J. P.; Martin, J. W. (2011): Isomer Profiles of Perfluorochemicals in Matched Maternal, Cord, and House Dust Samples: Manufacturing Sources and Transplacental Transfer. *Environmental Health Perspectives* **119** (11). S.1659–1664. doi: 10.1289/ehp.1003265
- [78] Hansen, K. J.; Johnson, H. O.; Eldridge, J. S.; Butenhoff, J. L.; Dick, L. A. (2002): Quantitative characterization of trace levels of PFOS and PFOA in the Tennessee River. *Environmental Science & Technology* **36** (8). S.1681–1685. doi: 10.1021/es010780r
- [79] Jurado-Sánchez, B.; Ballesteros, E.; Gallego, M. (2013): Semiautomated solid-phase extraction followed by derivatisation and gas chromatography–mass spectrometry for determination of perfluoroalkyl acids in water. *J Chromatogr A* **1318**. S.65–71. doi: 10.1016/j.chroma.2013.10.034
- [80] Dufková, V.; Čabala, R.; Ševčík, V. (2012): Determination of C(5)-C(12) perfluoroalkyl carboxylic acids in river water samples in the Czech Republic by GC-MS after SPE preconcentration. *Chemosphere* **87** (5). S.463–469. doi: 10.1016/j.chemosphere.2011.12.029
- [81] Scott, B. F.; Moody, C. A.; Spencer, C.; Small, J. M.; Muir, D. C. G.; Mabury, S. A. (2006): Analysis for Perfluorocarboxylic Acids/Anions in Surface Waters and Precipitation Using GC–MS and Analysis of PFOA from Large-Volume Samples. *Environmental science & technology* **40** (20). S.6405–6410. doi: 10.1021/es061131o
- [82] Pawliszyn, J. (2000): Theory of Solid-Phase Microextraction. *J Chromatogr Sci* **38** (7). S.270–278. doi: 10.1093/chromsci/38.7.270
- [83] Stróżyńska, M.; Schuhen, K. (2018): GIT Laborbuch: Festphasenmikroextraktion (SPME). Teil 2 der Laborbuchreihe: Methoden der Probenvorbereitung. <https://www.git-labor.de/forschung/umwelt/git-laborbuch-festphasenmikroextraktion-spme>, abgerufen am: 21.07.2020
- [84] Alzaga, R.; Bayona, J. M. (2004): Determination of perfluorocarboxylic acids in aqueous matrices by ion-pair solid-phase microextraction–in-port derivatization–gas chromatography–negative ion chemical ionization mass spectrometry. *J Chromatogr A* **1042** (1-2). S.155–162. doi: 10.1016/j.chroma.2004.05.015
- [85] Monteleone, M.; Naccarato, A.; Sindona, G.; Tagarelli, A. (2012): A rapid and sensitive assay of perfluorocarboxylic acids in aqueous matrices by headspace solid phase microextraction-gas chromatography-triple quadrupole mass

- spectrometry. *J Chromatogr A* **1251** . S.160–168. doi: 10.1016/j.chroma.2012.06.033
- [86] Fujii, Y.; Harada, K.H.; Koizumi, A. (2012): Analysis of Perfluoroalkyl Carboxylic Acids in Composite Dietary Samples by Gas Chromatography/Mass Spectrometry with Electron Capture Negative Ionization. *Environmental science & technology* **46** . 11235–11242. doi: 10.1021/es302536g
- [87] Kudo, N.; Bandai, N.; Kawashima, Y. (1998): Determination of perfluorocarboxylic acids by gas-liquid chromatography in rat tissues. *Toxicol Lett* **99** (3). S.183–190. doi: 10.1016/S0378-4274(98)00154-4
- [88] Ylinen, M.; Auriola, S. (1990): Tissue Distribution and Elimination of Perfluorodecanoic Acid in the Rat after Single Intraperitoneal Administration. *Pharmacol Toxicol* **66** (1). S.45–48. doi: 10.1111/j.1600-0773.1990.tb00700.x
- [89] Yi, L. B.; Chai, L. Y.; Xie, Y.; Peng, Q. J.; Peng, Q. Z. (2016): Isolation, identification, and degradation performance of a PFOA-degrading strain. *Genet Mol Res* **15** (2). doi: 10.4238/gmr.15028043
- [90] Naile, J. E.; Garrison, A. W.; Avants, J. K.; Washington, J. W. (2016): Isomers/enantiomers of perfluorocarboxylic acids: Method development and detection in environmental samples. *Chemosphere* **144** . S.1722–1728. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.10.075
- [91] Ahrens, L.; Plassmann, M.; Xie, Z.; Ebinghaus, R. (2009): Determination of polyfluoroalkyl compounds in water and suspended particulate matter in the river Elbe and North Sea, Germany. *Front Environ Sci Eng China* **3** (2). S.152–170. doi: 10.1007/s11783-009-0021-8
- [92] Lv, G.; Wang, L.; Liu, S.; Li, S. (2009): Determination of Perfluorinated Compounds in Packaging Materials and Textiles Using Pressurized Liquid Extraction with Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Anal Sci* **25** (3). S.425–429. doi: 10.2116/analsci.25.425
- [93] Zafeiraki, E.; Costopoulou, D.; Vassiliadou, I.; Bakeas, E.; Leondiadis, L. (2014): Determination of perfluorinated compounds (PFCs) in various foodstuff packaging materials used in the Greek market. *Chemosphere* **94** . S.169–176. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.09.092
- [94] Alzaga, R.; Salgado-Petinal, C.; Jover, E.; Bayona, J. M. (2005): Development of a procedure for the determination of perfluorocarboxylic acids in sediments by pressurised fluid extraction, headspace solid-phase microextraction followed by gas chromatographic–mass spectrometric determination. *J Chromatogr A* **1083** (1-2). S.1–6. doi: 10.1016/j.chroma.2005.06.036
- [95] Liu, W.-L.; Hwang, B.-H.; Li, Z.-G.; Jen, J.-F.; Lee, M.-R. (2011): Headspace solid phase microextraction in-situ supercritical fluid extraction coupled to gas chromatography-tandem mass spectrometry for simultaneous determination of perfluorocarboxylic acids in sediments. *J Chromatogr A* **1218** (43). S.7857–7863. doi: 10.1016/j.chroma.2011.08.062

- [96] Rompa, M.; Kremer, E.; Zygmunt, B. (2003): Derivatisation in gas chromatographic determination of acidic herbicides in aqueous environmental samples. *Analytical and bioanalytical chemistry* **377** (4). S.590–599. doi: 10.1007/s00216-003-2117-5
- [97] Burakham, R., u. Grudpan, K. (2009): Flow Injection and Sequential Injection On-line Pre-column Derivatization for Liquid Chromatography. *Journal of Chromatographic Science* **47** . S.631–635
- [98] White, P. C. (1984): Recent Developments in Detection Techniques for High-performance Liquid Chromatography Part I. Spectroscopic and Electrochemical Detectors A Review. *The Analyst* **109** . S.677–697
- [99] Knapp, D. R. (1979): Handbook of analytical derivatization reactions. A Wiley-Interscience Publication. New York, NY: Wiley ISBN 978-0-471-03469-8
- [100] Lisi, A. M.; Trout, G. J.; Kazlauskas, R. (1991): Screening for diuretics in human urine by gas chromatography—mass spectrometry with derivatisation by direct extractive alkylation. *Journal of chromatography B* **563** (2). S.257–270. doi: 10.1016/0378-4347(91)80033-9
- [101] Kühnel, E.; Laffan, D. D. P.; Lloyd-Jones, G. C.; Martínez Del Campo, T.; Shepperson, I. R.; Slaughter, J. L. (2007): Mechanism of methyl esterification of carboxylic acids by trimethylsilyldiazomethane. *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **46** (37). S.7075–7078. doi: 10.1002/anie.200702131
- [102] Schummer, C.; Delhomme, O.; Appenzeller, B. M. R.; Wennig, R.; Millet, M. (2009): Comparison of MTBSTFA and BSTFA in derivatization reactions of polar compounds prior to GC/MS analysis. *Talanta* **77** (4). S.1473–1482. doi: 10.1016/j.talanta.2008.09.043
- [103] González-Casado, A., Navas, N., del Olmo, M., u. Vilchez, J. L. (1998): Determination of Bisphenol A in Water by Micro Liquid-Liquid Extraction Followed by Silylation and Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis. *Journal of Chromatographic Science* **36**
- [104] Poole, C. F. (2013): Alkylsilyl derivatives for gas chromatography. *Journal of Chromatography A* **1296** . S.2–14. doi: 10.1016/j.chroma.2013.01.097
- [105] Shin, H.-S. (2006): Determination of Phenoxy Acid Pesticides in Frog and Fish Tissues by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Chromatographia* **63** (11-12). S.579–583. doi: 10.1365/s10337-006-0805-y
- [106] Abu-Shanab, F. A.; Sherif, S. M.; Mousa, S. A. S. (2009): Dimethylformamide dimethyl acetal as a building block in heterocyclic synthesis. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **46** (5). S.801–827. doi: 10.1002/jhet.69
- [107] Thenot, J.-P.; Horning, E. C.; Stafford, M.; Horning, M. G. (1972): Fatty Acid Esterification with N,N-Dimethylformamide Dialkyl Acetals for GC Analysis. *Analytical Letters* **5** (4). S.217–223. doi: 10.1080/00032717208069552

- [108] Belov, P.; Campanella, V. L.; Smith, A. W.; Priefer, R. (2011): Microwave-assisted methylation of phenols with DMF-DMA. *Tetrahedron Letters* **52** (21). S.2776–2779. doi: 10.1016/j.tetlet.2011.03.111
- [109] Stanovnik, B.; Tisler, M.; Hribar, A.; Barlin, G. B.; Brown, D. J. (1981): Methylation of heterocyclic compounds containing NH, SH and/or OH groups by means of N,N-dimethylformamide dimethyl acetal. *Australian Journal of Chemistry* **34** (8). S.1729. doi: 10.1071/CH9811729
- [110] Abdulla, R. F.; Brinkmeyer, R. S. (1979): The chemistry of formamide acetals. *Tetrahedron* **35** (14). S.1675–1735. doi: 10.1016/0040-4020(79)88001-1
- [111] Kataoka, H.; Kijima, K. (1997): Analysis of heterocyclic amines as their N-dimethylaminomethylene derivatives by gas chromatography with nitrogen-phosphorus selective detection. *Journal of Chromatography A* **767** (1-2). S.187–194. doi: 10.1016/S0021-9673(96)01089-8
- [112] Thenot, J. P.; Horning, E. C. (1972): Amino Acid N-Dimethylaminomethylene Alkyl Esters. New Derivatives for GC and GC-MS Studies. *Analytical Letters* **5** (8). S.519–529. doi: 10.1080/00032717208062117
- [113] Perchalski, R. J.; Wilder, B. J. (1978): Gas-Liquid Chromatographic Determination of Carbamazepine and Phenylethylmalonamide in Plasma After Reaction with Dimethylformamide Dimethylacetal. *J Chromatogr B* **145** (1). S.97–103. doi: 10.1016/S0378-4347(00)81671-0
- [114] Vandenheuvél, W.J.A.; Gruber, V. F. (1975): N-dimethylaminomethylene Derivatives for the Gas-Liquid Chromatography of Primary Sulfonamides. *J Chromatogr A* **112** . S.513–521. doi: 10.1016/S0021-9673(00)99980-1
- [115] Thenot, J.-P.; Ruo, T. I.; Bouwsma, O. J. (1980): Formylation of Secondary Amines with Dimethylformamide Dimethylacetal. *Analytical Letters* **13** (9). S.759–769. doi: 10.1080/00032718008077997
- [116] Freissinet, C.; Buch, A.; Sternberg, R.; Szopa, C.; Geffroy-Rodier, C.; Jelinek, C.; Stambouli, M. (2010): Search for evidence of life in space: analysis of enantiomeric organic molecules by N,N-dimethylformamide dimethylacetal derivative dependant Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1217** (5). S.731–740. doi: 10.1016/j.chroma.2009.11.009
- [117] Elliott, D. E. (1977): Anomalous Response off the Flame Ionization Detector to Perfluorinated Carboxylic Acids. *Journal of Chromatographic Science* **15** (10). S.475–477. doi: 10.1093/chromsci/15.10.475
- [118] Hyeong-Rae Cha, Jandi Kim, Avvaru Praveen Kumar, Ariunzaya Tsogoo, Yong-Ill Lee (2015): Mass Spectrometric Discrimination and Quantification of d/l-Amino Acids Using a Kinetic Method through Online Derivatization. *Bulletin of the Korean Chemical Society* **36** . S.1245–1257. doi: 10.1002/bkcs.10205

- [119] Johnson, D. W. (2001): Analysis of amino acids as formamidene butyl esters by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Rapid communications in mass spectrometry : RCM* **15** (22). S.2198–2205. doi: 10.1002/rcm.501
- [120] Negriolli, J.; Maume, D.; Deniaud, D.; André, F. (1996): Corticosteroid derivatization: Unexpected results obtained using N,N-dimethylformamide dimethyl acetal on dexamethasone. *Tetrahedron Letters* **37** (30). S.5365–5366. doi: 10.1016/0040-4039(96)01145-8
- [121] Paul, B. D.; Lalani, S.; Bosy, T.; Jacobs, A. J.; Huestis, M. A. (2005): Concentration profiles of cocaine, pyrolytic methyl ecgonidine and thirteen metabolites in human blood and urine: determination by gas chromatography-mass spectrometry. *Biomedical Chromatography* **19** (9). S.677–688. doi: 10.1002/bmc.495
- [122] Paul, B. D.; Dreka, C.; Summers, J. L.; Smith, M. L. (1996): One-step esterification of benzoylecgonine with dimethylformamide-dipropylacetal or dimethylformamide-diisopropylacetal in the presence of pyridine. *Journal of analytical toxicology* **20** (6). S.506–508. doi: 10.1093/jat/20.6.506
- [123] Shafique, U.; Schulze, S.; Slawik, C.; Kunz, S.; Paschke, A.; Schüürmann, G. (2017): Gas chromatographic determination of perfluorocarboxylic acids in aqueous samples - A tutorial review. *Analytica chimica acta* **949** . S.8–22. doi: 10.1016/j.aca.2016.10.026
- [124] Langlois, I.; Berger, U.; Zencak, Z.; Oehme, M. (2007): Mass spectral studies of perfluorooctane sulfonate derivatives separated by high-resolution gas chromatography. *Rapid communications in mass spectrometry : RCM* **21** (22). S.3547–3553. doi: 10.1002/rcm.3241
- [125] Jurado-Sánchez, B.; Ballesteros, E.; Gallego, M. (2014): Analytical method for biomonitoring of perfluoroalkyl acids in human urine. *Talanta* **128** . S.141–146. doi: 10.1016/j.talanta.2014.04.071
- [126] Dufková, V.; Cabala, R.; Maradová, D.; Stícha, M. (2009): A fast derivatization procedure for gas chromatographic analysis of perfluorinated organic acids. *Journal of chromatography. A* **1216** (49). S.8659–8664. doi: 10.1016/j.chroma.2009.10.042
- [127] Gołębiowski, M.; Siedlecka, E.; Paszkiewicz, M.; Brzozowski, K.; Stepnowski, P. (2011): Perfluorocarboxylic acids in cell growth media and technologically treated waters: determination with GC and GC-MS. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* **54** (3). S.577–581. doi: 10.1016/j.jpba.2010.09.013
- [128] Silva, A. O. de; Mabury, S. A. (2004): Isolating Isomers of Perfluorocarboxylates in Polar Bears (*Ursus maritimus*) from Two Geographical Locations. *Environmental science & technology* **38** (24). S.6538–6545. doi: 10.1021/es049296p
- [129] Silva, A. O. de; Muir, D. C. G.; Mabury, S. A. (2009): Distribution of perfluorocarboxylate isomers in select samples from the North American

- environment. *Environmental toxicology and chemistry* **28** (9). S.1801–1814. doi: 10.1897/08-500.1
- [130] Gertz, C. (1989): HPLC: Tips und Tricks mit mehr als 1000 Applikationen. Gertz .
- [131] Jahnke, A.; Berger, U. (2009): Trace analysis of per- and polyfluorinated alkyl substances in various matrices-how do current methods perform? *Journal of Chromatography A* **1216** (3). S.410–421. doi: 10.1016/j.chroma.2008.08.098
- [132] Rogatsky, E.; O'Hehir, C.; Daly, J.; Tedesco, A.; Jenny, R.; Aldous, K. (2017): Development of high throughput LC/MS/MS method for analysis of perfluorooctanoic acid from serum, suitable for large-scale human biomonitoring. *Journal of chromatography B* **1049-1050** . S.24–29. doi: 10.1016/j.jchromb.2017.02.020
- [133] González, S.; Barceló, D.; Petrovic, M. (2007): Advanced liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) methods applied to wastewater removal and the fate of surfactants in the environment. *Trends Anal. Chem.* **26** (2). S.116–124. doi: 10.1016/j.trac.2006.12.003
- [134] Loos, R.; Locoro, G.; Huber, T.; Wollgast, J.; Christoph, E. H.; Jager, A. de; Manfred Gawlik, B.; Hanke, G.; Umlauf, G.; Zaldívar, J.-M. (2008): Analysis of perfluorooctanoate (PFOA) and other perfluorinated compounds (PFCs) in the River Po watershed in N-Italy. *Chemosphere* **71** (2). S.306–313. doi: 10.1016/j.chemosphere.2007.09.022
- [135] Onghena, M.; Moliner-Martinez, Y.; Picó, Y.; Campíns-Falcó, P.; Barceló, D. (2012): Analysis of 18 perfluorinated compounds in river waters: comparison of high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and capillary liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1244** . S.88–97. doi: 10.1016/j.chroma.2012.04.056
- [136] Leung, K. S.-Y.; Fong, B. M.-W. (2014): LC-MS/MS in the routine clinical laboratory: has its time come? *Analytical and bioanalytical chemistry* **406** (9-10). S.2289–2301. doi: 10.1007/s00216-013-7542-5
- [137] Marquet, P.; Venisse, N.; Lacassie, É.; Lachâtre, G. (2000): In-source CID mass spectral libraries for the “general unknown” screening of drugs and toxicants. *Analisis* **28** (10). S.925–934. doi: 10.1051/analisis:2000280925
- [138] Díaz, R.; Ibáñez, M.; Sancho, J. V.; Hernández, F. (2012): Target and non-target screening strategies for organic contaminants, residues and illicit substances in food, environmental and human biological samples by UHPLC-QTOF-MS. *Anal Methods* **4** (1). S.196–209. doi: 10.1039/C1AY05385J
- [139] Yamashita, N.; Kannan, K.; Taniyasu, S.; Horii, Y.; Okazawa, T.; Petrick, G.; Gamo, T. (2004): Analysis of Perfluorinated Acids at Parts-Per-Quadrillion Levels in Seawater Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Environ Sci Technol* **38** (21). S.5522–5528. doi: 10.1021/es0492541

- [140] Trojanowicz, M.; Koc, M. (2013): Recent developments in methods for analysis of perfluorinated persistent pollutants. *Microchimica Acta* **180** (11). S.957–971. doi: 10.1007/s00604-013-1046-z
- [141] Wójcik, L.; Szostek, B.; Maruszak, W.; Trojanowicz, M. (2005): Separation of perfluorocarboxylic acids using capillary electrophoresis with UV detection. *Electrophoresis* **26** (6). S.1080–1088. doi: 10.1002/elps.200406184
- [142] Wójcik, L.; Korczak, K.; Szostek, B.; Trojanowicz, M. (2006): Separation and determination of perfluorinated carboxylic acids using capillary zone electrophoresis with indirect photometric detection. *Journal of Chromatography A* **1128** (1-2). S.290–297. doi: 10.1016/j.chroma.2006.06.049
- [143] Knob, R.; Maier, V.; Petr, J.; Ranc, V.; Sevcík, J. (2012): On-line preconcentration of perfluorooctanoic acid and perfluorooctanesulfonic acid by nonaqueous capillary electrophoresis. *Electrophoresis* **33** (14). S.2159–2166. doi: 10.1002/elps.201100665
- [144] Budzikiewicz, H. (1992): Massenspektrometrie, Eine Einführung. Weinheim: VCH ISBN 3-527-26870-7
- [145] Gross, J. H. (2019): Massenspektrometrie. Spektroskopiekurs kompakt. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg ISBN 978-3-662-58634-1
- [146] Gross, J. H. (2013): Massenspektrometrie. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg ISBN 978-3-8274-2980-3
- [147] Budzikiewicz, H.; Schäfer, M. (2013): Massenspektrometrie - Eine Einführung. *Lebensmittelchemie* **67** (2). S.56. doi: 10.1002/lemi.201390013
- [148] Beckey, H. D.; Schulten, H.-R. (1975): Field Desorption Mass Spectrometry. *Angewandte Chemie International Edition in English* **14** (6). S.403–415. doi: 10.1002/anie.197504031
- [149] Beckey, H. D.; Belcher, R.; Frieser, H. (1977): Principles of Field Ionization and Field Desorption Mass Spectrometry. International Series in Analytical Chemistry. Burlington: Elsevier Science ISBN 9780080206127
- [150] Hillenkamp, F.; Karas, M.; Beavis, R. C.; Chait, B. T. (1991): Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry of Biopolymers. *Analytical Chemistry* **63** (24). 1193A-1203A. doi: 10.1021/ac00024a716
- [151] Fenn, J. B.; Mann, M.; Meng, C. K.; Wong, S. F.; Whitehouse, C. M. (1989): Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. *Science (New York, N.Y.)* **246** (4926). S.64–71
- [152] Hoffmann, E. d.; Stroobant, V. (2006): Mass spectrometry. Principles and applications. Chichester: Wiley ISBN 9780471485667
- [153] Douglas, D. J.; Frank, A. J.; Mao, D. (2005): Linear ion traps in mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews* **24** (1). S.1–29. doi: 10.1002/mas.20004
- [154] International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (1994): Validation Of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1).

https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology-step-5_en.pdf, abgerufen am: 07.10.2019

- [155] Kromidas, S. (2012): Validierung in der Analytik. Die Praxis der instrumentellen Analytik. Weinheim: Wiley ISBN 3-527-28748-5
- [156] DIN 32645:2008-11. *Chemische Analytik - Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen - Begriffe, Verfahren, Auswertung*
- [157] Paul, L.D, Mußhoff, F. (2016): Richtlinie der GTFCh zur Qualitätssicherung bei forensisch-toxikologischen Untersuchungen.
https://www.gtfch.org/cms/images/stories/files/GTFCh_Richtlinie_For-Tox_Version-2.pdf, abgerufen am: 27.08.2019
- [158] Musijowski, J.; Szostek, B.; Koc, M.; Trojanowicz, M. (2010): Determination of fluoride as fluorosilane derivative using reversed-phase HPLC with UV detection for determination of total organic fluorine. *Journal of separation science* **33** (17-18). S.2636–2644. doi: 10.1002/jssc.201000179
- [159] McMurry, J.; Boczoń, W.; Koroniak, H.; Milecki, J. (2003): *Chemia organiczna*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN ISBN 83-01-14103-4
- [160] Bock, R.; Semmler, H. J. (1967): Abtrennung und Bestimmung des Fluorid-Ions mit Hilfe siliciumorganischer Verbindungen. *Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie* **230** (3). S.161–184. doi: 10.1007/BF00527830
- [161] Fresen, J. A.; Cox, F. H.; Witter, M. J. (1968): The determination of fluoride in biological materials by means of gas chromatography. *Pharmaceutisch weekblad* **103** (33). S.909–914
- [162] Kuehl, D. W.; Rozynov, B. (2003): Chromatographic and mass spectral studies of perfluorooctanesulfonate and three perfluorooctanesulfonamides. *Rapid communications in mass spectrometry : RCM* **17** (20). S.2364–2369. doi: 10.1002/rcm.1181
- [163] Machery Nagel : Extraction of selected polyfluorinated compounds (PFC) in water acc. to DIN 38407-42. <http://www.mn-net.com/tabid/12414/language/en-US/default.aspx>, abgerufen am: 25.06.2018
- [164] Stróżyńska, M.; Schuhen, K. (2019): Dispersive solid-phase extraction followed by triethylsilyl derivatization and gas chromatography mass spectrometry for perfluorocarboxylic acids determination in water samples. *J Chromatogr A* **1597** . S.1–8. doi: 10.1016/j.chroma.2019.03.008
- [165] Grob, R. L.; Barry, E. F. (2004): *Modern Practice of Gas Chromatography*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc ISBN 0471229830
- [166] Stróżyńska, M.; Gross, J. H.; Schuhen, K. (2019): Structural investigation of perfluorocarboxylic acid derivatives formed in the reaction with N,N-dimethylformamide dialkylacetals. *Eur J Mass Spectrom* **26** (2). S. 131-143 doi: 10.1177/1469066719880546

- [167] Veith, H. J. (1976): Field Desorption Mass Spectrometry of Quaternary Ammonium Salts: Cluster Ion Formation. *Organic Mass Spectrometry* **11** (6). S.629–633. doi: 10.1002/oms.1210110609
- [168] Veith, H. J. (1983): Mass Spectrometry of Ammonium and Iminium Salts. *Mass Spectrometry Reviews* **2** (4). S.419–446. doi: 10.1002/mas.1280020402
- [169] Linden, H. B. (2004): Liquid Injection Field Desorption Ionization: A New Tool for Soft Ionization of Samples Including Air Sensitive Catalysts and Non-Polar Hydrocarbons. *European Journal of Mass Spectrometry* **10** (4). S.459–468. doi: 10.1255/ejms.655
- [170] Gross, J. H. (2007): Liquid Injection Field Desorption/Ionization-Mass Spectrometry of Ionic Liquids. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **18** (12). S.2254–2262. doi: 10.1016/j.jasms.2007.09.019
- [171] Gross, J. H.; Nieth, N.; Linden, H. B.; Blumbach, U.; Richter, F. J.; Tauchert, M. E.; Tompers, R.; Hofmann, P. (2006): Liquid Injection Field Desorption/Ionization of Reactive Transition Metal Complexes. *Analytical and bioanalytical chemistry* **386** (1). S.52–58. doi: 10.1007/s00216-006-0524-0
- [172] Prókai, L. (1990): Field Desorption Mass Spectrometry. New York: Marcel Dekker .
- [173] Scheeren, J. W.; Nivard, R. J. F. (1969): Synthesis and Stability of tri-sec-Aminomethanes. *Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas* **88** (3). S.289–300. doi: 10.1002/recl.19690880306
- [174] Winberg, H. E.; Carnahan, J. E.; Coffman, D. D.; Brown, M. (1965): Tetraaminoethylenes. *Journal of the American Chemical Society* **87** (9). S.2055–2056. doi: 10.1021/ja01087a040
- [175] Wicherink S. C. (1978): Chemistry of Orthoamides and Formamidinium Salts. PhD Thesis, University of Nijmegen, NL. .
- [176] Lehmler, H.-J.; Bummer, P. M. (2004): Mixing of Perfluorinated Carboxylic Acids with Dipalmitoylphosphatidylcholine. *Biochimica et biophysica acta* **1664** (2). S.141–149. doi: 10.1016/j.bbamem.2004.05.002
- [177] Jackson, D. A. (2013): Hydrolysis and Atmospheric Oxidation Reactions of Perfluorinated Carboxylic Acid Precursors. PhD Thesis. .
- [178] Chu, S.; Letcher, R. J. (2009): Linear and Branched Perfluorooctane Sulfonate Isomers in Technical Product and Environmental Samples by In-port Derivatization-Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Analytical chemistry* **81** (11). S.4256–4262. doi: 10.1021/ac8027273
- [179] Drechsel, D.; Dettmer, K.; Engewald, W.; Bittner, T.; Efer, J. (2001): GC Analysis of Trichloroacetic Acid in Water Samples by Large-Volume Injection and Thermal Decarboxylation in a Programmed-Temperature Vaporizer. *Chromatographia* **54** (3-4). S.151–154. doi: 10.1007/BF02492235
- [180] Xie, Y. (2001): Analyzing Haloacetic Acids Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Water research* **35** (6). S.1599–1602. doi: 10.1016/S0043-1354(00)00397-3

- [181] Stróżyńska, M.; Schuhen, K. (2020): Derivatization of perfluorocarboxylic acids with N,N-dimethylformamide dimethylacetal prior to GC-MS analysis. *Chromatographia* **83**. S. 477-482. doi: 10.1007/s10337-019-03850-6
- [182] Flanagan, J. M. (1997): Mass spectrometry calibration using homogeneously substituted fluorinated triazatriphosphorines. Patent.
<https://patents.google.com/patent/US5872357A/en>
- [183] Wu, J.; McAllister, H. (2003): Exact mass measurement on an electrospray ionization time-of-flight mass spectrometer: error distribution and selective averaging. *Journal of mass spectrometry* **38** (10). S.1043–1053. doi: 10.1002/jms.516
- [184] Gross, J. H. (2013): Polydimethylsiloxane-based wide-range mass calibration for direct analysis in real-time mass spectrometry. *Analytical and bioanalytical chemistry* **405** (26). S.8663–8668. doi: 10.1007/s00216-013-7287-1
- [185] Gross, J. H. (2014): Wide-Range Mass Calibration for Negative-Ion DART Mass Spectrometry. *European Journal of Mass Spectrometry* **20** (2). S.155–161. doi: 10.1255/ejms.1266
- [186] Krechmer, J.; Tice, J.; Crawford, E.; Musselman, B. (2011): Increasing the rate of sample vaporization in an open air desorption ionization source by using a heated metal screen as a sample holder. *Rapid communications in mass spectrometry : RCM* **25** (17). S.2384–2388. doi: 10.1002/rcm.5133
- [187] Pérez, J. J.; Harris, G. A.; Chipuk, J. E.; Brodbelt, J. S.; Green, M. D.; Hampton, C. Y.; Fernández, F. M. (2010): Transmission-mode direct analysis in real time and desorption electrospray ionization mass spectrometry of insecticide-treated bednets for malaria control. *The Analyst* **135** (4). S.712–719. doi: 10.1039/b924533b.
- [188] Gross, J. H. (2014): High-mass cluster ions of ionic liquids in positive-ion and negative-ion DART-MS and their application for wide-range mass calibrations. *Analytical and bioanalytical chemistry* **406** (12). S.2853–2862. doi: 10.1007/s00216-014-7720-0
- [189] M.H Linden, H.B Linden, N. Nieth, J.H. (2019): Self-Supplied Liquid Injection Field Desorption/Ionization Ion Source for an Orthogonal Time-of-Flight Instrument. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* **30**. doi: 10.1007/s13361-019-02297-1
- [190] Matsuo, T.; Matsuda, H.; Katakuse, I. (1979): Use of field desorption mass spectra of polystyrene and polypropylene glycol as mass references up to mass 10000. *Analytical Chemistry* **51** (8). S.1329–1331. doi: 10.1021/ac50044a050

Curriculum vitae

Monika Stróżyńska
Geboren am 20.09.1990 in Czarnków (Polen)
Staatsangehörigkeit: polnisch
Anschrift: Sengentalstraße 7, 72072 Tübingen



Ausbildung

- seit 11/2015 Doktorandin an der Universität Koblenz-Landau im Fachbereich 7, Institut für Umweltwissenschaften in der AG Organische und Ökologische Chemie (Betreuerin des Promotionsvorhabens: Dr. Katrin Schuhen)
- 02/2013-07/2014 Masterstudium der Organischen Chemie (M. Sc.) an der Poznan University of Technology (Polen)
Abschluss: Master of Science - M. Sc. (Eng.)
Note: sehr gut
- 10/2009-02/2013 Bachelorstudium der Chemischen Technologie an der Poznan University of Technology (Polen)
Abschluss: Bachelor of Science Engineer
Note: sehr gut

Berufliche Erfahrung

- 07/2018- Wissenschaftliche Mitarbeiterin SAS Hagmann GmbH & Co. KG
- 11/2018-01/2020 Wissenschaftliche Mitarbeiterin der abcr GmbH
- 03/2015-04/2018 Wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Universität Koblenz-Landau, Fachbereich 7: Natur- und Umweltwissenschaften, Institut für Umweltwissenschaften, AG Organische und Ökologische Chemie.
- 07/2014-03/2015 SAS Hagmann GmbH – Labormitarbeiterin.
- 07/2013-09/2013 SAS Hagmann GmbH – Praktikantin.
- 07/2013-09/2013 Übersetzungsbüro Jerzy Janyga – Assistentin (Deutsch-Polnisch im Bereich Chemie)
- 07/2012-09/2012 Auslandspraktikum/Programm Erasmus: SAS Hagmann GmbH

Publikationen und Tagungsbeiträge

Publikationen

Strozynska, Monika; Schuhen, Katrin

Extraction and derivatization for perfluorocarboxylic acids in liquid and solid matrices – a review. Analytical Science Advances, 2020

DOI: 10.1002/ansa.202000089

Strozynska, Monika; Schuhen, Katrin

Derivatization of perfluorocarboxylic acids with N,N-dimethylformamide dimethylacetal prior to GC-MS analysis. Chromatographia, 83, S. 477-482, 2020

DOI: 10.1007/s10337-019-03850-6

Strozynska, Monika; Gross, Jürgen H.; Schuhen, Katrin

Structural Investigation of Perfluorocarboxylic Acid Derivatives Formed in the Reaction with N,N-Dimethylformamide Dialkylacetals. European Journal of Mass Spectrometry, 26 (2), S. 131-143, 2019

DOI: 10.1177/1469066719880546

Strozynska, Monika; Schuhen, Katrin

Dispersive solid-phase extraction followed by triethylsilyl derivatization and gas chromatography mass spectrometry for perfluorocarboxylic acids determination in water samples. Journal of Chromatography A, 1597, S. 1-8, 2019

DOI:10.1016/j.chroma.2019.03.008

Rudloff, Maik; Strozynska, Monika; Schuhen, Katrin

Anorganische und organische Fluor-Verbindungen – Wenn Chemie nicht gleich Chemie ist Teil 1: Fluorid (anorganisches Fluor), Analytik News. Das Online-Labormagazin, 2018

<https://analytik.news/Fachartikel/2018/36.html>

Rudloff, Maik; Strozynska, Monika; Schuhen, Katrin

Anorganische und organische Fluor-Verbindungen – Wenn Chemie nicht gleich Chemie ist Teil 2: Per- und polyfluorierte Chemikalien (organisches Fluor), Analytik News. Das Online-Labormagazin, 2018

<https://analytik.news/Fachartikel/2018/45.html>

Strozynska, Monika; Schuhen, Katrin

Flüssig-flüssig Extraktion (LLE): Teil 3: Methoden der Probenvorbereitung, Labor-Fachzeitschrift 6/2018, S.10

Strozynska, Monika; Schuhen, Katrin

Festphasenmicroextraktion (SPME): Teil 2: Methoden der Probenvorbereitung, GIT Labor-Fachzeitschrift 4/2018, S.13

Strozynska, Monika; Schuhen, Katrin

Festphasenextraktion (SPE): Teil 1: Methoden der Probenvorbereitung, Labor-Fachzeitschrift 2/2018, S.8

Strozynska, Monika; Schuhen, Katrin

Methodenvergleich Wasseranalytik Nachweis organisch-chemischer Verunreinigungen im Kläranlagenablauf, GIT Labor-Fachzeitschrift 2/2018, S. 25-27

Strozynska, Monika; Schuhen, Katrin

Analytik organisch-chemischer Spurenstoffe aus dem Kläranlageablauf einer kommunalen Kläranlage – Wie wichtig ist die Probenvorbereitung für das Ergebnis? Kurzreferat, Jahrestagung der Wasserchemischen Gesellschaft, 2017, S 227-232

Strozynska, Monika; Hiller, Carolin; Schuhen, Katrin

Pharmazeutika im Wasser – Neue Methoden- und Verfahrensentwicklung zur Verbesserung der Nachweisgrenzen, GIT Labor-Fachzeitschrift, 6/2016, S. 14-21

Strozynska, Monika; Schuhen, Katrin

StressDetect - neue Methoden- und Verfahrensentwicklung zur Verbesserung der Nachweisgrenzen von Pharmazeutika im Wasser - SPME gekoppelte GC-MS, Kurzreferat, Jahrestagung der Wasserchemischen Gesellschaft, 2016, S. 185-189

Vorträge

Strozynska, Monika; Hagmann, Manfred; Schuhen Katrin

A new derivatisation reaction for perfluorocarboxylic acids prior to GC/MS analysis. ChemCys, 21.-23. Februar 2018, Blankenberge, Belgien - 2. Preis für die beste Präsentation über Analytische und Umweltchemie

Posterbeiträge

Strozynska, Monika; Hagmann Manfred, Schuhen Katrin

A New Derivatisation Reaction for Perfluorocarboxylic Acids Prior to GC/MS Analysis. ISC 2018, Cannes-Mandelieu

Strozynska, Monika; Schuhen Katrin

Analyse von organischen Spurenstoffen aus dem Kläranlagenablauf einer kommunalen Kläranlage – Vergleich von verschiedenen Techniken und Verfahren (LLE, SPE, SPME) für Probenvorbereitung.

GDCh-Wissenschaftsforum Chemie 2017, Berlin

Strozynska, Monika; Schuhen Katrin

Analyse von organischen Spurenstoffen aus dem Kläranlagenablauf einer kommunalen Kläranlage – Vergleich von verschiedenen Techniken und Verfahren (LLE, SPE, SPME) für Probenvorbereitung.

Wasser 2017, Donaueschingen

Strozynska, Monika; Schuhen Katrin

Comparative analysis of organic pollutants from water samples of municipal wastewater treatment plants - What can mean the different techniques and procedures (LLE, SPE, SPME) for our interpretation about the loading rate?

ICCE 2017, Oslo

Strozynska, Monika; Schuhen Katrin

Analyse von organischen Spurenstoffen aus dem Kläranlagenablauf einer kommunalen Kläranlage – Vergleich von verschiedenen Techniken und Verfahren (LLE, SPE, SPME) für Probenvorbereitung

ANAKON 2017, Tübingen

Strozynska, Monika; Schuhen Katrin

StressDetect – Neue Methoden- und Verfahrensentwicklung zur Verbesserung der Nachweisgrenzen von Pharmazeutika im Wasser – SPME gekoppelte GC-MS

Wasser 2016, Bamberg

Strozynska, Monika; Schuhen Katrin

StressDetect - A method and process development to improve the detection limits of pharmaceuticals in water - SPME coupled GC-MS

ICCE 2015, Leipzig