



Schnelle und einfache Extraktion von PFAS aus Bodenproben: Optimierte EOF-Bestimmung mittels HR-CS-GFMAS

Lennart Gehrenkemper (Lennart.Gehrenkemper@bam.de),

Fabian Simon (Michael-Fabian.Simon@bam.de),

Björn Meermann (Bjoern.Meermann@bam.de)

Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung, Fachbereich 1.1 - Anorganische Spurenanalytik,
Richard-Willstätter-Straße 11, 12489 Berlin, Deutschland

Abstract

Per- und polyfluorierte Alkylsubstanzen (PFAS) bilden eine sehr komplexe Schadstoffgruppe mit über 6300 Einzelsubstanzen, die in vielfältiger Form in die Umwelt eingetragen werden. Für ein effektives Monitoring dieser Schadstoffklasse benötigt es ein Zusammenspiel aus Summenparameter-Analytik zur *hot-spot*-Identifizierung und Klassifizierung von Belastungssituationen sowie einer nachgeschalteten *target*-Analytik zur Identifizierung von Eintragswegen, die zugleich ein tieferes Verständnis von Transformationsprozessen ermöglicht. In diesem Beitrag präsentieren wir eine optimierte Extraktions-Methode für die PFAS-Summenparameteranalytik. Mit Hilfe dieser können bisher verwendete zeit- und kostenintensive Festphasenextraktionen (SPE) umgangen und PFAS-Extraktionseffizienzen gesteigert werden. Die methodische Bestimmungsgrenze (LOQ) war mit 10,30 µg/kg (Fluor pro Bodenprobe) ausreichend für alle 9 untersuchten Realbodenproben.

Einleitung

Die Verwendung von PFASs wird seit einigen Jahren sehr kontrovers diskutiert. Auf Grund ihrer sehr hohen Persistenz werden sie auch als *for-ever-chemicals* bezeichnet. Die Fluor-Kohlenstoff-Bindung – eine der stärksten kovalenten Einfachbindungen – hat eine hohe chemische und physikalische Beständigkeit der PFAS bzw. ihrer Transformationsprodukte zur Folge. Zudem sind sie zugleich hydrophob wie lipophob. Die Kombination dieser Eigenschaften eröffnet eine breite Anwendung in diversen Industriesektoren und bei der Brandbekämpfung [1, 2].

Andererseits sind viele PFAS extrem persistent, bioakkumulativ und (potentiell) toxisch [3, 4]. Obwohl sie anthropogenen Ursprungs sind, können sie ubiquitär auch in entlegenen Regionen, wie der Arktis, nachgewiesen werden. [5] Die Zahl der mit CAS-Nummer registrierten PFAS steigt seit Jahren und durch nicht-registrierte Substanzen und Transformationsprodukte ist die tatsächliche PFAS-Anzahl nochmals höher. Schätzungen reichen hier von 4.730 registrierten Substanzen bis zu über 9.000 Verbindungen einschließlich der nichtregistrierten. [6, 7] Die zwei prominentesten Vertreter sind die C8-Carbonsäure Perfluorooctansäure (PFOA) und die entsprechende Sulfonsäure [Perfluorooctansulfonsäure (PFOS)]. Beide und ihre Vorläuferverbindungen sind bereits stark reguliert [8], was jedoch statt einer Vermeidung von PFAS vor allem

eine Verschiebung des Produktspektrums hin zu kurzkettigen bzw. zu PFAS mit Ether-Funktion als „Sollbruchstelle“ zur Folge hatte [9–11], ohne dabei die zu Grunde liegende Problematik der Persistenz und Bioakkumulation zu lösen. So ist heute eine Vielzahl verschiedener (unbekannter) PFAS-Spezies in der Umwelt zu finden. Brusseau et al. haben 2020 in einem Review zu PFAS-Konzentrationen in Bodenproben Daten von über 30.000 Proben aus mehr als 2.500 Probenahmestellen ausgewertet [12]. Ausgewertete Tiefenprofile zeigten eine Abnahme der PFAS-Konzentrationen mit zunehmender Tiefe, jedoch auch in 37 m Tiefe noch nachweisbare PFAS-Belastungen für untersuchte Einzelsubstanzen, was auf eine Retention von PFAS in Böden schließen lässt [12]. So können Bodenproben als Indikator für PFAS-Kontaminationen fungieren, noch bevor diese bspw. das Grundwasser erreichen. Diese Proben sind somit hoch relevant im Zusammenhang mit Expositionswegen für Mensch und Umwelt.

Um die tatsächliche Belastungssituation erfassen zu können benötigt es jedoch neben geeigneten Extraktionsmethoden zuverlässige Detektionsmethoden, die der großen Anzahl an Verbindungen gerecht wird - Einzelsubstanz-analytische Ansätze (sog. *target*-Analytik) stoßen hierbei an ihre Grenzen. Daher etablieren sich vor allem zwei unterschiedliche Summenparameter-Ansätze, die auf der Erfassung des organisch gebundenen Fluors (OF) basieren: (i) Adsorbierbares OF (AOF) - die flüssige Probe wird hierbei auf Aktivkohle (AC) adsorbiert; (ii) Extrahierbares OF (EOF) wird hierbei aus Feststoff- oder Flüssigproben extrahiert und anschließend elementaranalytisch auf Fluor quantifiziert. Hierfür können in beiden Fällen die „Hochauflösende-Kontinuumstrahler-Graphitrohr-Molekülabsorptionsspektrometrie (HR-CS-GFMAS)“ oder, alternativ, die „Combustion-Ionenchromatographie (CIC)“ eingesetzt werden. Beide liefern vergleichbare Ergebnisse für die Summenparameteranalytik, wobei die HR-CS-GFMAS-Methode präziser, sensitiver und weniger zeitintensiv ist [13].

Da beide Detektionsverfahren (indirekt) Fluor-spezifisch messen, ist während der Probenvorbereitung eine Separation von anorganischem Fluorid (AF) und OF zwingend notwendig. Dies wurde bisher für den EOF durch einen (im Fall von Feststoffproben zusätzlichen) Festphasenextraktionsschritt (SPE) gelöst [14–16]. Dieser SPE-Schritt ist zeit- und kostenintensiv, sowie mit hohem Aufkommen von kontaminierten Lösungsmitteln verbunden. Daher war es Ziel der hier zugrunde-

liegenden Studie eine EOF-Methode für die PFAS-hotspot-Identifizierung in Bodenproben zu entwickeln und zu optimieren, die ohne SPE auskommt und für die Quantifizierung mittels HR-CS-GFMS geeignet ist [17].

Optimierung der Probenvorbereitung

Die Extraktion von organisch gebundenem Fluor aus Bodenproben wurde in acht Schritten optimiert. Zunächst wurden in Spike-Experimenten 1) ein geeignetes Lösungsmittel bestimmt, 2) das Probengewicht und 3) das Extraktionsvolumen optimiert, 4) der Einfluss von zugesetzten organischen Säuren/Basen untersucht und 5) die optimalen Inkubationsbedingungen ermittelt. Es folgten drei Optimierungsschritte, die unter Verwendung realer Bodenproben durchgeführt wurden. Hier wurde 6) die Anzahl der nötigen Extraktionswiederholungen optimiert, sodass ein repräsentativer Anteil EOF aus stark belasteten Realproben extrahiert werden kann. 7) Die so erhaltene Extraktionsmethode wurde auf co-extrahiertes anorganisches Fluorid getestet. Abschließend (8) wurden die ermittelten EOF-Werte mit und ohne zusätzliche SPE-Aufreinigung nach Extraktion von neun Realbodenproben mit der optimierten Methode verglichen. Die vollständigen Ergebnisse der Optimierungsstudie sind bei Simon und Gehrenkemper et

al. [17] nachzulesen. Im Folgenden werden die Studie skizziert und die Ergebnisse der finalen Optimierungsschritte 7) & 8) diskutiert.

Probenauswahl und Optimierungsparameter

Für die Optimierung wurde für die Spike-Experimente ein Material benötigt, das möglichst keine PFAS-Belastung und kein extrahierbares anorganisches Fluorid aufweist und zudem hinsichtlich seiner Beschaffenheit Bodenproben möglichst ähnlich ist. Da kein solcher Boden verfügbar war, wurde hierfür unbelastetes, gefriergetrocknetes Sediment verwendet.

Für die finale Optimierung und zur Überprüfung der Anwendbarkeit sowie der Testung auf co-extrahiertes anorganisches Fluorid wurden reale Bodenproben verwendet. Darunter vier Proben mit bekannter PFAS-Kontaminationshistorie und fünf mit unbekannter (möglicher) PFAS-Kontamination. Bei der Auswahl der Realproben wurde auf unterschiedliche Bodentypen geachtet und die Proben von unterschiedlichen Standorten aus ganz Deutschland gesammelt. Die verwendeten Realbodenproben sind in **Tabelle 1** zusammengefasst.

Tabelle 1 Zusammenfassung der untersuchten Realbodenproben

Bodenprobe	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Bodentyp	Sandiger Boden	Nicht bekannt	Lehmiger Unterboden	Schluffiger Ton	Schluffiger Ton	Lößlehm	Luvisol	Oberboden	Filterkuchen
PFAS-Kontaminationshistorie	Brandbekämpfung	Nicht bekannt	Nicht bekannt	Papier-schlamm	Papier-schlamm	Nicht bekannt	Nicht bekannt	Nicht bekannt	Deponie

Quelle: [17]

Da das verwendete Detektionsverfahren (HR-CS-GFMS) keine PFAS-Spezies unterscheiden kann, sondern fluorselektiv misst, wurden für die Spikeexperimente Einzelsubstanz-Spikes eingesetzt. Für diese [Optimierungsschritte 1) – 5)] wurden daher drei Per- und polyfluorierte Alkylsäuren (PFAA) ausgewählt, die eine große Spanne an Eigenschaften unterschiedlicher PFAS widerspiegeln: PFOA als eine der prominentesten und weit verbreitetsten (langkettigen) PFAS, Perfluorpentansäure (PFPeA) als kurzkettige Carbonsäure und Perfluorbutansulfonsäure (PFBS) als Sulfonsäure. Als Optimierungsparameter wurden hierbei die via HR-CS-GFMS ermittelten PFAS-Wiederfindungen genutzt. Für die fluor-spezifische Quantifizierung wurde eine von Metzger et al. entwickelte Methode verwendet [15]. Um substanzspezifisch zu extrahieren, sollten dabei die Wiederfindungen nah an 100% und für die drei untersuchten Substanzen möglichst ähnlich sein. Für die Optimierung hinsichtlich co-extrahiertem anorganischem Fluorid wurden Fluoridkonzentrationen mittels IC bestimmt und Konzentrationen unter dem methodischen IC-LOQ ($LOQ_{IC} = 20 \mu\text{g/kg}$) als optimal gesetzt.

Einfluss von co-extrahiertem Fluorid

Die Optimierungsschritte 1) – 5) ergaben für die drei untersuchten PFAA die besten Wiederfindungen von 84% für PFBS, 87% für PFPeA und 86% für PFOA unter Verwendung von 1 g Probenmenge extrahiert mit 5 mL 0,5%iger Essigsäure in methanolischer Lösung (v/v) und Inkubation in einem Ultraschallbad für 5 min bei Raumtemperatur [17]. Diese Methode wurde auf drei Realbodenproben mit bekannter hoher Kontamination achtmal angewendet und für jeden Extraktionsschritt einzeln die erhaltenen EOF-Konzentrationen ermittelt, bis keine nennenswerten Mengen EOF mehr extrahiert werden konnten. Die Auswertung ergab, dass bereits die ersten 4 Extraktionsschritte zwischen 85% und 90% der Summe der EOF-Konzentrationen aller 8 Extraktionsschritte repräsentierten, was in einer Kosten-Nutzen-Abwägung als optimal angesehen wurde. Für eine schnelle PFAS-hotspot-Identifizierung ohne repräsentativen EOF-Wert kann bereits die erste Extraktion aussagekräftig sein.

Die so erhaltene optimierte Extraktionsmethode wurde im nächsten Schritt auf ihre Anwendbarkeit auf Realproben verschiedener Bodentypen und Belastungssituationen sowie auf den Anteil dabei co-extrahierten anorganischen Fluorids

untersucht. Hierfür wurden neun Bodenproben (vgl. Tabelle 1) vierfach extrahiert (Abbildung 1A). Zusätzlich wurde eine Variante der Extraktionsmethode mit anderem Extraktionsmittel bestehend aus 0,5%iger Essigsäure gelöst in 1:1 MeOH:MTBE (*v/v*) unter sonst gleichen Extraktionsbedingungen durchgeführt und ebenfalls auf EOF und Fluorid quantifiziert (Abbildung 1B).

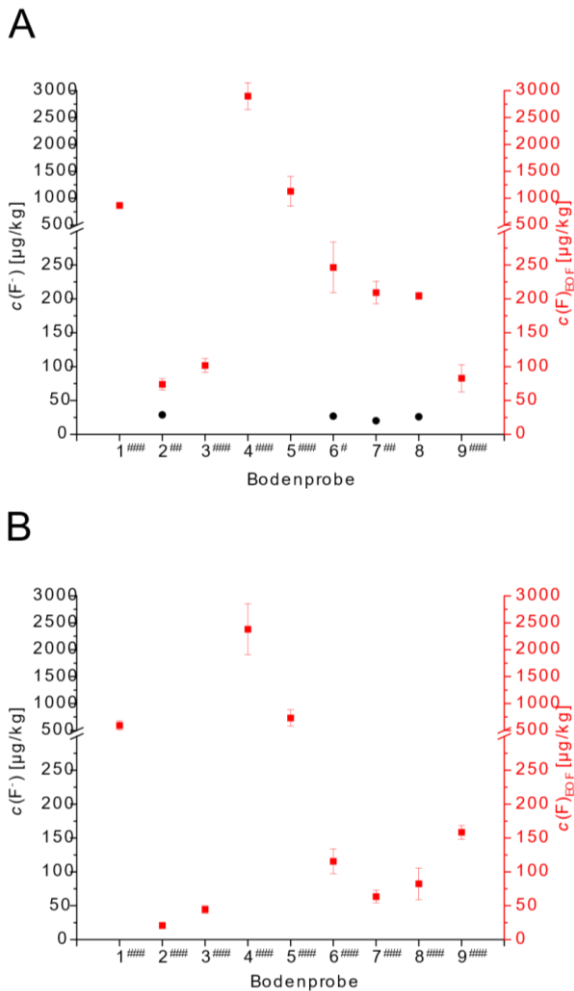


Abb. 1: Vergleich der Konzentrationen von extrahierbarem anorganischem Fluorid (AF, linke Ordinate, schwarze Symbole) und extrahierbarem organisch gebundenem Fluor (EOF) nach Extraktion von 9 Realbodenproben (vgl. Tabelle 1) mit A) 0,5% Essigsäure in MeOH bzw. B) 0,5% Essigsäure in MeOH:MTBE 1:1 (*v/v*) als Lösungsmittel. Mittelwerte dreier Parallelproben; extrahierte Mengen der Vierfachextraktion jeder Parallelprobe aufsummiert. [17]

= 1/3 < LOQ_{IC}; ## = 2/3 < LOQ_{IC}; ### = 3/3 < LOQ_{IC} n = 3

Für alle Proben konnten mit beiden Extraktionsmethoden EOF-Konzentrationen quantifiziert werden (LOQ_{HR-CS-GFMAS} = 10,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ [32]). Konzentrationen für co-extrahiertes anorganisches Fluorid konnten nur nach methanolischer Extraktion (A) in vier Proben und dort auch nicht für alle Teilproben der methanischen Triplikate quantifiziert werden. Die EOF-Konzentrationen nach methanolischer Extraktion (A) waren (auch nach Korrektur für co-extrahiertes Fluorid) systematisch höher als

nach Extraktion mit dem MeOH:MTBE-Gemisch, wenn auch die korrespondierenden EOF-Werte jeweils in der gleichen Größenordnung lagen. Es lässt sich also für beide Methoden schlussfolgern, dass keine relevanten Mengen anorganischen Fluorids co-extrahiert wurden. Des Weiteren sind beide Methoden geeignet, PFAS-hotspots zu identifizieren und zwischen unterschiedlich starken Belastungsgraden zu unterscheiden. Vergleicht man die Abbildungen 1A und 1B, so ist festzustellen, dass – bis auf Probe 9 – die methanolische Extraktion (A) systematisch höhere EOF-Werte liefert. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte in der Zusammensetzung der Probe 9 liegen, wo ein hoher Anteil unpolarer PFASs zu vermuten ist, bei denen die MeOH:MTBE-Mischung eine bessere Extraktionseffizienz zu haben scheint. Auch ist anzumerken, dass für Proben mit erwartetem, sehr hohem Gehalt von extrahierbarem AF dessen Co-Extraktion zu überprüfen ist und gegebenenfalls die MeOH:MTBE-Extraktion zuverlässigere EOF-Werte liefert. Für alle neun untersuchten Böden war dies nicht der Fall (vgl. Simon und Gehrenkemper et al. [17]).

Einfluss einer zusätzlichen SPE-Aufreinigung

Da die EOF-Werte aller neun untersuchten Bodenproben nicht durch relevante AF-Konzentrationen beeinflusst wurden, wurde die Notwendigkeit einer SPE-Aufreinigung in Frage gestellt. In einem zusätzlichen Experiment wurde daher untersucht, ob eine nachfolgende SPE-Aufreinigung, wie sie für bisherige EOF-Analysen und LC/MS-Einzelsubstanzanalytik eingesetzt wird, zu bevorzugen ist, um potenziell co-extrahiertes AF zu entfernen. Dazu wurden die gleichen Proben (Tabelle 1) sowohl mit als auch ohne zusätzliche SPE-Aufreinigung nach einem optimierten Protokoll von Lange et al. [18] und Sacher et al. [19] extrahiert. Die Ergebnisse sind in Abbildung 2 zusammengefasst.

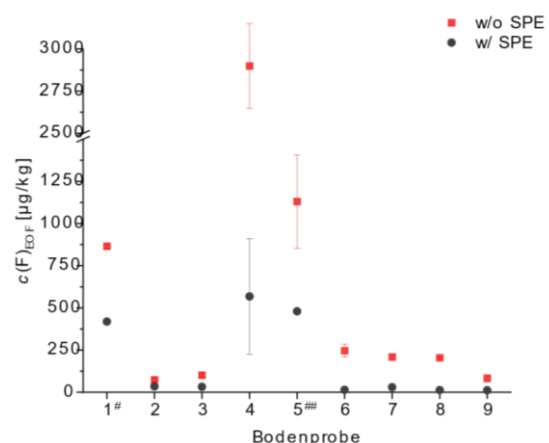


Abb. 2: Vergleich der EOF-Konzentrationen nach optimierter methanolischer Extraktion von neun Bodenproben vor (w/o SPE, rote Quadrate) und nach (w/ SPE, schwarze Kreise) SPE-Aufreinigung. (Simon und Gehrenkemper et al. [17]) #: n = 2 für die Bedingung „nach SPE-Aufreinigung“.

Für alle untersuchten Proben konnten nach beiden Verfahren (mit und ohne SPE) EOF-Konzentrationen quantifiziert werden.

Es ist festzustellen, dass die EOF-Werte ohne SPE systematisch höher liegen. Die Differenzen zwischen den korrespondierenden EOF-Werten (um Fluorid-Konzentrationen bereinigt) reichen von 23% (Probe 2) bis zu 94% (Probe 6) des entsprechenden EOF-Werts [17]. Diese Differenzen sind nicht durch Co-Extraktion von anorganischem Fluorid zu erklären (vgl. **Abbildung 1**), weshalb davon auszugehen ist, dass die SPE-Aufreinigung einen beachtlichen Anteil des organisch gebundenen Fluors diskriminiert und somit die EOF-Konzentrationen (teils dramatisch) unterschätzt.

Zusammenfassung und Ausblick

Wir präsentieren hier eine optimierte EOF-Summenparameter-Methode für die Extraktion von PFAS aus Bodenproben basierend auf einer schnellen Fest-Flüssig-Extraktion [mit 0,5% (v/v) Essigsäure in MeOH] und anschließender HR-CS-GFMS-Analytik. Wir konnten zeigen, dass diese für verschiedene Bodentypen und verschiedene PFAS-Belastungssituationen geeignet ist, PFAS-*hotspots* zu identifizieren und die Belastung einzuordnen. Der Vergleich der Methode mit und ohne zusätzliche zeit- und kostenintensive SPE-Aufreinigung zeigte eine große Unterschätzung des EOF-Wertes nach SPE-Aufreinigung.

Die hier beschriebene Methode kann ein wertvolles Hilfsmittel für die PFAS-*hotspot*-Identifizierung und die dringend notwendige verstärkte Ausweitung der PFAS-Regulierung sein. Besonders in komplementärem Einsatz einer Summenparameter-Analytik zur *hotspot*-Identifizierung und anschließender Einzelsubstanzaufklärung der *hotspots* können Abläufe des PFAS-Monitorings stark beschleunigt und somit Eintragspfade schneller identifiziert werden, was die Sicherheit von Mensch und Umwelt vor den hoch persistenten und potentiell toxischen *for-ever-chemicals* PFAS verbessert.

Referenzen

- Berger R, Resnati G, Metrangolo P, Weber E, Hulliger J. Organic fluorine compounds: a great opportunity for enhanced materials properties. *Chem Soc Rev*. 2011;40(7):3496-3508. doi:10.1039/c0cs00221f.
- Gardiner J. Fluoropolymers: Origin, production, and industrial and commercial applications. *Aust J Chem*. 2015;68(1):13-22. doi:10.1071/ch14165.
- Ritscher A, Wang ZY, Scheringer M, Boucher JM, Ahrens L, Berger U et al. Zurich statement on future actions on per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs). *Environ Health Perspect*. 2018;126(8):5. doi:10.1289/ehp4158.
- Sunderland EM, Hu XDC, Dassuncao C, Tokranov AK, Wagner CC, Allen JG. A review of the pathways of human exposure to poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) and present understanding of health effects. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 2019; 29(2):131-147. doi:10.1038/s41370-018-0094-1.
- Butt CM, Berger U, Bossi R, Tomy GT. Levels and trends of poly- and perfluorinated compounds in the arctic environment. *Sci Total Environ*. 2010;408:2936-2965. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.03.015>
- OECD Toward a new comprehensive global database of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs). In: OECD Environment, Health and Safety Publications Series on Risk Management, No. 39, Paris, 2018.
- US EPA. PFAS Master List of PFAS Substances (Version2), https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical_lists/pfasmaster, Accessed August, 20th 2021.
- UNEP - United Nations Environment Programme. The new POPs under the Stockholm Convention. <http://www.pops.int/TheConvention/ThePOPs/TheNewPOPs/tabid/2511/Default.aspx>. 2019. Accessed July 1st, 2020.
- CSWIRE. 3M Phasing Out Some of its Specialty Materials. https://www.cswire.com/press_releases/25065-3m-phasing-out-some-of-its-specialty-materials. 2000. Accessed December 21st, 2020.
- Renner R. The long and the short of perfluorinated replacements. *Environ Sci Technol*. 2006;40(1):12-13. doi:10.1021/es062612a.
- Janousek RM, Mayer J, Knepper TP. Is the phase-out of long-chain PFASs measurable as fingerprint in a defined area? Comparison of global PFAS concentrations and a monitoring study performed in Hesse, Germany from 2014 to 2018. *Trac-Trends Anal Chem*. 2019;120:N115393. doi:10.1016/j.trac.2019.01.017.
- Brusseau ML, Anderson RH, Guo B. PFAS concentrations in soils: Background levels versus contaminated sites. *Sci Total Environ*. 2020;740:8. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.140017.
- Gehrenkemper L, Simon F, Roesch P, Fischer E, von der Au M, Pfeifer J et al. Determination of organically bound fluorine sum parameters in river water samples—comparison of combustion ion chromatography (CIC) and high resolution-continuum source-graphite furnace molecular absorption spectrometry (HR-CS-GFMS). *Anal Bioanal Chem*. 2021;413(1):103-115. doi:10.1007/s00216-020-03010-y.
- Miyake Y, Yamashita N, Rostkowski P, So MK, Taniyasu S, Lam PKS, Kannan K. Determination of trace levels of total fluorine in water using combustion ion chromatography for fluorine: A mass balance approach to determine individual perfluorinated chemicals in water. *J. Chromatography A* 2007;1143(1-2): 98-104.
- Metzger M, Ley P, Sturm M, Meermann B. Screening method for extractable organically bound fluorine (EOF) in river water samples by means of high-resolution-continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry (HR-CS GF MAS). *Anal Bioanal Chem*. 2019;411(19):4647-4660. doi:10.1007/s00216-019-01698-1.
- Akhthar A, Schneider M, Orme A, Schultes L, Raab A, Krupp EM et al. The use of high resolution graphite furnace molecular absorption spectrometry (HR -MAS) for total fluorine determination in extractable organofluorines (EOF). *Talanta*. 2020;209:9. doi:10.1016/j.talanta.2019.120466.
- Simon F, Gehrenkemper L, von der Au M, Wittwer P, Roesch P, Pfeifer J, Cossmer A, Meermann B. A fast and simple PFAS extraction method utilizing HR-CS-GFMS for soil, *Chemosphere* 2022; <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133922>.
- Lange FT, Müller J, Körner B. Entwicklung eines fluor-spezifischen Gruppenparameters "EOF" für Boden und weitere Feststoffmatrices. Abschlussbericht. 2017;Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg.
- Sacher F, Lange FT, Nödler K, Scheurer M, Müller J, Nürnberg G et al. Optimierung der EOF-Analytik unter Berücksichtigung der Beiträge verschiedener Stoff-klassen poly- und perfluorierter Verbindungen. Abschlussbericht. 2019;Landesanstalt für Umwelt Baden-Württemberg.