



# Neues aus der Probenvorbereitung in der PFAS-Analytik

Optimierter Workflow mit neu entwickelten SPE-Säulen

Dr. Thomas Gersthagen

Aufgrund ihrer Giftigkeit besteht die Notwendigkeit den Gehalt an PFAS in Trinkwasser, Lebensmitteln und auch anderen Bereichen zu überwachen. Für eine zuverlässige Analyse ist eine gut funktionierende und möglichst effiziente Probenvorbereitung essentiell. Ein blindwertfreier Workflow und die richtigen SPE-Säulen zur An- und Aufreinigung spielen dabei eine entscheidende Rolle.

Als PFAS bezeichnet man per- und polyfluorierte Chemikalien. Es handelt sich um fluorierte organische Verbindungen die menschengemacht sind. Mittlerweile gehören dieser Gruppe von Chemikalien über 4000 teilweise oder vollständig fluorierte lineare, verzweigte oder zyklische Verbindungen an [1]. PFAS-Verbindungen wurden erstmals in den 1940er Jahren verwendet. Aufgrund ihrer wasser-, fett- und schmutzabweisenden Eigenschaften sowie der guten Hitzeresistenz werden sie fast überall eingesetzt. Beispiele umfassen Feuerlöschschäume, in Beschichtungen (z.B. Pfannen oder in Bekleidung), Verpackungspapieren, Kosmetikartikel, in der Luftfahrt oder Skiwachsen [2][3][4]. Aufgrund ihrer Persistenz und ihrer Verteilung durch den Umweltkreislauf, sind PFAS-Verbindungen nahezu überall auf der Erde zu finden und haben so den Namen Ewigkeitschemikalien erlangt. Die Präsenz von PFAS in menschlichen Blutproben und in Proben von terrestrischer und aquatischer Flora und Fauna wurde mittlerweile mehrfach nachgewiesen. [5][6][7]. PFAS stehen im Verdacht einen negativen Einfluss auf die Gesundheit zu haben, einschließlich veränderter Immun- und Schilddrüsenfunktion, Lebererkrankung, Lipid- und Insulin-Dysregulation, Nierenerkrankung, nachteilige Fortpflanzungs- und Entwicklungsergebnisse sowie Krebs [8]. Was in Kombination mit ihrer Persistenz wiederum für den Namen Jahrhundertgift verantwortlich ist. Daher sind mittlerweile viele ältere PFAS („legacy PFAS“) verboten und die maximal erlaubte Konzentration in Trinkwasser und Lebensmitteln limitiert worden. Es ist davon auszugehen, dass sich die Anzahl der verbotenen und regulierten PFAS immer weiter nach oben bewegen wird. Für die PFAS-Analytik in Umweltproben wie z.B. Böden existieren aktuell zwar noch keine Regulierungen, jedoch wird auch hier eine sensitive Analytik immer wichtiger, da viele Böden PFAS-belastet sind und diese

so durch Umwege auch in den menschlichen Körper gelangen können. Die Kenntnis der PFAS-Gehalte in Böden ist daher von Interesse für die Abgrenzung von belasteten und unbelasteten Böden in bekannten Schadensfallgebieten sowie für künftige regulatorische Festlegungen. [9] Die EU-Kommission hat in diesem Jahr neue anspruchsvolle Richtlinien (EU 2022/2388, (EU) 2022-1428) für die Regulierung und den Nachweis von PFAS in Lebensmitteln erlassen. Ebenso ist in diesem Jahr die neue EU-

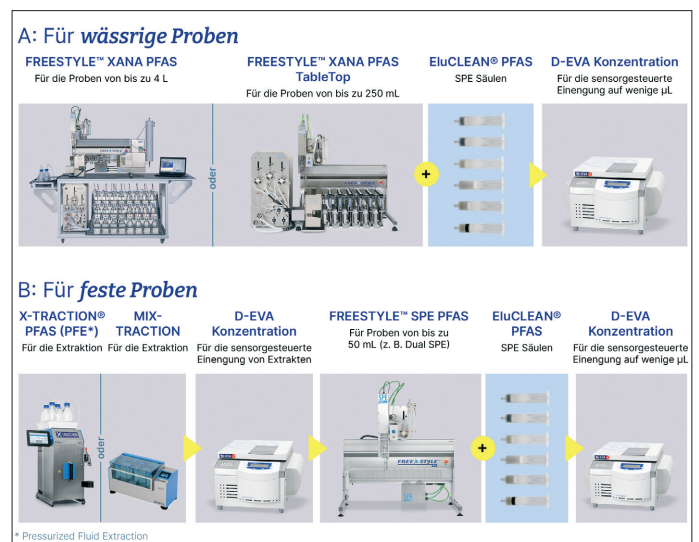


Abb. 1: Workflow der Probenvorbereitung für feste Proben A) wässrige Proben B) feste Proben

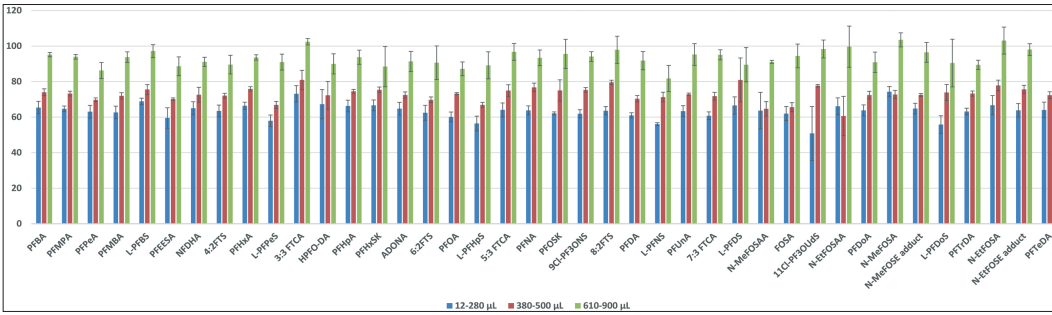


Abb. 2: Vergleich der Wiederfindungsraten in % der verschiedenen Endvolumina nach Einengung mittels D-EVA

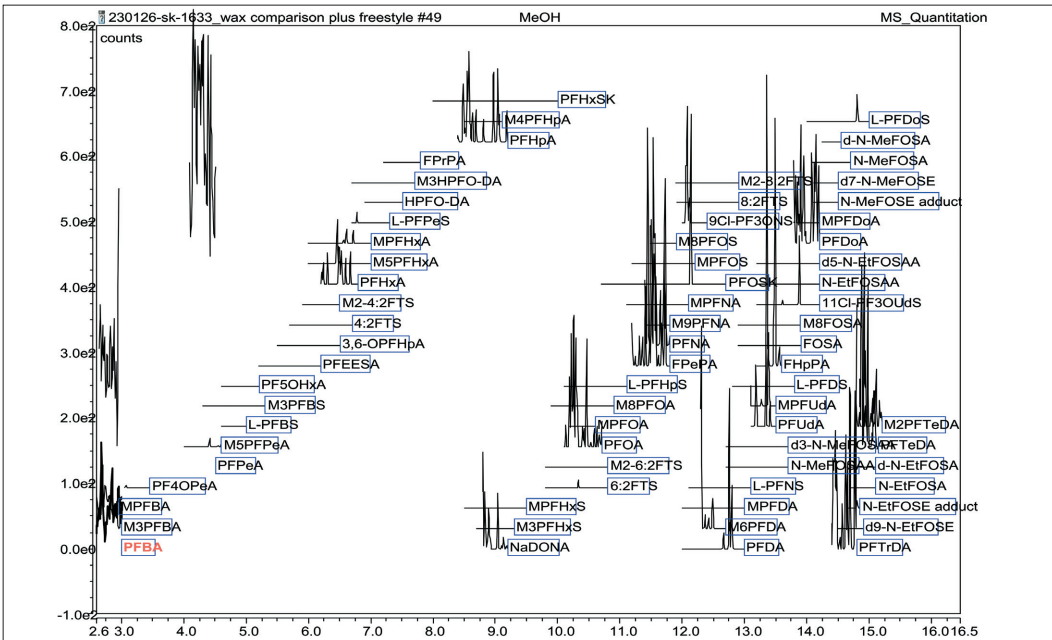


Abb.3: Chromatogramm LC-MS/MS zur Testung der Blindwertfreiheit des automatisierten Probenvorbereitungssystems FREESTYLE PFAS

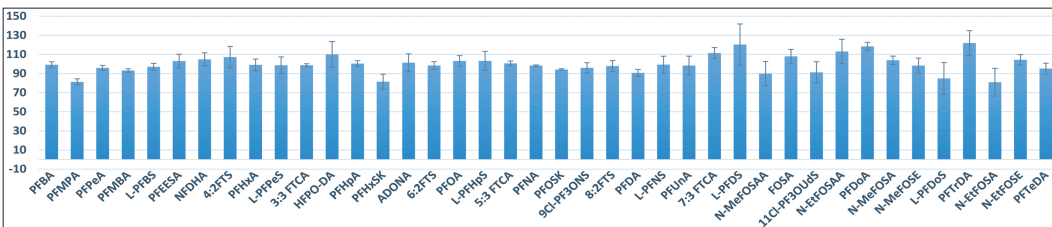


Abb. 4: Wiederfindungsraten in % von 40 PFAS-Analyten aus Ackerboden mittels EluCLEAN PFAS – Universal-SPE-Säule auf dem automatisierten FREESTYLE PFAS-System, n = 4, Probe gespickt mit 0,5 - 40 µg/kg (abhängig vom jeweiligen Analyten)

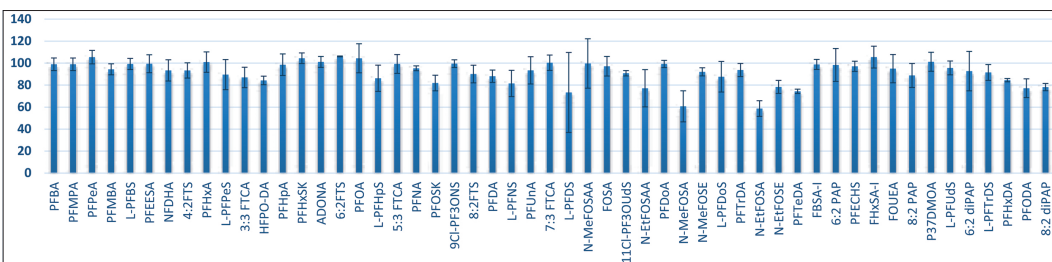


Abb. 5: Native Wiederfindungsraten in % von 53 PFAS-Analyten aus Trinkwasser mittels EluCLEAN PFAS – Universal-SPE-Säule, n=3, 50 mL Wasser, absolute Konz. 0,325 bis 40 ng (abhängig vom jeweiligen Analyten)

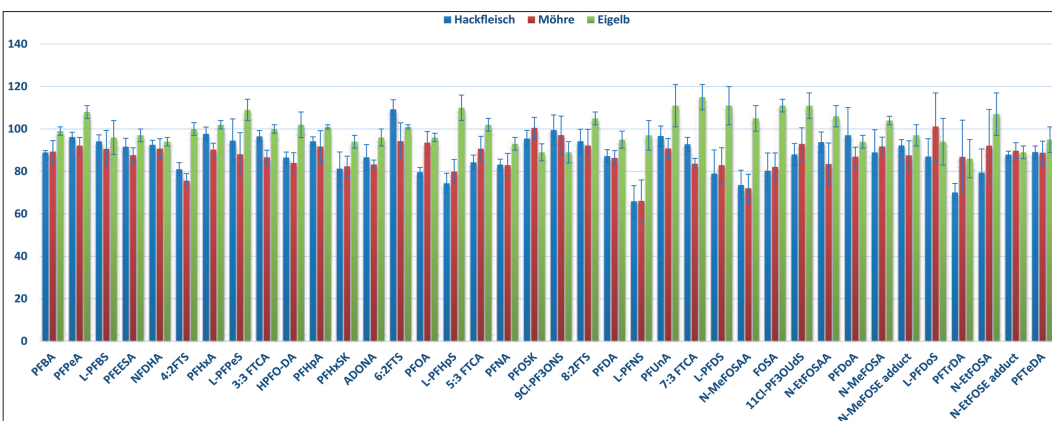


Abb. 6: Wiederfindungsraten in % von 40 PFAS-Analyten aus verschiedenen Lebensmitteln mittels EluCLEAN PFAS – Universal-SPE-Säule (bzw. Universal-HP-SPE-Säule für Karotte), n = 4, Probe gespickt mit 0,1 - 8 µg/kg (abhängig vom jeweiligen Analyten, jeweils 0,4 µg/kg für PFOS, PFOA, PFNA, PFHxS)

Trinkwasserrichtlinie (EU 2020/2184) in Kraft getreten. Die Anforderungen an die Empfindlichkeit der Methode zum Nachweis der einzuhaltenden Grenzwerte werden dabei immer höher. So wird in der EU-Trinkwasserrichtlinie ein Grenzwert von 0,1 µg/L für die Summe von 20 PFAS angegeben. Die maximal erlaubten Grenzwerte für PFOS, PFOA, PFNA, PFHxS in tierischen Lebensmitteln liegen im Bereich von 0,3 bis 1 µg/kg. Zukünftige Grenzwerte für ein erweitertes Analytenspektrum in verschiedensten Lebensmittel könnten sogar deutlich darunterliegen ((EU) 2022-1431).

Das Erreichen der LOQs im Rahmen der Methoden zur Bestimmung der Grenzwerte wird damit immer schwieriger. Insbesondere in Matrices mit einer hohen Anzahl an Störstoffen gestaltet sich der Nachweis ohne eine vorherige Aufreinigung mittels SPE umso schwieriger. Eine blindwertfreie Probenvorbereitung mit zusätzlicher SPE wird dabei immer unerlässlicher.

### Der Workflow der PFAS-Probenvorbereitung

Bei wässrigen Proben wie z.B. Trinkwasser erfolgt die Anreicherung der PFAS-Analyten mittels Festphasenextraktion. Welche Menge an Probe aufgetragen werden muss hängt von der Fähigkeit des Messgerätes und der optimierten analytischen Methode ab. In der Regel ist dies zwischen 50-250 mL. Labore mit weniger sensitiven Messgeräten können aber eine noch größere Probenmenge auftragen, um so die niedrigere Sensitivität des Messgerätes auszugleichen. Je nach aufgetragener Menge kann hier ein hoher Aufkonzentrierungsfaktor erreicht werden (z.B. Faktor 4000 bei einer Probenmenge von 4 L gegenüber einer nicht ankonzentrierten 1 mL wässrigen Probe). Bei unseren Versuchen wurde eine Probenmenge von 50 mL verwendet, um im Bereich der Werte der Trinkwasserrahmenrichtlinie zu sein. Die Anreicherung erfolgte dabei mit eigens entwickelten SPE-Säulen (EluCLEAN PFAS – Universal).

Nach Anreicherung und Elution kann das Eluat entweder direkt in die LC-MS/MS eingespritzt werden oder um eine möglichst hohe Konzentration zur Verbesserung des LOQs zu erreichen, eingengt werden. Die Methode der Wahl ist hierbei normalerweise das Abdampfen mit Stickstoff, diese hat jedoch den Nachteil, dass das Abdampfen unkontrolliert erfolgt und viel Überwachung erfordert. Des Weiteren kann diese Methode so zu einem ungewollten Analytenverlust führen (leichtflüchtige PFAS wie z.B. neutrale Sulfonamide). Daher wurde in unserem optimierten Workflow die D-EVA eingesetzt. Hier erfolgt eine schonende Evaporation mittels Vakuum und angeschlossener Kühlfalle. Die Proben können so auf ein kontrolliertes Endvolumen eingedampft und somit ein Analytenverlust verhindert werden. Bei dem von uns gewählten Analytenspektrum hat sich hier ein Volumen von ca. 600-1000 µL als optimal herausgestellt (Abb. 2).

Bei festen Proben wird vor der Festphasenextraktion noch eine Fest-Flüssig-Extraktion benötigt. Diese kann in den meisten Fällen per vertikales Schütteln erreicht werden. Das bei Böden und Lebensmittelproben eingesetzte MIX-TRACTION hat sich hier als sehr effektiv herausgestellt. Das MIX-TRACTION imitiert das manuelle Schütteln, ist jedoch effektiver und erlaubt das parallele Bearbeiten von bis zu 8 Proben. Für kompliziertere Böden wie Lehmboden wurde das X-TRACTION eingesetzt. Dies ist ein Extraktionssystem, welches nach dem PFE (Pressurized Fluid Extraction) Prinzip arbeitet und so für bessere Wiederfindungsraten bei länger-kettigen PFAS-Molekülen sorgt. Die nachfolgende Evaporation auf das gewünschte Aufgabevolumen erfolgte wieder mittels D-EVA. Für die Anreicherung und Aufreinigung wurden wieder EluCLEAN PFAS-Universal-SPE-Säulen bzw. Universal-HP-SPE-Säulen für hoch pigmentierte Matrices wie die Möhre eingesetzt, diese wurden bei der Matrix Boden in Kombination mit dem automatisierten FREESTYLE PFAS-System eingesetzt. Dieses trägt keine unerwünschten Blindwerte in die Probenvorbereitung ein (Abb. 3) und ermöglicht so ein zuverlässiges automatisiertes Abarbeiten der Proben. In dieser Zeit kann man sich anderen Aufgaben widmen. Die verlustfreie Einengung der Proben gelingt wieder mittels D-EVA. Die Anreicherung und gleichzeitiges Clean-Up durch die EluCLEAN-PFAS-Universalsäulen ermöglichen Wiederfindungsraten von 82-122% bei Standardabweichungen von unter 20% (22% für PFDS).

### PFAS im Trinkwasser

Diesen Messungen wurden zusätzlich länger-kettige PFAS (C14-C18), neutrale Sulfonamide und weitere PFAS-Analyten hinzugefügt, die über die Anforderungen der jetzigen Wasserrahmenrichtlinie hinausgehen. Die Anreicherungen durch die EluCLEAN PFAS-Universalsäulen zeigen native Wiederfindungsraten im Bereich von 60-120% bei Standardabweichungen von unter 20% (außer 32% für PFDS). Durch die hier verwendeten SPE-Säulen ist somit auch das Anreichern von länger-kettigen PFAS und neutralen Sulfonamiden wie FOSA aus Trinkwasser zuverlässig möglich.

### PFAS in Lebensmitteln

Die Ergebnisse der SPE durch die EluCLEAN PFAS-Universalsäulen zeigen, dass eine Anreicherung und gleichzeitiges Clean-Up im Konzentrationsbereich der neuen EU-Richtlinie (EU 2022/2388, (EU) 2022-1428) für die vier geforderten PFAS-Analyten PFOS, PFOA, PFNA, PFHxS erreicht wird. Die Wiederfindungsraten liegen für alle Matrices zwischen 65 - 98%. Auch das erweiterte Analytenspektrum zeigt Wiederfindungsraten zwischen 70 - 115% auf. Alle Analyten weisen Standardabweichungen von unter 20% auf.

### Zusammenfassung und Fazit

Die hier dargestellten Ergebnisse zeigen, dass die Auswahl der richtigen Hilfsmittel eine Optimierung der Probenvorbereitung ermöglichen. Automatisierte Systeme und weitere Geräte wie Schüttler oder Vakuumkonzentratoren stellen nicht nur eine deutliche Arbeitserleichterung dar, sondern ermöglichen ebenso zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse.

Um niedrigere Bestimmungsgrenzen erreichen zu können ist eine zuverlässige SPE-Säule unerlässlich. Die für die Anreicherung von PFAS-Analyten optimierten EluCLEAN PFAS-SPE-Säulen zeigen für ein weites Spektrum an Analyten, inklusive der länger-kettigen PFAS und der neutralen Sulfonamide, sehr gute Wiederfindungsraten und niedrige Standardabweichungen. Damit sind sie ein probates Mittel um in Zukunft die geforderten Grenzen der jeweiligen Regularien in verschiedensten Matrices zu erreichen.

- [1] E.M. Sunderland, X.C. Hu, C. Dassuncao, A.K. Tokranov, C.C. Wagner, J.G. Allen; J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol., 29 (2019), pp. 131-147
  - [2] E. Kissa, Fluorinated Surfactants and Repellents, Marcel Dekker AG, 2001
  - [3] B. Ameduri, Fluoropolymers: The Right Material for the Right Applications, Chem.-Eur. J., 2018, 24(71), 18830-18841
  - [4] Z. Wang, G. Goldenman, T. Tugran, A. McNeil and M. Jones, Per- and Polyfluoroalkylether Substances: Identity, Production and Use, 2020
  - [5] Carrie A. McDonough, Sarah Choyke, Kelsey E. Barton, Sarah Mass, Anne P. Starling, John L. Adgate, and Christopher P. Higgins, Environmental Science & Technology 2021 55 (12), 8139-8148
  - [6] Ahrens L, Bundschuh M. Fate and effects of poly- and perfluoroalkyl substances in the aquatic environment: a review. Environ Toxicol Chem. 2014 Sep;33(9):1921-9
  - [7] N. Quinete, Q. Wu, T. Zhang, S.H. Yun, I. Moreira, K. Kannan, Specific profiles of perfluorinated compounds in surface and drinking waters and accumulation in mussels, fish, and dolphins from southeastern Brazil, Chemosphere, 77 (2009), pp. 863-869
  - [8] Fenton SE, Ducatman A, Boobis A, DeWitt JC, Lau C, Ng C, Smith JS, Roberts SM. Per- and Polyfluoroalkyl Substance Toxicity and Human Health Review: Current State of Knowledge and Strategies for Informing Future Research. Environ Toxicol Chem. 2021 Mar;40(3):606-630
  - [9] Bierreth, Christian; Dreher, Peter; Nöltner, Thomas; Seeger, Ann-Kathr, Sachstandsbericht: PFAS – in Böden von Bodendauerbeobachtungsflächen, LUBW 2021 EluCLEAN PFAS – Universal ist ein eingetragenes Warenzeichen der Firma LCTech
- EluCLEAN® PFAS – Universal ist ein eingetragenes Warenzeichen der Firma LCTech

Autor | Kontakt



**Dr. Thomas Gersthagen**

Produktmanager Sorbentien

LCTech GmbH | Daimlerstr 4 | 84419 Obertraufkirchen | Germany