



## Nachweis von polyfluorierten Alkylphosphatestern (PAP) und Perfluoroktansulfonamidoethanol-basierten Phosphatestern (SAmPAP) in Böden

Gudrun Nürenberg<sup>1</sup> ([gudrun.nuerenberg@tzw.de](mailto:gudrun.nuerenberg@tzw.de)), Karsten Nödler<sup>1</sup> ([karsten.noedler@tzw.de](mailto:karsten.noedler@tzw.de)), Frank Thomas Lange<sup>1</sup> ([frankthomas.lange@tzw.de](mailto:frankthomas.lange@tzw.de)), Carsten Schäfer<sup>2</sup> ([carsten.schaefer@lubw.bwl.de](mailto:carsten.schaefer@lubw.bwl.de)), Kristin Huber<sup>2</sup> ([kristin.huber@lubw.bwl.de](mailto:kristin.huber@lubw.bwl.de)), Marco Scheurer<sup>1</sup> ([marco.scheurer@tzw.de](mailto:marco.scheurer@tzw.de))

<sup>1</sup> DVGW-Technologiezentrum Wasser (TZW), Karlsruhe

<sup>2</sup> Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg (LUBW)

### Abstract

In Mittel- und Nordbaden sind in den letzten Jahren großräumige Boden- und Gewässerverunreinigungen mit per- und polyfluorierten organischen Verbindungen bekannt geworden, die nach derzeitigem Kenntnisstand auf die Ausbringung von mit Papierschlamm versetztem Kompost zurückzuführen sind. Durch die Quantifizierung von polyfluorierten Alkylphosphatestern (PAP) und Perfluoroktansulfonamidoethanol-basierten Phosphatestern (SAmPAP) in den untersuchten Bodenproben aus dem Gebiet Baden-Baden/Rastatt konnte der derzeit erklärbare Anteil des extrahierbaren organisch gebundenen Fluors deutlich erhöht werden. Einzelne Vertreter der untersuchten Stoffgruppe wurden dabei mit Konzentrationen bis in den unteren mg/kg-Bereich nachgewiesen.

### Einleitung

In Mittel- und Nordbaden sind in den letzten Jahren großräumige Boden- und Gewässerverunreinigungen mit per- und polyfluorierten organischen Verbindungen bekannt geworden, die nach derzeitigem Kenntnisstand auf die Ausbringung von mit Papierschlamm versetztem Kompost zurückzuführen sind. Mit der bestehenden Einzelstoffanalytik nach einschlägigen DIN-Normen oder vergleichbaren Methoden wird lediglich eine Auswahl vergleichsweise niedermolekularer Per- und Polyfluoralkylcarbon- und -sulfonsäuren analysiert, die als End- oder Zwischenprodukte des Abbaus von Vorläuferverbindungen angesehen werden. Allerdings könnten weitere in

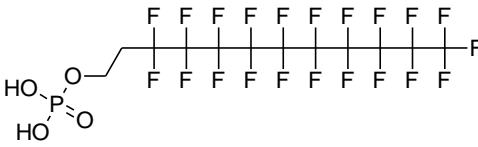
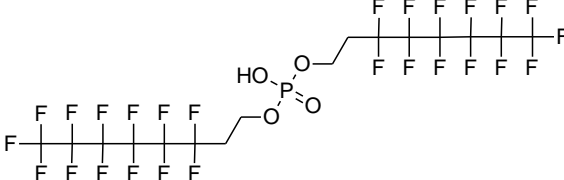
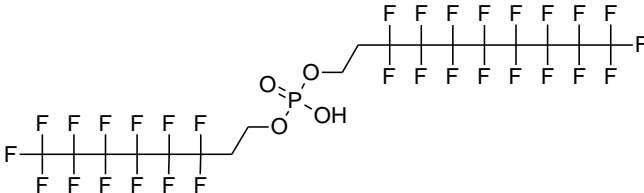
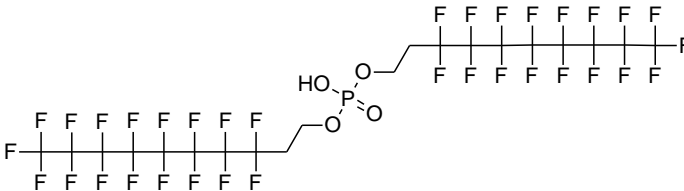
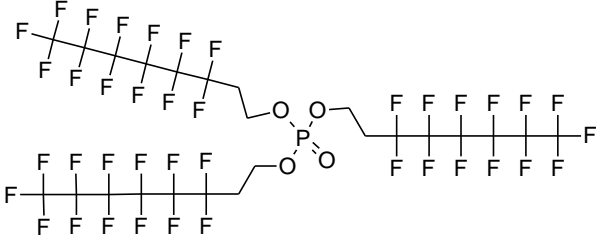
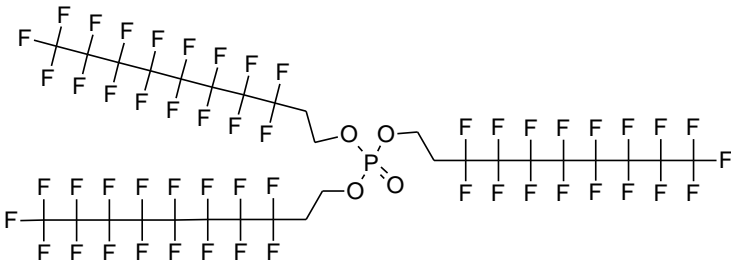
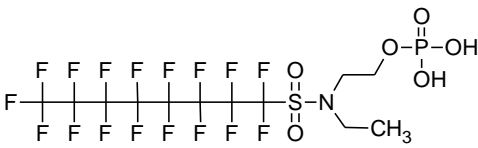
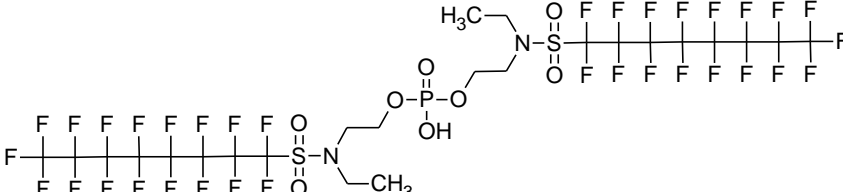
der Papierindustrie eingesetzte per- und polyfluorierte Alkylsubstanzen (PFAS) in den belasteten Gebieten eine Rolle spielen. Ein starker Hinweis für diese Arbeitshypothese ist die Tatsache, dass die Ergebnisse des summarischen Parameters EOF (extrahierbares organisch gebundenes Fluor) durch Ergebnisse der Einzelstoffanalytik bisher nur unzureichend erklärt werden können.

Polyfluorierte Alkylphosphatester (PAP, Tabelle 1) stellen eine dieser Stoffgruppen dar und wurden in der Vergangenheit vor allem bei der Herstellung fettreicher Papiere für den Lebensmittelbereich verwendet (D'eon et al., 2009). PAP können als mono-, di- und tri-substituierte Polyfluoralkylphosphatester mit verschiedenen Fluoralkylkettenlängen auftreten und zu Perfluorcarbonsäuren abgebaut werden (Ding et al., 2012). Perfluoroktansulfonamidoethanol-basierte Phosphatester (SAmPAP) wurden seit 1974 ebenfalls für Papiere mit Lebensmittelkontakt genutzt (Begley et al., 2008; Benskin et al., 2013). Formulierungen bestanden meist aus 10 % mono-, 85 % di-, und 5 % tri-substituierten Phosphatestern von N-Ethyl-Perfluoroktansulfonamidethanol, die gemeinschaftlich als SAmPAP bezeichnet werden [(Lee and Mabury, 2011) und darin aufgeführte Referenzen]. SAmPAP können in der Umwelt über mehrere Zwischenstufen zu Perfluoroktansulfonsäure (PFOS) abgebaut werden.

**Tabelle 1:**

Untersuchte Analyten mit verfügbaren Standards; für monoSAmPAP und diSAmPAP ist nur das Isomer mit unverzweigter/unverzweigter Perfluoralkylkette(n) aufgeführt.

Name	Strukturformel	M [g/mol]
6:2 monoPAP		444,1
8:2 monoPAP		544,1

10:2 monoPAP		644,1
6:2 diPAP		790,2
6:2/8:2 diPAP		890,2
8:2 diPAP		990,2
6:2 triPAP		1136,3
8:2 triPAP		1436,3
monoSAmPAP		651,2
diSAmPAP		1204,5

## Material und Methoden

Die Zielverbindungen wurden mittels Flüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie bei negativer Elektro-

spray-Ionisierung analysiert. Die Auftrennung der Verbindungen wird mit einer Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub>-Säule von Waters und einem Gradientensystem aus Reinstwasser und

Methanol (beide mit 0,1 % NH<sub>4</sub>OH) erreicht. Neben den mittels eines Referenzstandards quantifizierbaren PAP und SAmPAP wurden die Feststoffproben auf weitere literaturbekannte PAP durch Berücksichtigung theoretischer Massenübergänge untersucht.

Es wurden zwei verschiedene Extraktionsverfahren etabliert. Extraktionsmethode 1 wurde für die Extraktion der monoPAP und von monoSAmPAP angewandt, da hier bessere, wenn auch sehr geringe, Extraktionsausbeuten erzielt wurden (siehe Ergebnisteil). Dabei werden 2,5 g Boden mit 4 mL MTBE und 1 mL Essigsäure (1 M) mittels Ultraschallbad und Horizontalschüttler extrahiert. Bei der Extraktion von diPAP, triPAP und diSAmPAP konnte, aufgrund stärkerer Signalintensitäten, mit einer geringeren Bodeneinwaage von 1 g gearbeitet werden. Die Bodenproben wurden dabei zweimal mit je 10 mL Methanol mittels Ultraschallbad und Reagenzglasschüttler extrahiert.

Die Leistungsfähigkeit der Analysemethoden wurde durch die Anwendung von sechs Kriterien (Linearität, Bestimmungsgrenze, Präzision, Richtigkeit, Wiederfindung und Blindwert) mit Referenzstandard überprüft.

## Ergebnisse

Bei den erworbenen Referenzstandards 10:2 diPAP und 8:2 triPAP ergaben Analysen (auch des Herstellers) starke Verunreinigungen mit anderen PAP. Diese Verbindungen wurden daher nicht mit in die Analysenmethode einbezogen.

Die Analyten wiesen stark unterschiedliche positive Matrixeffekte auf. Da interne Standards nicht für jede Substanz erhältlich waren und ein Fremdbezug nicht immer möglich war, erfolgte eine quantitative Auswertung nur für 6:2 diPAP, 6:2/8:2 diPAP, 8:2 diPAP, 6:2 triPAP und diSAmPAP.

Die Validierung ergab für die drei monoPAP (6:2, 8:2 und 10:2 monoPAP) und monoSAmPAP sehr hohe Bestimmungsgrenzen sowie sehr geringe absolute Wiederfindungen über das Gesamtverfahren (< 5 %). Die somit erhaltenen niedrigen Peakintensitäten lagen im Bereich des ermittelten Blindwertes, welcher diese somit direkt beeinflussen kann. Daher ist eine Quantifizierung der monoPAP und von monoSAmPAP mittels dieser Analysemethoden nicht sinnvoll. Dies wurde auch in der wissenschaftlichen Literatur bereits beschrieben (z. B. max. 24% in Liu and Liu, 2016). Als Ursache dafür wird die tendenzielle Anfälligkeit von Organophosphatestern gegenüber enzymatischer Hydrolyse vermutet (D'eon and Mabury, 2011; Lee et al., 2014; Liu and Liu, 2016). Die Beobachtung, dass die Wiederfindung von monoPAP nach Autoklavierung der Böden deutlich verbessert werden konnte, wurde als Beweis für diese Hypothese gedeutet (Liu, 2015). Eine Stabilisierung von monoPAP in biologisch aktiven Böden mittels Enzym-Inhibitoren wurde in der Literatur bisher nicht beschrieben. Es wurde postuliert, dass die Hydrolyse von monoPAP hauptsächlich durch die Aktivität alkalischer Phosphatasen begründet ist (Jackson and Mabury, 2012). Es wurde deshalb die Auswirkung von Phosphat, 4-Nitrophenylphosphat (NPP) und Bis-(p-Nitrophenyl)phosphat (BNPP) auf die Wiederfindung von monoPAP aus nicht-autoklavierten Böden unter-

sucht. Entgegen der Erwartung konnte keiner der eingesetzten Phosphatase-Inhibitoren die Wiederfindung der Zielverbindungen verbessern. Dies wirft Fragen hinsichtlich des bisher postulierten Abbaupfad der monoPAP bei der Extraktion aus Bodenmaterial auf. Es ist möglich, dass die von Liu und Liu (2016) mit autoklaviertem Probenmaterial beobachteten Effekte nicht auf der Inaktivierung von Mikroorganismen und Enzymen beruhen. Anhand der Datenlage lässt sich dies allerdings nicht abschließend bewerten.

Mit der etablierten Analytik wurden 14 Bodenproben aus Mittel- und Nordbaden sowie eine Faserprobe, die auf einer PFAS-belasteten Fläche gesammelt wurde, untersucht. Abbildung 1 zeigt eine Übersicht der detektierten chromatographischen Signale für die PAP und SAmPAP mit und ohne verfügbaren Referenzstandard für zwei hochbelastete Bodenproben zur Veranschaulichung der Ergebnisse der qualitativen Analyse. Zusätzlich sind auch die Chromatogramme eines PAP/SAmPAP-Standards und des technischen Produkts Zonyl® RP (paper fluoridizer) dargestellt.

Es ist zu erkennen, dass diPAP einen wichtigen Anteil in diesen Proben darstellen. Neben den durch Referenzstandards quantifizierbaren diPAP wurden insbesondere 10:2 diPAP und gemischte diPAP bestehend aus Kombinationen einer 6:2- oder 8:2-Seitenkette und einer längeren Seitenkette (10:2, 12:2 oder 14:2) gefunden. Die ermittelten Gehalte an 6:2 triPAP tragen einen sehr geringen Anteil zur Gesamtbelastung mit PAP bei. Es sind weitere triPAP-Kongenere qualitativ anhand ihrer Massenübergänge in den Chromatogrammen im Retentionszeitbereich nach 6:2 triPAP erkennbar. Diese werden aufgrund ihrer noch geringeren Intensität maximal einen ähnlichen Anteil haben wie das 6:2 triPAP. Die schwereren triPAP-Kongenere zeigten bei allen Proben, bei denen das 6:2 triPAP quantifizierbar war, und auch bei dem technischen Produkt Zonyl® RP ein ähnliches Peakmuster, obwohl die Konzentration des 6:2 triPAP unterhalb der Bestimmungsgrenze lag (siehe Abbildung 1).

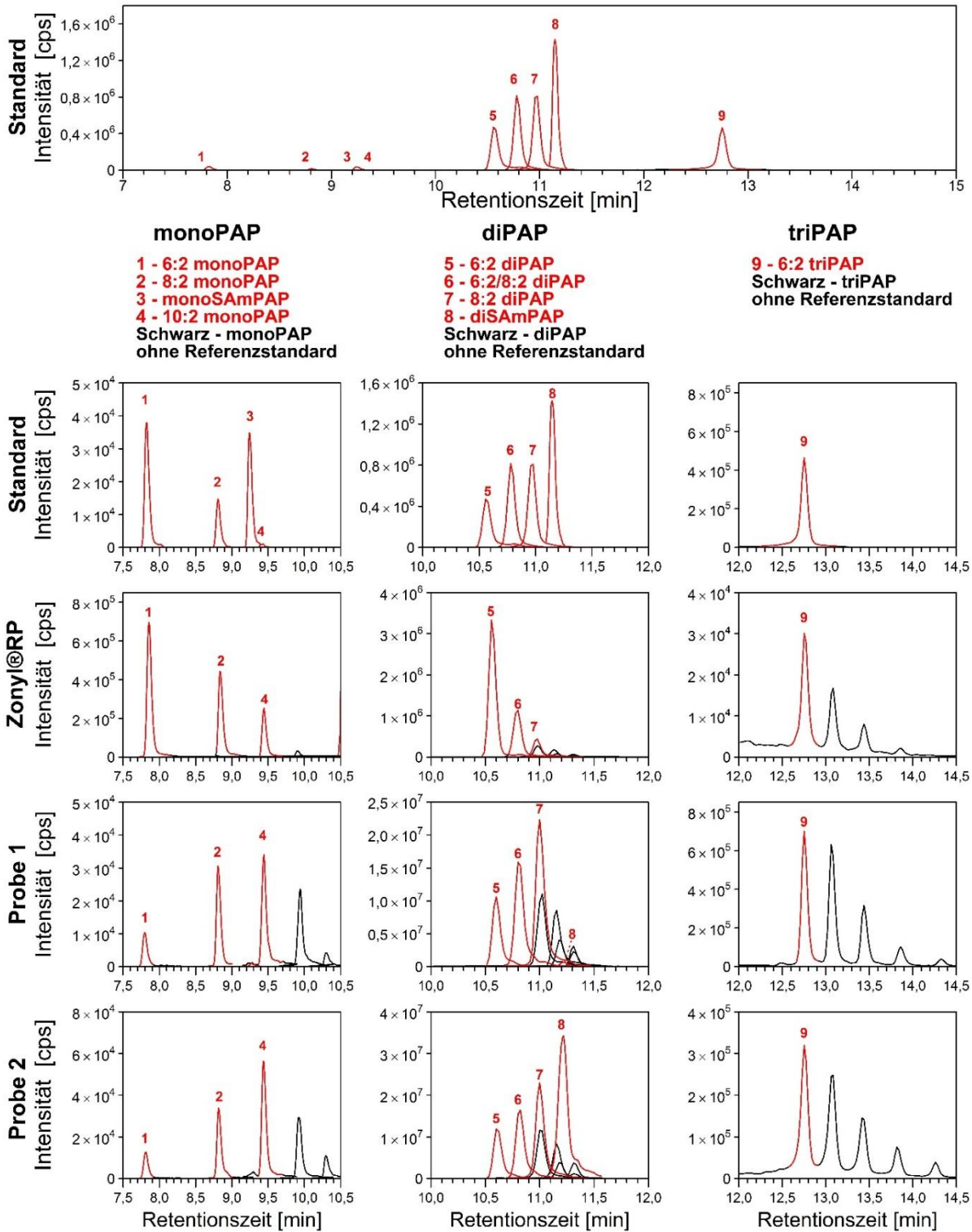
Wie erwartet, wurden keine SAmPAP in Zonyl® RP nachgewiesen, wohingegen diSAmPAP in insgesamt fünf von 14 untersuchten Feldproben gefunden wurde. Der höchste Gehalt (1700 µg/kg) wurde in der Probe 2 detektiert. In diesem Fall war der Gehalt höher als die jeweiligen Gehalte einzelner diPAP. In allen fünf Proben, in denen diSAmPAP gefunden wurde, war auch sein Abbauprodukt PFOS und in drei Proben zusätzlich das Abbauprodukt FOSA (Säureamid von PFOS) enthalten. In allen anderen Proben wurde PFOS nicht oder nur in niedriger Konzentration sowie kein FOSA nachgewiesen.

Des Weiteren zeigten die Auswertungen, dass auch die monoPAP wahrscheinlich mengenmäßig wichtige Verbindungen in den Bodenproben darstellen. Wie oben erläutert, konnte deren Anwesenheit jedoch nur qualitativ und aufgrund ihrer geringen Wiederfindungen nur in den am stärksten belasteten Bodenproben sicher bestimmt werden.

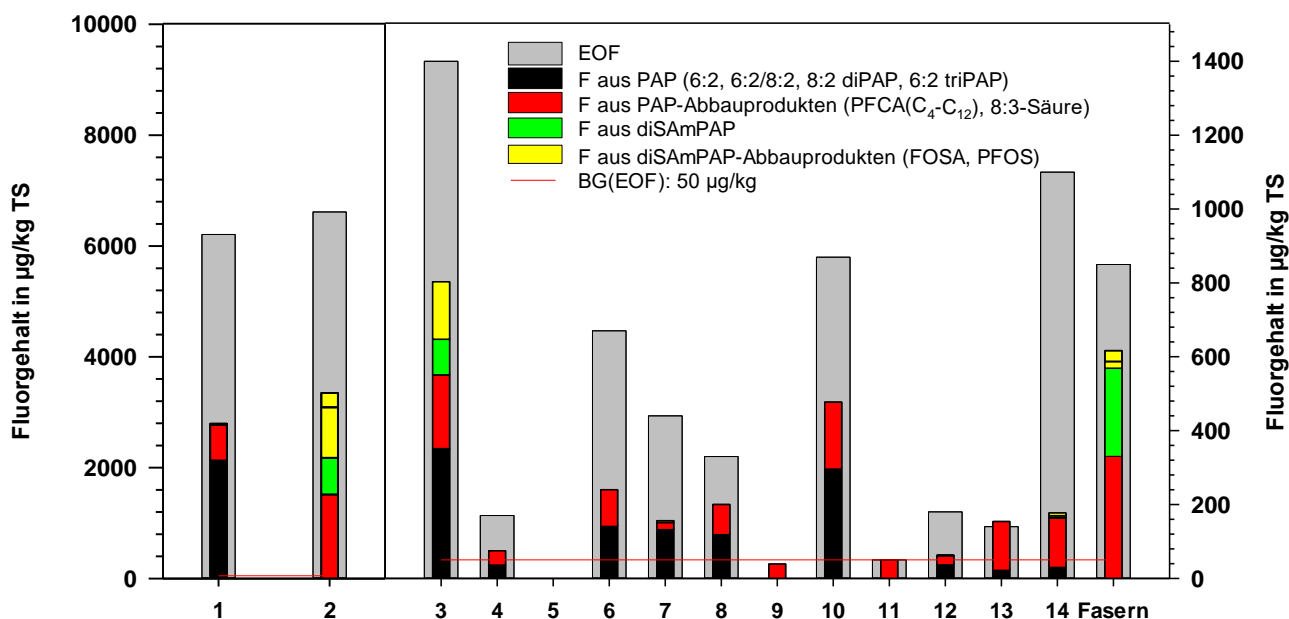
In Abbildung 2 sind verschiedene Summen für Organofluor aus den quantitativ bestimmten PFAS dargestellt und mit dem EOF verglichen. Diese Werte wurden ermittelt, indem für jede der aufgeführten Substanzen der Organofluorgehalt aus der

jeweiligen chemischen Summenformel berechnet und daraus verschiedene Summen gebildet wurden. Hierbei wurde eine Wiederfindung von 100 % des Organofluors für alle Einzelverbindungen angenommen. Wiederfindungen < 100 % würden demnach die Erklärungslücke entsprechend ver-

größern. Es ist zu erkennen, dass die bisher quantifizierten PAP und SAmPAP sowie deren Abbauprodukte einen wichtigen Anteil zum als EOF gemessenen Organofluor beitragen.



**Abb 1:** Übersicht der chromatographischen Signale der quantifizierbaren PAP und SAmPAP (rot) und PAP ohne Referenzstandards (schwarz) für verschiedene Proben; Standard: 25 µg/L Referenzlösung aller PAP und SAmPAP in Methanol + 0,1 % NH<sub>4</sub>OH, Zonyl®RP: Industriechemikalie Zonyl®RP verdünnt auf 10 µg/L mit Methanol + 0,1 % NH<sub>4</sub>OH.



**Abb. 2:** Vergleich von EOF mit dem Organofluorgehalt an quantitativ bestimmten PFAS in verschiedenen Bodenproben und einer Faserprobe. Die linke Ordinate bezieht sich auf die Bodenproben 1 und 2.

Durch die Quantifizierung von PAP und SAMPAP in den untersuchten Bodenproben aus dem Gebiet Baden-Baden/Rastatt konnte der derzeit erklärbare Anteil des EOF deutlich erhöht werden und liegt nun im Durchschnitt bei 57 %. Weitere PAP-Kongeneren, die qualitativ anhand ihrer massenspektrometrischen Übergänge nachgewiesen wurden, machen einen bislang noch nicht quantifizierbaren Anteil des restlichen EOF aus.

## Literatur

- Begley, T. H.; Hsu, W.; Noonan, G.; Diachenko, G. (2008). Migration of fluorochemical paper additives from food-contact paper into foods and food simulants. *Food Additives & Contaminants: Part A* 25 (3), 384–390.
- Benskin, J.P.; Ikononou, M.G.; Gobas, Frank A. P. C.; Begley, T.H.; Woudneh, M.B.; Cosgrove, J.R. (2013). Biodegradation of N-ethyl perfluorooctane sulfonamido ethanol (EtFOSE) and EtFOSE-based phosphate diester (SAMPAP diester) in marine sediments. *Environmental Science and Technology* 47 (3), 1381–1389.
- D'eon, J. C.; Crozier, P. W.; Furdui, V. I.; Reiner, E. J.; Libelo, E. L.; Mabury, S. A. (2009). Observation of a commercial fluorinated material, the polyfluoroalkyl phosphoric acid diesters, in human sera, wastewater treatment plant sludge, and paper fibers. *Environ. Sci. Technol.* 43 (12), 4589–4594.
- D'eon, J.C.; Mabury, S.A. (2011). Exploring indirect sources of human exposure to perfluoroalkyl carboxylates (PFCAs): evaluating uptake, elimination, and biotransformation of polyfluoroalkyl phosphate esters (PAPs) in the rat. *Environmental Health Perspectives* 119 (3), 344–350.
- Ding, H.; Peng, H.; Yang, M.; Hu, J. (2012). Simultaneous determination of mono- and disubstituted polyfluoroalkyl phosphates in drinking water by liquid chromatography–

electrospray tandem mass spectrometry.

*Journal of Chromatography A* 1227, 245–252.

Jackson, D.A.; Mabury, S.A. (2012). Enzymatic kinetic parameters for polyfluorinated alkyl phosphate hydrolysis by alkaline phosphatase. *Environmental Toxicology and Chemistry* 31 (9), 1966–1971.

Lee, H.; Mabury, S.A. (2011). A pilot survey of legacy and current commercial fluorinated chemicals in human sera from United States donors in 2009. *Environmental Science and Technology* 45 (19), 8067–8074.

Lee, H.; Tevlin, A.G.; Mabury, S.A.; Mabury, S.A. (2014). Fate of polyfluoroalkyl phosphate diesters and their metabolites in biosolids-applied soil: biodegradation and plant uptake in greenhouse and field experiments. *Environmental Science and Technology* 48 (1), 340–349.

Liu, C. (2015). Investigation of environmental fate of novel perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in soil and biosolids. Master thesis, Montreal.

Liu, C.; Liu, J. (2016). Aerobic biotransformation of polyfluoroalkyl phosphate esters (PAPs) in soil. *Environmental Pollution* 212, 230–237.

## Korrespondenzadresse

Dr. Marco Scheurer  
Abteilung Analytik und Wasserbeschaffenheit  
TZW: DVGW-Technologiezentrum Wasser  
Karlsruher Straße 84  
76139 Karlsruhe  
Tel.: 0721 9678-255  
Fax: 0721 9678-104  
E-Mail: [marco.scheurer@tzw.de](mailto:marco.scheurer@tzw.de)  
Homepage: [www.tzw.de](http://www.tzw.de)