

INSTITUT FÜR WASSERCHEMIE UND CHEMISCHE BALNEOLOGIE  
LEHRSTUHL FÜR HYDROGEOLOGIE, HYDROCHEMIE UND UMWELTANALYTIK  
DER TECHNISCHEN UNIVERSITÄT MÜNCHEN

**Analytik von Cellulose und Glucose in  
atmosphärischen Aerosolproben  
und  
physikalische Aerosol-Charakterisierung mit  
einem elektrischen Niederdruckimpaktor**

Axel Zerrath

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Chemie der Technischen  
Universität München  
zur Erlangung des akademischen Grades eines  
**Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)**  
genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. M. Schuster  
Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. R. Nießner  
2. Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. (RO) A. Kettrup

Die Dissertation wurde am 17.12.2004 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Chemie am 21.03.2005 angenommen.

---

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von Januar 2000 bis Dezember 2003 am Institut für Wasserchemie und Chemische Balneologie der Technischen Universität München durchgeführt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Ulrich Pöschl und Herrn o. Univ.-Prof. Dr. Reinhard Nießner für die Themenstellung, die Bereitstellung der technischen und finanziellen Mittel, die wissenschaftliche Betreuung und die weitgehenden Freiheiten zur selbstständigen Organisation und Durchführung dieser Arbeit. Besonders erwähnen möchte ich auch die mir gebotenen Möglichkeiten zur Teilnahme an Messkampagnen außerhalb der normalen Institutsarbeit.

Danken möchte ich Frau Susanna Mahler für die intensive Zusammenarbeit bei der Zucker-Analytik, die nicht nur fachlich sehr aufschlussreich und hilfreich war, sowie für die Freundschaft. Auch Frau Ramona Leube möchte ich für ihre Mitarbeit bei der thermochemischen Analyse danken.

Meinen Freunden und Kollegen/Kolleginnen aus dem Aerosollabor für die langjährige Zusammenarbeit vielen Dank.

Ebenfalls danken möchte ich Herrn Dr. T. Letzel für die fachlichen Diskussionen auf dem Gebiet der Chromatographie und Massenspektrometrie. Frau Marion Lackhoff gilt mein Dank für die kollegiale Hilfe und freundschaftliche Unterstützung.

Herrn PD Dr. H. Berresheim vom Meteorologischen Instituts des Deutschen Wetterdienstes gilt ebenfalls mein Dank für die Bereitstellung der Infrastruktur zur Probenahme am Hohenpeissenberg. Herrn U. Kaminski danke ich für die unermüdliche Unterstützung bei den Messkampagnen auf dem Observatorium.

Dem Team vom Schneefernerhaus (UFS) auf der Zugspitze möchte ich ebenso für die Hilfe zur Durchführung der aufwendigen Messkampagnen danken.

Herrn Michael Radtke vielen Dank für die Einblicke an der Entstehung von Meerwasser-Aerosol an der Universität Bayreuth.

An dieser Stelle möchte mich besonders bei meinen Eltern, meiner Frau Tina und deren Eltern und meiner Schwester bedanken ohne deren Unterstützung diese Arbeit nie zustande gekommen wäre.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>Allgemeiner Teil</b>	<b>9</b>
2.1	Atmosphärische Aerosole und ihre Bestandteile . . . . .	9
2.2	Vorkommen und Freisetzung von Kohlenhydraten . . . . .	10
2.3	Nachweis von Kohlenhydraten . . . . .	10
2.4	Anionenaustauschchromatographie zur Trennung von Monomeren und Oligomeren . . . . .	13
2.5	Mikrowellenunterstützte saure Hydrolysereaktionen . . . . .	14
2.6	Sammeln von Aerosolproben . . . . .	15
2.7	Messen von Partikelgrößenverteilungen . . . . .	16
2.8	Bestimmung von Partikelverlusten in Messsystemen . . . . .	18
2.9	Filterkennlinien . . . . .	19
<b>3</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	<b>21</b>
3.1	Analytische Methoden . . . . .	21
3.1.1	Glucose-Nachweis . . . . .	21
3.1.2	Mikrowellenunterstützte saure Hydrolyse von Cellulose . . . . .	24
3.1.3	Enzymatische Hydrolyse von Cellulose . . . . .	30
3.1.4	Extraktion von Filter- oder Impaktorproben . . . . .	36
3.2	Elektrischer Niederdruckimpaktor (ELPI) . . . . .	38
3.3	Befeuchtung des Aerosolstroms . . . . .	40
3.4	Partikelverluste in einem Thermodenuder . . . . .	41
3.5	Filtersammler . . . . .	42
3.6	Atmosphärische Probenahme . . . . .	43
3.6.1	Städtische Proben (München) . . . . .	43
3.6.2	Ländliche Proben (Hohenpeißenberg) . . . . .	44
3.6.3	Alpine Proben (Zugspitze) . . . . .	44
3.7	Modell-Aerosolproben . . . . .	45
3.7.1	Natriumchlorid . . . . .	45
3.7.2	Ruß . . . . .	45

---

3.7.3	Meersalz . . . . .	46
<b>4</b>	<b>Ergebnisse der Cellulose und Glucose-Analytik</b>	<b>48</b>
4.1	Bewertung der analytischen Methoden . . . . .	48
4.1.1	Zeitverlauf der enzymatischen Glucose-Nachweisreaktion . . . . .	48
4.1.2	Varianten des enzymatischen Glucose-Nachweises . . . . .	48
4.1.3	Chromatographische Trennungen . . . . .	50
4.1.4	Aufreinigung von Enzymen . . . . .	55
4.2	Methodenentwicklung zur enzymatischen Cellulosehydrolyse . . . . .	58
4.3	Methodenentwicklung zur chemischen Cellulosehydrolyse . . . . .	73
4.4	Zusammenfassung der Anwendung der enzymatischen Hydrolyse von Cellulose auf Realproben . . . . .	82
<b>5</b>	<b>Ergebnisse der physikalischen und chemischen Aerosolcharakterisierung</b>	<b>90</b>
5.1	Vergleich von ELPI und SMPS bei Laborversuchen . . . . .	90
5.2	Urbane Aerosole (München) . . . . .	93
5.3	Ländlich beeinflusste Aerosole (Hohenpeißenberg) . . . . .	98
5.4	Alpine Aerosole (Zugspitze) . . . . .	105
5.5	Gravimetrie versus Elektrometrie . . . . .	111
5.6	Partikelverluste in einem Thermodenuder . . . . .	113
<b>6</b>	<b>Besondere Anwendungen der Aerosolmesstechnik</b>	<b>115</b>
6.1	Aufnahme von Filterkennlinien . . . . .	115
6.2	Messungen von Meerwasseraerosol . . . . .	117
6.3	Staub-Emissionsmessung in einem Schwellenwerk der Bahn . . . . .	124
<b>7</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>127</b>
<b>8</b>	<b>Anhang</b>	<b>131</b>
8.1	Atmosphärische Filterproben . . . . .	131
8.2	Messdaten und -kampagnen Outdoor Air ELPI . . . . .	133
8.3	ELPI-Feldmessdaten Zugspitze November 2002 . . . . .	134
8.4	Initialisierungsparameter Outdoor-ELPI . . . . .	138
8.5	Aerosol-Befeuchterkammer . . . . .	142
8.6	REM-Bilder aus Staubbmessung auf der Zugspitze . . . . .	143
8.7	Programmdateien für BioLC . . . . .	145
8.8	Aufbau der ELPI-Messung am Meerwasser-Simulations-Reaktor . . . . .	148
8.9	Meersalz-Inhaltsstoffe . . . . .	149
8.10	Geräte und Chemikalien . . . . .	151
8.10.1	Geräte . . . . .	151
8.10.2	Chemikalien . . . . .	152



## Abkürzungsverzeichnis

CPC	condensation particle counter, Kondensationspartikelzähler
DMA	differential mobility analyzer, differentieller Mobilitätsanalysator
DMPS	differential mobility particle sizer
EC	elemental carbon, elementarer Kohlenstoff
ELPI	electrical low pressure impactor, elektrischer Niederdruck- impaktor, hier in der Regel die Outdoor Air Version
FBW	Filter-Blindwert, Substrat-Blindwert
GAW	global atmosphere watch
ID	inner diameter, innerer Durchmesser
lpm	Liter pro Minute
MOHp	Meteorologisches Observatorium Hohenpeißenberg
NWG	Nachweisgrenze
OC	organic carbon,organischer Kohlenstoff
OD	outer diameter, äußerer Durchmesser
PM	particulate matter
PM2.5	particulate matter, Partikeldurchmesser $<2.5 \mu\text{m}$
RBW	Realfilter-Blindwerte
SMPS	scanning mobility particle sizer
TC	total carbon, Gesamtkohlenstoff
UFS	Umweltforschungsstation Schneefernerhaus auf der Zugspitze
WBW	Wasserblindwert, Reagenzienblindwert

# 1 Einleitung

Die globale Wirtschaft des 20. und 21. Jahrhunderts ist durch ein phänomenales Wachstum und eine ständige Verbesserung der Lebensqualität in den Industrienationen gekennzeichnet. Dieser hohe Lebensstandard hat allerdings auch seinen Preis. Der globale Verbrauch natürlicher Ressourcen, wie Wasser und Wälder, sowie die zunehmende Belastung der Umwelt, zum Beispiel durch Fischerei, Überweidung und Schadstoffausstoß, sind die Folge. Der Einsatz fossiler Energien hat seit Beginn des Industriezeitalters zu einem Anstieg der Kohlendioxid-Konzentration in der Atmosphäre geführt.  $\text{CO}_2$  zählt neben Wasserdampf und Methan zu den wichtigsten klimarelevanten Spurengasen, die den Wärmehaushalt der Erdatmosphäre beeinflussen. Eine weitere wichtige Komponente der anthropogenen Klimabeeinflussung stellen neben den Treibhausgasen auch Aerosolpartikel dar. Aerosole streuen und absorbieren die Sonneneinstrahlung und können daher eine abkühlende Wirkung haben. Andererseits dienen sie auch als Kondensationskeime und beeinflussen die physikalischen und optischen Eigenschaften von Wasser- und Eiswolken, die somit auch zu einer Erwärmung der Erdoberfläche führen können. Die Abschätzung dieser Aerosoleffekte auf unser Klima bildet eine der zentralen Fragestellungen in der aktuellen Klimaforschung. Darüber hinaus stellen Aerosolpartikel in verschmutzter Luft, insbesondere die feine und ultrafeine lungengängige Partikelfraktion, ein hohes Risikopotential für die menschliche Gesundheit dar.

Die Emissionen von Aerosolpartikeln in die Atmosphäre sind nicht nur anthropogener Natur, also durch die Verbrennung (Heizung, Motoren) zur Energiegewinnung bestimmt, sondern auch natürlichen Ursprungs. Bodenerosion, Vulkane, Waldbrände, Photooxidation und Meeresbewegungen führen zu einer vielfältigen, regional unterschiedlichen und sich ständig ändernden chemischen Zusammensetzung des atmosphärischen Aerosols und damit auch der physikalischen Aerosoleigenschaften.

In Folge dessen sind Angaben in der Literatur über die Zusammensetzung des atmosphärischen Aerosols verschiedensten Variationen unterworfen. Vor allem der Anteil organischer kohlenstoffhaltiger Verbindungen ist nicht in der Summe aller Einzelverbindungen fassbar. Jede Analyse einzelner Verbindungen oder Verbindungsklassen führt zur Ergänzung des Gesamtbildes.

Nach dem Erscheinen einer einzelnen neueren Arbeit aus Wien (Kunit und Puxbaum 1996), die Cellulose-Konzentrationen im atmosphärischen Aerosol bis zu fast 2% Masseanteil erklärte, sollte ein Ziel in dieser Arbeit sein, diese Analysen nachzuvollziehen, auf neu erworbene Analyseinstrumente anzupassen und den Cellulosegehalt im troposphäri-

schen Aerosol im süddeutschen Raum zu analysieren.

Entsprechend den vielfältigen Aerosoleigenschaften gibt es auch eine große Auswahl an Messtechniken zur Erfassung und Charakterisierung des Aerosols. Hierzu wurde zu den Instrumenten des Instituts für Wasserchemie und Chemische Balneologie ein elektrischer Niederdruckimpaktor zur Größenklassierung und online-Messung von Aerosolpartikeln in Betrieb genommen. Da es von diesem Instrument bis jetzt nur wenige Einheiten gibt, war es ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit die Einsatzfähigkeit und Betriebsbedingungen des Niederdruckimpaktors zu charakterisieren und Vergleiche mit Standardmesstechniken durchzuführen.



## 2 Allgemeiner Teil

### 2.1 Atmosphärische Aerosole und ihre Bestandteile

Die Zusammensetzung des troposphärischen Aerosols ist durch anthropogene und natürliche Emissionen sowie durch photochemische Reaktionen atmosphärischer Spurengase bestimmt. Die tatsächliche regionalen Zusammensetzung ist zeitlich und örtlich hoch variabel und wird durch die makroskopischen Bedingungen sowie die lokalen Gegebenheiten dominiert.

So findet man in Küstennähe einen hohen Gehalt an Salzen, die aus den Meeren freigesetzt werden. In urbanen Gegenden herrscht dagegen der anthropogene Einfluss vor. Daher ist hier der Anteil an Verbrennungsprodukten, wie z.B. Ruß, höher als in Küstennähe. Ländliche Gebiete mit starken Anteilen an Wäldern, Wiesen und Landwirtschaft zeigen, wie die urbanen Gegenden, einen hohen Anteil sehr feiner Partikel, allerdings mit anderer chemischer Zusammensetzung. Von Bäumen emittierte Isoprene und Derivate können unter Sonneneinstrahlung durch photochemische Reaktionen Cluster und Nanopartikel formen. Abrieb und Aufwirbelung von Pflanzenbestandteilen führen zu einem hohen Anteil an organischen Komponenten bestehend aus Kohlenhydraten, Huminstoffen und Proteinen. In höher gelegenen Berg-Regionen, wie zum Beispiel der Zugspitze (Deutschland) oder dem Jungfrauoch (Schweiz), findet sich vor allem gealtertes Aerosol mit einem geringen Anteil ultrafeiner Partikel. Durch lange Transportwege findet eine Alterung der Aerosole und Ausbildung eines Akkumulationsmodus statt.

So variieren also nicht nur die chemische Zusammensetzung des Aerosols, sondern auch die physikalischen Eigenschaften, wie z.B. die Größenverteilung und Oberflächenreaktivität.

Den Studien der chemischen Zusammensetzung des troposphärischen Aerosols (Putaud et al., 2004; van Dingenen et al., 2004; Raes et al., 2000; Meszaros et al., 1997) ist zu entnehmen, dass der organische Anteil im Aerosol bis zu 40% beträgt, und damit eine wesentliche Fraktion einnimmt. Die organischen Komponenten sind unter anderem Carbonsäuren und Dicarbonsäuren, Proteine, DNA-Bausteine und Fragmente und Kohlenhydrate. Verschiedene Analysemethoden führen in der Literatur zu konsistenten Ergebnissen. Dabei kommen Gaschromatographie, Flüssigkeitschromatographie und Massenspektrometrie sowie Kombinationen zum Einsatz. Auch spektroskopische Methodik wie zum Beispiel UV/Vis-, IR- und FTIR-Spektroskopie sowie Kernspinresonanz ( $^1\text{H}$ -

NMR) werden angewendet (Havers et al., 1998). Die Aerosolproben werden auf unterschiedliche Weise zur Analyse gesammelt und vorbereitet. Standardgemäß hat sich die Untersuchung von Filterproben etabliert. Die Vorteile liegen in der Transportierbarkeit der Proben zwischen Sammelstelle und Labor und der freien Wählbarkeit der Sammelsubstrate und -intervalle. Letztere sind jedoch durch die Nachweisgrenzen der Verfahren und erzielbare Zeitauflösung nur eingeschränkt wählbar. Die Proben können durch Spül- und Extraktionsschritte aufgearbeitet werden, um störende Matrixkomponenten zu entfernen. Besondere Techniken zur Kopplung der Analyse mit der Beprobungseinheit wurden entwickelt: Gaschromatographen (GC) mit Thermodesorption zur direkten Verdampfung flüchtiger und semivolatiler Substanzen von Filtern (Veltkamp et al., 1996), Flüssigkeitschromatographie, zum Beispiel Ionenaustauschchromatographie (HPAEC) nach Dampfschubbern und Massenspektrometer (MS) mit Laserdesorption zur direkten Aerosolkomponentenanalyse. Die genannten Techniken arbeiten ohne chemische Derivatisierung von zu analysierenden Stoffen und ermöglichen so eine schnell ablaufende online-Erfassung.

## **2.2 Vorkommen und Freisetzung von Kohlenhydraten**

Einzelverbindungen aus Abbauprodukten (Tracer) wurden für die Zuordnung von Emissionsquellen verwendet, so zum Beispiel Levoglucosan als Tracer für Biomasseverbrennung (Simoneit, 1999). Als Hauptbestandteil von Pflanzen spielt Cellulose eine wichtige Rolle. Daher wird vermutet, dass Cellulose im troposphärischen Aerosol auch direkt nachgewiesen werden kann. Dies zeigen auch neuere Studien einer Arbeitsgruppe der Technischen Universität Wien (Kunit & Puxbaum, 1996; Puxbaum & Kunit, 2003). Aber nicht nur Cellulose, auch Stärke und deren Bestandteile können aus pflanzlichem Material freigesetzt werden. Zu den polymeren, langkettigen Zuckern kommen eine Vielzahl mono- und dimerer Kohlenhydrate, wie z.B. Glucose, Fructose, Trehalose. Auch Verbrennungsprodukte wie das zyklische Levoglucosan sind zu erwarten. Letzteres konnte bereits mit gaschromatographischen Methoden (Simoneit, 1999) im Aerosol nachgewiesen werden.

## **2.3 Nachweis von Kohlenhydraten**

Die Anwendungen zum Nachweis von Kohlenhydraten sind vielfältig. Sie dienen unter anderem der Produktkontrolle, zum Beispiel von Saft oder Wein, oder um (unerlaubte) Zumischungen zum Produkt aufzuspüren. Auch die Analyse von Spuren verschiedener Zucker in Blut- oder Urinproben zur medizinischen Kontrolle, der Umweltanalytik in Gewässern oder von Filterproben der Luft sind von Bedeutung. Einen breitgefächerten Überblick über Saccharidnachweis in glykosidischen Proteinen mit Vergleichen verschie-

dener Techniken und Laboratorien gibt die Studie von Townsend et al. (1997).

Der Nachweis polymerer Kohlenhydrate ist direkt kaum möglich. Kohlenhydrate sind zum Beispiel durch optische Methoden nicht direkt aus einer Matrix heraus quantifizierbar. Es ist daher gängige Methode, polymere Komponenten zuerst zu den monomeren Bestandteilen zu hydrolysieren, um diese dann durch spezielle Verfahren von der Matrix abzutrennen und nachzuweisen.

Eine Ausnahme beim direkten Nachweis von Polymeren bildet die Kernspinresonanzspektroskopie (NMR). Mit dieser Technik konnte zum Beispiel die Hydrolyse und Gelatinisierung von Stärke-Granulaten direkt beobachtet werden (Tang et al., 2001). Stärke wurde unter anderem in deuteriertem Wasser unter verschiedenen Temperaturen beobachtet. Drei Hauptrelaxationszeitkomponenten ließen Rückschlüsse über verschiedene Regionen der kettenförmigen Stärkekomponenten zu. Auch die Beobachtung der Relaxationszeiten unter dem Einfluss von Säure gaben Einblicke in die Hydrolysevorgänge.

Für die Hydrolyse bieten sich chemische Verfahren unter Verwendung nichtoxidierender Säuren an. Auch Enzyme können, wie für die Proteinanalytik bekannt, auf Kohlenhydrate angewendet werden (Tewari & Goldberg, 1989). Diese haben den Vorteil spezifisch mit den Zielsubstanzen zu reagieren. Dadurch eröffnet sich auch die Möglichkeit, verschiedene oligomere Zucker aus einer Probe voneinander unabhängig zu analysieren. Für Cellulose bieten sich die natürlichen Enzyme des Pilzes *Trichoderma reesei* an. Dieser produziert vier Enzyme des Typs Endoglucanasen und zwei Cellobiohydrolasen (Divne et al., 1998). Das Polymer wird durch diese Enzyme entweder in der Kettenmitte angegriffen, oder vom Kettenende her abgebaut. Dieser Mechanismus ist mittlerweile aufgeklärt und zum Beispiel durch Kristallaufnahmen der Reaktionszentren der Enzyme dokumentiert (Divne et al., 1998; Kleywegt et al., 1997).

Die Trennung von Zuckermonomer-Gemischen erfolgt wie bei den meisten Multikomponenten-Analysen mit chromatographischen Methoden. Bei der Anwendung der Gaschromatographie müssen die Substanzen zuerst, z.B. mittels Silanolisierung, in ihrer Flüchtigkeit verbessert werden (Villamiel et al., 1998; Streeter & Strimbu, 1998). Die Derivatisierung der freien Hydroxylgruppen zu Silanolgruppen erfolgt unter anderem mit Trichlormethylsilan in Pyridin, oft mit Zusätzen wie zum Beispiel Trimethylsilylimidazol. Zur Identifizierung und Quantifizierung der Derivate nach der Auftrennung im Gaschromatograph (GC) kann Atomemissionsspektroskopie (AED), detektieren des Silizium-Atoms, oder Massenspektrometrie, unter Verwendung eines internen Standards, zum Beispiel Phenyl- $\beta$ -Glucosid, benutzt werden.

In der Flüssigchromatographie (LC) mit Standardsäulen ist eine Trennung von neutralen Mono- und Oligosacchariden möglich, kann aber bei Isomeren der Verbindungen scheitern (Peelen et al., 1991). Ein andere LC-Technik verwendet Trennsäulen aus porösem Graphit (Davis et al., 1993; Koizumi et al., 1991) komplementär zur RP-HPLC (Umkehrphasen Hochleistungsflüssigchromatographie). Als Laufmittel wird dabei entsprechend Acetonitril-Wasser-Gemisch verwendet. Mit Anionenaustauschchromato-

graphie (HPAEC) ist eine Auftrennung der Komponenten aufgrund der verschiedenen Säurekonstanten-Werte der Kohlenhydrate in wässriger Lösung möglich. Eine Derivatisierung der Analyten ist dann nur je nach gewählter Detektionsmethode nötig, z.B. für Fluoreszenz oder UV-Absorption. Dies kann bei der Probenvorbereitung vor der Analyse durchgeführt werden, oder unter Verwendung einer „post column reaction“, bei der die Analyten nach der Trennsäule in einem anschließenden Reaktor derivatisiert werden (Peelen et al., 1991). Mit elektrochemischen Detektoren (Neuburger & Johnson, 1987; Dionex, 1993; Mopper et al., 1992) können monomere Kohlenhydrate über das Oxidationspotential underivatisiert bestimmt werden. Die Quantifizierung erfolgt über Kalibrierung des LC-Detektor-Systems mit Konzentrationsreihen.

Für einige Kohlenhydrate gibt es kommerzialisierte Testverfahren zur quantitativen Bestimmung, zum Beispiel von Boehringer-Mannheim (1997). Für die enzymatische/photometrische Bestimmung von D-Glucose wird beispielsweise folgendes Verfahren verwendet. D-Glucose wird durch das Enzym Hexokinase (HK) und Adenosin-5'-triphosphat (ATP) zu D-Glucose-6-phosphat (G-6-P) unter gleichzeitiger Bildung von Adenosin-5'-diphosphat (ADP) phosphoryliert. In Gegenwart des Enzyms Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G6P-DH) wird G-6-P von Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADP) zu D-Gluconat-6-phosphat oxidiert. Es entsteht reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADPH). NADPH ist Messgröße und wird aufgrund seiner Absorption bei 334, 340 oder 365 nm im Photometer bestimmt. Die Durchführung der Analyse kann direkt in der verwendeten Küvette geschehen. Eine Kalibrierung der Tests mit D-Glucose-Standardlösungen ist nötig.

Naturgemäß enthalten Realproben nicht nur den oder die Analyten, sondern eine meist unbekannt Anzahl von Matrixsubstanzen. Um die Kohlenhydrate einer solchen extrahierten oder gelösten Probe anzureichern, können zum Beispiel Anreicherungsäulen mit Füllmaterial auf Borsäurebasis spezifisch für Zucker eingesetzt werden (Biorad Bulletin 1066). Das Prinzip beruht darauf, dass die Anordnung der terminalen Gruppen im Borsäuregerüst besonders gut mit den Hydroxidgruppen der Zuckermoleküle wechselwirken soll. Unter Anwesenheit von Hydroxid entsteht vermutlich unter Anlagerung des Zuckermoleküls ein Fünfring an der Borgruppe (Abbildung 2.1). Das Aufbringen der Analyt-Lösung mit den Matrixkomponenten auf das Gel erfolgt mit einem pH-Wert über 7.5. Mit einer leicht sauren Spüllösung (pH < 6.5) werden die Analyten von der Säule wieder ausgespült und getrennt von der Lösungen mit den Matrixbestandteilen aufgefangen.

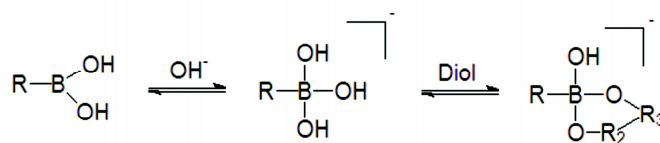


Abbildung 2.1: Affinitätsgel für Kohlenhydrate. Vorgeschlagene Reaktion des Gels mit terminalen Borgruppen mit einem Zuckermolekül (hier: Diol). Abbildung in Anlehnung an BioRad Bulletin 1066.

## 2.4 Anionenaustauschchromatographie zur Trennung von Monomeren und Oligomeren

Die Anionenaustauschchromatographie zur Zuckeranalytik wurde bereits unter anderem eingesetzt für Proben aus Wein (del Alamo et al., 2000), Saft, Honig (Val et al., 1998), medizinisch relevanten Proben (Urin, Hydroxyethylstärke) (Peelen et al., 1991; Mirmira et al., 1993) und Herstellungsprozessen wie Ozonbleiche von Papier (Nifterik et al., 1993).

In der Anionenaustauschchromatographie werden gepackte analytische oder präparative Säulen mit freien Ammoniumgruppen am Säulenmaterial verwendet (Dionex, 1993; Lee, 1990; Townsend et al., 1988). Als Laufmittel werden Wasser, Natronlauge und Ammoniumacetat isokratisch oder als Gradientenmischungen angewendet. Im sogenannten BioLC System von Dionex (Idstein, Deutschland) werden die Analyten underivatisiert analysiert. Eine spezielle Vorsäule, AminoTrap genannt, hält Aminosäuren, deren Detektorsignale die der Zucker stören können, zurück. Im Spülschritt am Ende eines Laufes wird die Säule und die Vorsäule mit Ammoniumacetat gereinigt. Als Detektor wird ein im ein Hertztakt gepulstes Spannungssignal an einer Goldelektrode verwendet. Die Spannung wird gegenüber einer pH-Referenzelektrode eingestellt und kann drei oder vier Stufen umfassen. Der dreistufige Potentialverlauf ist in der Abbildung 2.2 dargestellt. Im ersten Schritt wird ein Potential von 0.05 Volt (V) angelegt. Nach einer kurzen Verzögerungszeit zur Äquilibrierung der Elektrode wird der Strom, der durch die Oxidation von Analyten bei diesem Potential an der Goldoberfläche entsteht, gemessen und zeitlich integriert. Im zweiten Schritt wird die Oberfläche der Goldelektrode oxidiert, so dass angelagerte Oxidationsprodukte desorbiert werden. Die dritte Potentialstufe dient zur Regeneration der Elektrodenoberfläche. Zur Identifizierung von Mono- und Dimeren anhand der Retentionszeit muss das System mit Kohlenhydratstandardlösungen kalibriert werden. Die Quantifizierung erfolgt über die Kalibrierung mit Konzentrationsreihen und Standardadditionen zu den Proben. Der elektrochemische Detektor benötigt eine Mindestleitfähigkeit der Lösung, die durch eine Mindestkonzentration von Natronlauge im Laufmittel eingestellt wird.

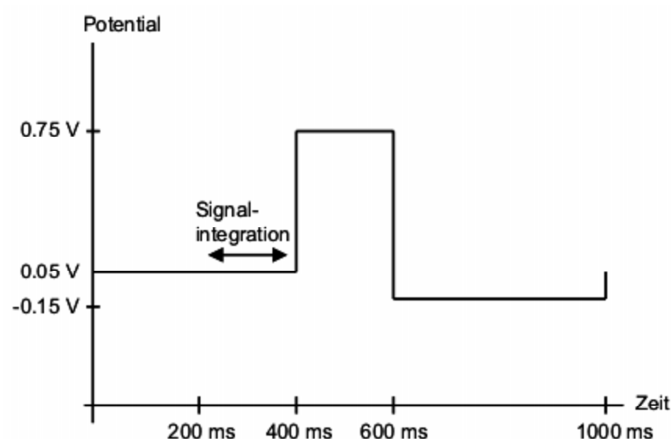


Abbildung 2.2: Das dreistufige Standardpotential, mit dem Kohlenhydrate im BioLC-System unter Verwendung eines elektrochemischen Detektors erfasst werden. Abbildung in Anlehnung an Dionex, 1993.

## 2.5 Mikrowellenunterstützte saure Hydrolysereaktionen

Verschiedene Methoden wurden entwickelt, um Cellulose zu Glucose zu hydrolysieren. Mehrheitlich wurden zu diesem Zweck Hydrolyseenzyme oder Schwefelsäure in verschiedenen Konzentrationen eingesetzt. Nicht nur in der Vergangenheit waren Enzyme eine kostenintensive Komponente chemischer Reaktionen. Säuren sind wesentlich kostengünstiger. Der Nachteil von Schwefelsäure sind die Folgereaktionen bei den Reaktionstemperaturen, die zum Abbau der Glucose zu Produkten wie Ameisensäure (Mosier et al., 2002) führen. Dadurch wird die Ausbeute an Glucose durch Cellulosehydrolyse verringert. Es wurden andere Mineralsäuren (Shibazaki et al., 1995) bei veränderten Reaktionsbedingungen, zum Beispiel höhere Säurekonzentration, niedrigere Reaktionstemperatur, getestet. Bei Experimenten, bei denen organische Säuren, wie Essigsäure, verwendet wurde, konnte der Abbau der Glucose verringert werden (Mosier et al., 2001). Organische Säuren haben einen höheren  $pK_a$ -Wert und damit einen höheren pH-Wert in wässriger Lösung als mineralische Säuren. Dadurch sind sie zwar weniger geeignet die starke Cellulose-Bindung zu trennen, das erhaltene Produkt bleibt aber im wesentlichen erhalten. Mosier et al. experimentierten mit Essigsäure, Maleinsäure, Bernsteinsäure und Zitronensäure und verglichen die Hydrolyseraten mit denen von Schwefelsäure und Wasser. Dabei benutzten sie kleine Stahlgefäße in einem Reaktorbett mit sehr kurzen Aufheizzeiten (kleiner 2 Minuten). Dabei ist allerdings zu beachten, dass Maleinsäure sich ab  $130^{\circ}\text{C}$  zersetzt. Dies wurde bei den in der Literatur beschriebenen Versuchen nicht diskutiert.

Eine sehr schnelle Temperaturerhöhung kann man kontrolliert auch in Mikrowellenöfen erzeugen (Yu et al., 1996; Li et al., 2001). Die Mikrowellen erzeugen über dipolare Wech-

Tabelle 2.1: Tabelle der  $pK_a$ -Werte von Säuren aus Mosier et al., 2002.

Säure	$pK_a$		
	1	2	3
Wasser	7		
Schwefelsäure	-3	2	
Essigsäure	4.7		
Maleinsäure	1.9	4.4	
Bersteinsäure	4.2	5.6	
Zitronensäure	3.1	4.8	6.4

selwirkung eine schnelle Änderung der Energie der Moleküle. Dabei wird nicht wie bei der konventionellen Erwärmung eine Fläche des Reaktors erwärmt. Stattdessen wird das gesamte Reaktorvolumen gleichmäßig erhitzt. Die Wärme muss nicht erst durch Konvektion über das Volumen verteilt werden. Li et al. beschäftigten sich mit dem Einfluss von anorganischen Salzen bei der mikrowellenunterstützten sauren Hydrolyse von Stärke.

## 2.6 Sammeln von Aerosolproben

Bei der Probenahme von Aerosolproben sind folgende allgemeingültige Punkte zu beachten. Der Transportweg des Aerosolstroms von der Ansaugstelle bis zum Sammel- bzw. Messgerät muss so kurz wie möglich gehalten werden, um Verluste von Partikeln durch Abscheidungen in den Zuleitungen zu vermeiden. Die Partikelverluste in den Zuleitungen sind im wesentlichen abhängig von der Durchflussgeschwindigkeit und der Länge der Zuleitung (Hinds, 1999).

Bei Filtersammlern müssen eventuell vorgeschaltete Impaktoreinheiten gefettet sein, um sicherzustellen, dass Partikel größer als der Abscheidewert auch auf der Prallplatte zurückgehalten werden. Temperierte Probeneinlässe können zu Verlusten bei volatilen Aerosolkomponenten führen. Vorimpaktorköpfe sollten im Winter nur so beheizt werden, dass ein Einfrieren von Kondenswasser verhindert wird. Bei vorgeschalteten Impaktionseinheiten muss der Durchfluss auf die Bedingungen, wie veränderter Luftdruck je nach Höhenlage der Probenahmestelle, umgerechnet werden, sonst verändert sich der Abscheidewert (cut-off, D50%) des Impaktors. Als Filtermedien werden in der Regel Poren- oder Faserfilter aus chemisch inerten Material verwendet. Faserfilter haben dabei ein breiteres Spektrum an abgeschiedenen Partikelgrößen, sowie eine höhere Aufnahmekapazität als Porenfilter, da Poren leicht durch größere Partikel blockiert werden. Wird die Massenbeladung des Filters erreicht, steigt der Gegendruck. Die Probenahme muss dann beendet werden. Das Filtermaterial wird nach dem gesammelten Aerosol und der darauffolgen-

den Analyse ausgewählt. Mit Quarzfaserfiltern ist eine gravimetrische Bestimmung der Beladung gut durchführbar. Auch eine thermochemische Analyse des gesammelten Materials kann durch Verbrennung der belegten Glasfaserfilter erfolgen, da das Material nur einen sehr geringen Blindwert erzeugt. Soll die Probe, zum Beispiel in einem Argonplasma, verascht werden, um anschließend eine Bestimmung der Metalle durchzuführen, sind Polycarbonatfilter, die bei dieser Probenvorbereitung restlos verbrannt werden, vorzuziehen. Für das Sammeln von Bakterien aus der Luft und aus Lösungen gibt es weitere Entwicklungen wie spezielle Membranfilter (Nucleopore, Millipore). Bei der Luftprobenahme ist auf ein mögliches Abblasen von volatilen und semivolatilen Substanzen vom Filter durch den Luftstrom zu achten. Um solche Komponenten nach einem Filter aufzufangen gibt es Ansätze, bei denen Kartuschen aus Polyurethanschaum (PU) nach dem Filter plaziert werden. Eines der Probleme, die dabei auftreten ist die anschließende Extraktion der Substanzen aus dem PU-Material und der oft erhöhte Blindwert dieser Analysen.

Für die Probenahme mit einem Kaskadenimpaktor zur chemischen Analyse ist eine Befeuchtung des Aerosolstroms notwendig. Dabei sollte die relative Feuchte zwischen 60 - 80 % liegen (Kaminski, 2001). In diesem Bereich konnte mit dem verwendeten ELPI (siehe dort) ein Bounce-Off, d.h. der Durchtritt von größeren Partikeln von größeren zu kleineren Größenklassen, verhindert und ein Erzeugen von Wassertropfen im Aerosolstrom vermieden werden. Ist eine chemische Analyse der gesammelten Aerosole nicht nötig, können die im Kaskadenimpaktor vorhandenen Prallplatten auch mit einem dünnen Fettfilm bestrichen werden. Je nach Anforderung an die Analytik gibt es auch besondere Fette, wie Apiezon L, mit dem die Analyse anorganischer Anionen im Aerosol auch bei gefetteten Impaktorsubstraten möglich ist. In jedem Fall ist bei der Probenahme mit Kaskadenimpaktoren ein Bounce-Off zu verhindern.

## 2.7 Messen von Partikelgrößenverteilungen

Mit der Bestimmung der Aerosolpartikelgrößen im Submikrometer-Bereich wurde bereits vor über 30 Jahren begonnen. Grundlage für die auch heute noch verwendeten Techniken sind die Impaktion in Kaskadenimpaktoren, die optische Streuung von Partikeln, die Messung der elektrophoretischen Mobilität und die Flugzeitmessung.

Als aktuelle Impaktorsysteme seien der Andersson-Impaktor, der Berner-Impaktor und der Elektrische Niederdruckimpaktor genannt. Ein Partikelstrom wird über eine Pumpe angesaugt und mit definierter Geschwindigkeit durch eine Wechselanordnung von Düsen und Impaktionsplatten geleitet. Der Abstand der Düsen- zur Impaktorplatte sowie der Düsendurchmesser, der Volumenstrom und die serielle Anordnung bestimmen, welche Partikelgrößen auf den Prallplatten abgeschieden werden. Dabei folgen kleinere Partikel leichter dem Probenahmestrom, der an der Prallplatte vorbeifließt, als größere und schwerere Partikel. Letztere kontaktieren die Prallplatten und bleiben daran haften.



Somit werden die größeren Aerosole zuerst aus dem Probenahmestrom entfernt. Auf den nachfolgenden Prallplatten scheiden sich dann Partikel mit kleineren Partikelgrößen ab. Die Abscheidung erfolgt nach dem aerodynamische Durchmesser der Partikel oder Tröpfchen. Die Quantifizierung wird gravimetrisch durchgeführt. Die gesammelten Proben stehen anschließend für eine chemische Analyse zur Verfügung. Eine besondere Variante ist der MOUDI-Impaktor (MSP, Minneapolis, USA). Durch kontinuierliche Drehung der Impaktionsplatten wird eine größere Massenbelegung erzielt. Partikel werden dabei nicht punktuell im Muster der Düsenanordnung abgeschieden. Somit kommt es nicht so schnell zu Anhäufungen von Partikelkegeln, die die Aerodynamik und Abscheideeffizienz im Betrieb verändern. Ein besonderes Phänomen, das bei jedem Impaktor berücksichtigt werden muss, ist der bereits beschriebene „bounce-off“, also das Abspringen trockener Partikel von den Prallplatten nach der Impaktion.

Die Messung der Mobilität im elektrischen Feld ermöglicht eine wesentlich verbesserte Auflösung der Submikrometer großen Aerosole. In einem schnellen Strom von laminarer Schleierluft wird in einem zylindrischen oder radial konstruierten Metallkanal ein wesentlich kleinerer Aerosolstrom eingebracht. Zwischen einer inneren und einer äußeren Elektrode liegt eine variable Spannung an. Geladene Partikel oder Tröpfchen werden durch die eingestellten Spannungswerte zu einer der Elektroden abgelenkt. Die Flugbahn der Aerosole wird durch die Querkraft der laminaren Strömung, die Ladung und das Potential bestimmt. Zusammen mit der Geometrie des Flugkanals und der Ladungsverteilung auf den Aerosolen wird der Elektromobilitätsdurchmesser einer Fraktion von Aerosolen, die aus dem Probenahmestrom abgelenkt werden, bestimmt. Ein Detektor erfasst anschließend die Anzahl der Partikel/Tröpfchen in diesem monodispersen Strom. Ein wichtiger Bestandteil des Systems ist eine im Probenahmestrom vorgeschaltete Einheit, die eine definierte Ladungsverteilung der zu messenden Aerosole erzeugt. Dies kann durch radioaktive Quellen, wie Krypton-85, oder unipolare elektrische Aufladeeinheiten bewerkstelligt werden. Die Ladungsverteilung ist größenabhängig und kann in freien luftgetragenen Ionen nach Fuchs (1963) und Wiedensohler et al. (1986) beschrieben werden. Die Messung des elektrischen Mobilitätsdurchmessers kann auch für ultrafeine Aerosole sehr genau erfolgen. Sie ist bei Aerosolen über  $1 \mu\text{m}$  aufgrund der Trägheit dieser Größen limitiert. Bei Aerosolen, die kleiner als  $100 \text{ nm}$  sind, können bei zu geringen Flussraten Verluste durch diffusive Abscheidung auftreten. Eine weitere Einschränkung der messbaren Untergrenze ergibt sich dann erst je nach Wahl des Detektors. Häufig werden Kondensationspartikelzähler oder Elektrometer eingesetzt. Eine gängige Mindestgröße für Aerosolmessungen dieser System liegt bei 2 bis 3 nm.

Für Partikel im supermikronen Bereich ist die Flugzeitmessung zwischen zwei Laserlichtschranken eine standardisierte Methode. Über eine Einlassdüsenkonstruktion werden die Aerosole aufgrund ihrer Masse unterschiedlich beschleunigt. Dies bewirkt eine zeitliche Auftrennung eines Aerosolpaketes. Dabei gibt es Techniken, die mit Überschall-Beschleunigung (z.B. Aerosizer, Amherst/TSI) oder Gas-Geschwindigkeiten unter der

Schallgeschwindigkeit arbeiten. Die Partikel durchfliegen anschließend zwei Lichtschranken. Das daraus erhaltene Signal wird durch geeignete Kalibrierung der Geräte mit einem aerodynamischen Durchmesser korreliert. Sind die beiden Lichtschranken zu weit voneinander positioniert, zum Beispiel über 100  $\mu\text{m}$  Abstand, kann ein schnelles Teilchen ein langsamerer innerhalb der Grenzen der beiden Lichtbündel überholen. Indem man die beiden Laserbündel leicht überlappt, erhält man ein Doppelsignal, das der Auswertesoftware anzeigt, ob nur ein Partikel oder mehrere erfaßt wurden. Durch diese Anordnung erhält man zum Flugzeitsignal (time of flight, TOF) auch eine Time-in-Beam (TIB) Information. TIB gibt an, wie lange sich das Partikel im Strahlenbündel aufhielt. Durch einen zusätzlichen Streulicht-Detektor im Mess-System kann noch eine weitere Information gewonnen werden. Die Streuung von Licht an einem Partikel ist nicht nur von dessen Größe, sondern auch von dessen Brechungsindex und damit der chemischen Zusammensetzung abhängig. Bei Aerosol-Massenspektrometern wird die Technik der Flugzeitmessung zur Partikelgrößenbestimmung auf Partikel im submikronen Größenbereich erweitert (Aerodyne, TSI). Dabei werden oft auch aerodynamische Linsen am Einlaß des Aerosolmassenspektrometers eingesetzt, um die feinen Partikelgrößen in den Partikelfluss zu fokussieren. Nach der Größenbestimmung werden die Partikel zum Beispiel mit einem Ionisationslaser angeregt und im Massenspektrometer analysiert (Kane et al., 2002).

Eine weitere Technik bedient sich der Streulichtmessung an Aerosolen, um deren Größe zu bestimmen. Dabei messen OPCs (optical particle counter) die Streulichtintensität von Partikeln beim Durchfliegen eines Laserstrahls. Die Streulichtverteilung ist abhängig vom Brechungsindex und dieser wiederum von der Partikelgröße. Dadurch sind aufwendige Rechnungen zur Signalauswertung erforderlich. Je nach umspanntem Größenbereich lässt die Funktion der Streulichtintensität in Abhängigkeit der Partikelgröße auch keine eindeutige Zuordnung zu (Mie-Streuung). Dies kann man vor allem durch Messen von bimodalen Größenverteilungen mit optischen Partikelzählern testen.

## 2.8 Bestimmung von Partikelverlusten in Messsystemen

Verluste in Leitungssystemen für Partikelströme können im wesentlichen durch Impaktion, Sedimentation und Diffusion verursacht werden. Desweiteren muss das System darauf getestet werden, ob volatile oder semivolatile Aerosole beim Durchgang durch die Leitungen und Analysegeräte verändert werden. Dies kann zum Beispiel bei angelegtem Unterdruck oder Temperaturschwankungen auftreten. Unterdruck oder Temperaturerhöhung können ein Abdampfen von Partikelkomponenten oder Flüssigkeiten bewirken. Dadurch wird ein kleinerer Partikeldurchmesser am Ende des Systems erfaßt, als die Partikel am Eingang ursprünglich haben. Abkühlung eines Aerosolstroms, zum Beispiel von heißem Abgas auf Raumtemperatur, kann durch Kondensation eine Vergrößerung der Teilchendurchmesser bewirken. Ebenso kann Nukleation auftreten, wodurch eine Nukleations-

mode gemessen wird, die der Aerosolquelle nicht entspricht.

Elektrische Auflader zur Herstellung einer definierten Ladungsverteilung in dem Aerosolstrom sollten auch auf die Nukleationsauslösung untersucht werden. In Aerosolströmen mit Schwefelsäure oder bestimmten organischen Komponenten, wie  $\alpha$ -Pinen, können unter Umständen Partikel aus der Gasphase generiert werden.

Da Partikelverluste durch Diffusion größenabhängig sind, ist die experimentelle Bestimmung durch mehrere monomodal selektierte Aerosolverteilungen nötig. Diese wird am Eingang und am Ausgang des zu testenden Systems gemessen. Die Ergebnisse werden zueinander ins Verhältnis gesetzt. Die daraus erhaltenen prozentualen Verluste erlauben die Korrektur der Messdaten, um auf das gemessene Quellaerosol zurückzuschließen.

## 2.9 Filterkennlinien

Luftpartikelfilter werden anhand ihrer Filtrationsleistung in verschiedene Filterklassen eingeteilt. Für Luftfilter gibt es beispielsweise die DIN-Norm 24185 und die EN 779. Die Einteilung erfolgt dabei nach dem mittleren Wirkungsgrad gegen atmosphärischen Staub ([http://www.mmb.de/Industrie/Kanal/100\\_01.html](http://www.mmb.de/Industrie/Kanal/100_01.html)). Einfach beschrieben gibt es die Klassen grob, fein, ultrafein, sowie Unterklassen. Für besondere Anforderungen gibt es weitere Klassen nach DIN EN 1822 wie HEPA-Filter (High Efficiency Particulate Arrest-Filter) und ULPA (Ultra-HEPA). Für diese Klassifizierung wird die Effizienz im Maximum des Filterlochs, dem sogenannten MPPS (most penetrating particle size), gemessen.

Filterkennlinien geben die Abscheideeffizienz des Filters in Abhängigkeit der Aerosolgröße an. Eine typische Filterkennlinie zeigt Abbildung 2.3. Der vorgestellte Filter zeigt gute Abscheideraten für ultrafeine Partikel. In diesem Bereich werden diese durch Diffusion abgeschieden. Ultrafeine Partikel bewegen sich ähnlich wie Gasmoleküle sehr schnell auch in Querrichtung zum Hauptgasstrom. Dadurch können sie auch beim Durchfliegen von Kanälen im Filtermaterial im Inneren eine Faser berühren und daran haften bleiben. Folgen die Partikel einer Strömungslinie ohne von dieser durch Eigenbewegung abzuweichen, können diese Partikel die Filterfaser berühren und an dieser haften bleiben, wenn die Strömungslinie im Abstand von einem Partikelradius an der Faser vorbeiführt. Dieser Vorgang wird Interzeption genannt. Für sehr große Partikel ist die Abscheideeffizienz ebenfalls sehr hoch. Hier treffen die Aerosole direkt auf die Oberfläche oder oberen Schichten des Filters und werden aufgrund ihrer Größe durch Impaktion abgeschieden. Im Größenbereich von 60 bis 160 nm zeigt sich das sogenannte Filterloch. In diesem Bereich sind die beiden Abscheidemechanismen Impaktion und Diffusion nicht vollständig anwendbar. Die Partikel sind zu klein, um direkt an der Oberfläche zu impaktieren, und zu groß, um innerhalb des Filters durch Diffusion das Filtermaterial zu berühren.

Zur Aufzeichnung einer Filterkennlinie wird der Filter mit einem Aerosol breiter Größenverteilung angeströmt. Auf der Anströmseite (upstream) und auf der Seite des

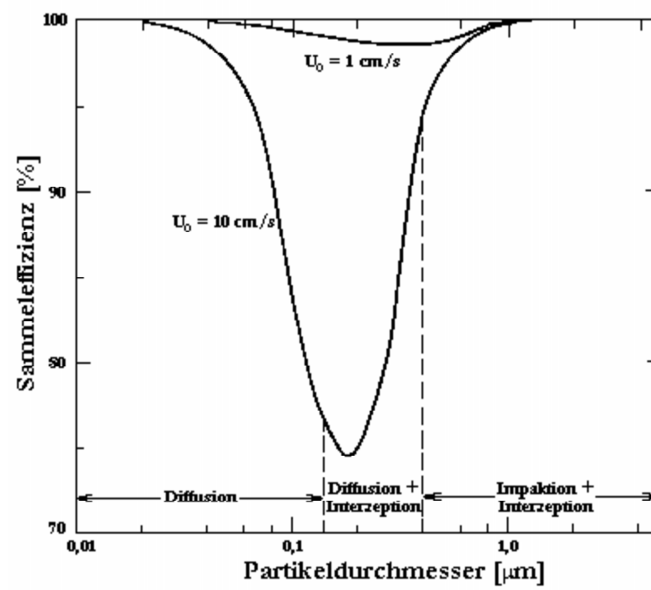


Abbildung 2.3: Eine typische Kurve zur Darstellung der partikelgrößenabhängigen Filtereffizienz (Hinds, 1999).

gefilterten Aerosolstroms (downstream) werden die Größenverteilungen aufgezeichnet. Auf der Abströmseite muss darauf geachtet werden, dass bei hoher Filterleistung die Zählstatistik zur Auswertung der aufgenommenen Daten ausreichend ist.

# 3 Experimenteller Teil

Allgemeine Anmerkung: Alle verwendeten Glasgefäße wurden nach dem Waschen mit 6 N Salzsäure mit deionisiertem Wasser gespült und im Trockenschrank über Nacht getrocknet.

## 3.1 Analytische Methoden

### 3.1.1 Glucose-Nachweis

#### Enzymatischer Nachweis nach Boehringer-Mannheim

Zur Bestimmung von D-Glucose in Probenlösungen wurde eine Test-Kombination von Boehringer Mannheim (Bezug von r-Biopharm, Best. Nr. 0 716 251) verwendet. Der Test basiert auf einer Phosphorylierung und anschließender Oxidation der Glucose mittels Enzymen. Die dabei entstehende Menge an NADPH ist der D-Glucose-Konzentration direkt proportional und kann anhand der Änderung der UV-Absorption bei 340 nm festgestellt werden. Im folgenden wird die Vorschrift, die dem UV-Test zugrunde liegt, zitiert.

D-Glucose wird durch das Enzym Hexokinase (HK) und Adenosin-5'-triphosphat (ATP) zu D-Glucose-6-phosphat (G-6-P) unter gleichzeitiger Bildung von Adenosin-5'-diphosphat (ADP) phosphoryliert. In Gegenwart des Enzyms Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G6P-DH) wird G-6-P von Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat (NADP) zu D-Gluconat-6-phosphat oxidiert. Es entsteht reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADPH). NADPH ist Messgröße und wird aufgrund seiner Absorption bei 334, 340 oder 365 nm bestimmt. Die Test-Kombination enthält ein Pulvergemisch aus Triethanolamin- Puffer (pH ca. 7.6), ca. 110 mg NADP, ca. 260 mg ATP und Magnesiumsulfat. Dies wird in 45 mL deionisiertem Wasser gelöst und im folgenden als Puffer-Lösung bezeichnet. Die Flaschen mit ca. 1.1 mL Enzymsuspension enthalten ca. 320 U Hexokinase und ca. 160 U Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase.

Die Original-Vorschrift für das Zusammenstellen der Lösungen in den Küvetten und die Auswertung der Messergebnisse lässt verschiedene Varianten zu. Aufgrund des zur Verfügung stehenden UV/VIS- Spektrometers und den zu erwartenden Probenvolumina und Probenkonzentrationen wurde nachfolgende Messvorschrift ausgewählt. Die Änderung der Inkubationszeiten ergab sich aus Beobachtung der Extinktionsänderung an Standard- und Realproben.

Die Proben werden bei 340 nm gegen Luft gemessen, d.h. das Spektrophotometer wird ohne Küvette im Strahlengang auf Null gestellt. Das Spektrophotometer wird auf 1.0 sec Mittelung je Messwert eingestellt. In die Küvetten wird jeweils 1.00 mL Pufferlösung pipettiert. Anschließend erfolgt die Zugabe von 2.00 mL Probelösung bzw. deionisiertem Wasser als Leerwert bzw. Glucoselösung als Standard. Nach Durchmischen der Lösungen in den Küvetten werden die Extinktionen E1 (je 3 Werte pro Küvette) aufgezeichnet. Durch Zugabe von 20  $\mu$ L der Enzymsuspension und Durchmischen wird die Reaktion gestartet und mindestens 5 min. bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend werden die Extinktionen E2 (je 3 Werte pro Küvette) der Lösungen aufgezeichnet. Die Messwerte werden als ASCII- Dateien exportiert und in einer Tabellenkalkulation ausgewertet. Die jeweils zusammengehörigen drei Werte von E1 bzw. E2 werden gemittelt. Die Differenzen von E2- und E1- Werten der Proben werden als  $\Delta E$  bezeichnet.

In Abweichung von der Original-Vorschrift wird der Analyt- Gehalt der Proben nicht nach vorgegebener Formel berechnet, sondern mit einer D-Glucose- Verdünnungsreihe im Konzentrationsbereich von 0.2 bis 40 mg/L kalibriert. Aus der Standardabweichung der Leerwerte und der Steigung der Kalibriergeraden kann dann bei genügender Anzahl von Messungen die Nachweisgrenze berechnet werden.

### **Enzymatischer Nachweis nach Kunit und Puxbaum (1996)**

Der enzymatische Glucose-Nachweis von Kunit und Puxbaum (1996) beruht auf einer Abwandlung des Enzymtests von Boehringer-Mannheim (siehe 3.1.1). Dabei werden in einer Halbmikro-Küvette mit 1.5 mL Gesamtvolumen nur die Hälfte der oben angegebenen Volumina pipettiert, d.h. 0.5 mL Puffer und 1.0 mL Probe sowie 10  $\mu$ L Enzymsuspension. Das Messprinzip bleibt davon unberührt. Die Quantifizierung erfolgt ebenfalls über eine Kalibrierung mittels Glucosestandards und nicht durch die Berechnungsformel in der Testbeschreibung. Als Gründe für die Abwandlung des Tests werden die erwarteten niedrigen Glucosewerte angegeben. Mit der Halbmikro-Variante kann falls nötig die benötigte Probenmenge reduziert werden. Der quantitative Vergleich zur Originalvorschrift wird später dargestellt.

### **Trennung und Nachweis mittels HPAEC-PAD**

Die Trennung von mono- und oligomeren Zuckern mittels Ionentauschersäulen in der Flüssigkeitschromatographie beruht auf den unterschiedlichen Säurekonstanten ( $pK_a$ -Werten) der Kohlenhydratmoleküle. Das verwendete "BioLC"-System von Dionex besteht aus einem Eluentenset mit vier Vorratsflaschen, an denen 3-4 psi Helium-Kopfdruck anliegt. Auf die Eluentenversorgung folgt die Gradientenpumpe GS50, die später durch eine GP50 mit parallel statt seriell arbeitenden Druckköpfen ausgetauscht wurde. Im Anschluss befindet sich der Autosampler mit Säulenofen und automatischen Injektionsventil. Dieser kühlt die Proben auf 10 °C und temperiert die Säule und Vorsäule auf 25 °C.

Auch an der Spülflasche des Autosamplers mit deionisiertem Wasser liegt ein Helium-Kopfdruck von 3-4 psi an, um Blasenbildung in der Spritze zu vermeiden. Als Vorsäule wird eine CarboPac PA100Guard verwendet. Diese wurde später durch eine AminoTrap-Vorsäule ersetzt. Dadurch sollten eventuell vorhandene Aminosäuren gegenüber den Zuckern zeitlich verzögert werden, ohne die Detektorsignale von Zuckern zu überlagern. Als Trennsäule kam eine 2 mm x 250 mm CarboPac-PA100 zum Einsatz. Das Säulenmaterial besteht aus Ethylvinylbenzol/Divinylbenzol-Substraten, agglomeriert mit Mikrokugeln (circa 350 nm im Durchmesser), welche mit quartären Aminen funktionalisiert wurden. Die Substanzen werden am Säulenausgang elektrochemisch detektiert. Der elektrochemische Detektor (ECD40) enthält eine Flusszelle mit einer Goldelektrode, die gegenüber einer pH-Referenzelektrode (P/N 44198) angeordnet ist. An der Goldelektrode wird ein Wechsellpotential mit 3 bzw. 4 Stufen angelegt. Die Werte des verwendeten zeitlichen Potentialverlaufs sind im Anhang 8.7 in den Skripten der Programmsteuerung des BioLC enthalten. Die Goldelektrode wurde im März 2003 wegen sichtbaren Verbrauchs der Oberfläche ausgetauscht. Die Referenzelektrode muss regelmäßig mit Pufferlösungen kalibriert und je nach Gebrauch alle 6 Monate ausgetauscht werden. Die Trennung und Detektion erfolgt bei 20 bis 100 mM Natronlauge mit anschließendem Spülschritt mit Natriumacetat und finaler Reäquilibration. Das Volumen der Probenschleife und der Injektion beträgt 25  $\mu$ L. Die Details kann man den Programmen im Anhang 8.7 entnehmen. Alle Laufmittel müssen mit steril filtriertem Millipore-Wasser angesetzt werden. Hierzu werden Filtriergefäße mit 0.2  $\mu$ m-Nylonfiltern und Wasserstrahlpumpen-Anschluss benutzt. Während des Filtriervorgangs wird die Lösung auch gleichzeitig entgast. Im Laufmittelgefäß C befindet sich nur sterilfiltriertes deionisiertes Wasser. Im Laufmittelgefäß B ist immer nur 1 M Natriumacetat-Lösung. Diese wird mit Natriumacetat von Dionex nach Anleitung angesetzt. Im Laufmittelgefäß D befindet sich ausschließlich 250 mM Natronlauge. Diese wird aus circa 980 mL sterilfiltriertem deionisiertem Wasser und 13.2 mL 50%iger Natronlauge-Lösung von J.T. Baker angesetzt.

### **Trennung und Nachweis mittels HPLC-UV**

Die Trennung und Analyse einiger Kohlenhydrat-Standards und Proben mittels High Performance Liquid Chromatography (HPLC) erfolgt mit einem System von Merck. Dieses besteht aus einem Degaser (ERC-3415a), einer Gradientenpumpe (Merck L-6200A Intelligent Pump), einem UV/Vis-Detektor (Merck Hitachi L4250 UV/VIS) sowie einem Autosampler von Postnova (PN5200). Die Trennung erfolgt auf einer Nucleosil 120-3C8-Säule (125x4 mm) bei einem Wasser/Acetonitril-Gradient. Beide Laufmittel enthalten 0.1% Trifluoressigsäure (TFA). Der Durchfluss beträgt 1.5 mL/min, die Detektion erfolgt bei 245 nm. Da Zucker keinen Chromophor besitzen, ist es erforderlich vor einer Bestimmung mittels HPLC-UV eine Derivatisierung mit 1-Phenyl-3-methyl-5-pyrazolon (PMP) durchzuführen. Die nachfolgende Prozedur wurde von Frau Dr. Krause am Insti-

tut entwickelt und als Standardarbeitsanweisung festgehalten. Es werden aus jeder Probe 250  $\mu\text{L}$  in Eppendorf-Gefäße (1.5 mL) pipettiert und unter Stickstoff zur Trocknung eingedampft. Der Rückstand wird in 50  $\mu\text{L}$  0.3 N Natronlauge aufgenommen, durchmischt und 15 sec im Ultraschallbad behandelt. Anschließend werden 50  $\mu\text{L}$  einer 0.5 M Lösung von PMP in Methanol zugegeben, die Deckel fest verschlossen, erneut durchmischt und die Proben 30 Minuten bei 70°C inkubiert. Dazu werden vortemperierte Wasserbäder mit den für Eppendorfgefäße passenden Stahleinsätzen (24 Plätze) benutzt. Nach 30 Minuten werden die Gefäße aus dem Wasserbad entnommen, getrocknet und die Reaktion durch Zugabe von 50  $\mu\text{L}$  0.3 N HCl abgebrochen. Es wird erneut durchmischt und die Proben in den Eppendorfgefäßen unter Stickstoff zur Trocknung eingedampft. Die Rückstände werden in 200  $\mu\text{L}$  deionisiertem Wasser aufgenommen und dreimal mit jeweils 200  $\mu\text{L}$  Chloroform ausgeschüttelt. Die untere, organische Phase wird nach jedem Extraktionsschritt mit einer 200  $\mu\text{L}$  Eppendorfpipette entnommen und verworfen. Insbesondere beim letzten Schritt ist es erforderlich, das Chloroform möglichst vollständig zu entfernen. Dazu kann es notwendig sein, die organische Phase in mehreren Schritten zu entfernen. Die wässrige Phase wird unter Stickstoff zur Trocknung eingedampft, die getrockneten Proben entweder sofort vermessen oder aber direkt eingefroren. Die Rückstände werden in 150  $\mu\text{L}$  deionisiertem Wasser aufgenommen, durchmischt, 15 sec im Ultraschallbad behandelt und anschließend die unlöslichen Rückstände bei 10.000 RPM 5 Minuten lang abzentrifugiert. Der Überstand wird in die 100- $\mu\text{L}$ -Glaseinsätze der entsprechenden Autosampler-Gläschen überführt und der Messung zugeführt.

### 3.1.2 Mikrowellenunterstützte saure Hydrolyse von Cellulose

Die saure Hydrolyse von Cellulose gibt es in vielen Varianten. Hier soll die mikrowellenunterstützte Form vorgestellt und getestet werden, die bei Temperatur- und Druckkontrolle in Standard-Laborgeräten durchgeführt werden kann. Zur Verfügung stand ein Mikrowellengerät der Firma CEM, Modell MARS5 (microwave accelerated reaction system), mit Teflonbomben (90 mL Volumen). Zusätzlich gab es kleinere Gefäße (6 mL) als Einsätze in die Teflonbomben aus PFA. Die grossen Reaktionsgefäße können unter einem maximalen Druck von 55 bar verwendet werden, die kleinen nur bis 5 bar. Die Reaktionskontrolle wird durch ein Referenzgefäß (Teflon, XP1500, 90 mL), das mit einem Druck- und Temperatursensor ausgestattet ist, durchgeführt. In dieses Gefäß wird immer die gleiche Lösung eingefüllt, wie in einer der Modellproben, die den maximalen Cellulosegehalt der Testreihe enthält, jedoch nie eine Blankprobe. Dadurch können Temperatur- und Druckschwankungen, die durch die Hydrolysereaktion auftreten können, aufgezeichnet werden. Die großen Reaktionsgefäße konnten auch mit Rührfischen versehen werden, die im Mikrowellengerät magnetisch bewegt wurden.

Als Gerät für die ersten Mikrowellenversuche wurde ein Mikrowellengerät der Firma Miele, Modell Supratronic M750 mit 850 W Maximalleistung, gekoppelt mit einem Steu-



Tabelle 3.1: Mikrowellenunterstützte Hydrolyse von Cellulose. Erste Versuche mit 6 N Salzsäure und Cellulose (von ICN) im Mikrowellengerät. Parameter des Steuergerätes: 80% Leistung bei 850 Watt, 50 °C/s Temperaturgradient, Reglerwert  $p = 15$ .

Probe	Cellulose mg	Hydrolysetemperatur °C	Reaktionszeit min
SB1	0	160	10
SB2	2	160	90
SB3	4	160	100
SB4	8	200	10

ergerät der Firma Berghof Maassen (Modell BMC-1A) verwendet. Das Mikrowellengerät hat Platz für zehn Teflonbomben und verfügt über einen Infrarot-Temperaturmessfühler. Die Temperatursteuerung kann daher erst ab 120°C einsetzen. Dieses Gerät bot keine Möglichkeit, die Proben während der Reaktion zu rühren.

### Mineralsäuren

Die Reaktion der reinen Substanzen Glucose und Cellulose mit Salzsäure unter verschiedenen Bedingungen wurde in ersten Versuchen begonnen (Mikrowellengerät Miele). Dabei wurden die Substanzen noch direkt eingewogen und nicht aus Stammlösungen pipettiert. Anschließend wurden die Substanzen in die Teflongefäße überführt, mit Wasser und der gleichen Menge 37%iger Salzsäure versetzt. Mit einem Temperaturgradienten von 50°C pro Sekunde wurde die Lösung bzw. Suspension auf die Reaktionstemperatur aufgeheizt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden die Lösungen in Kolben überführt, die Teflongefäße mit Wasser gespült und durch Zugabe von verdünnter Natronlauge (4.2 N) ein pH-Wert von 8 eingestellt. Die Kolben wurden auf 100 ml mit deionisiertem Wasser aufgefüllt. Vor der Messung wurden die Proben noch 1:10 verdünnt. Der pH-Wert von 8.0 ist laut Boehringer-Mannheim für Proben, die mit dem Glucose-Enzymtestkit gemessen werden, der optimale Wert. Die Tabelle 3.1 gibt einen Überblick über die durchgeführten Experimente.

Zu diesen Hydrolyseversuchen mit Cellulose wurden äquivalente Versuche durchgeführt, die zur Bestimmung der Glucose-Wiederfindung in 6 N Salzsäure dienten. Zusätzlich wurden Versuche, Cellulose bei niedrigen Temperaturen im Wasserbad sauer zu hydrolysieren, durchgeführt. Hierzu wurden die Teflonbomben des Mikrowellengerätes in ein auf 70°C temperiertes Wasserbad gestellt und 60 min. erwärmt.

Weitere Proben (Reihe MW2001) wurden wie folgt analysiert: Die Einwaage der Substanzen wurde erhöht, die Lösungen durch Einleiten von Stickstoff während des

Tabelle 3.2: Mikrowellenunterstützte saure Hydrolyse in 3.7%iger Salzsäure. Substanzen pur ohne Substrate verwendet. Hydrolyse bei 150°C 10 min. pH-Werte der wässrigen Lösungen nach dem Abdampfen der Salzsäure.

Probe	Substanz	pH
MW2001-1	10 mg Glucose	3.54
MW2001-2	10 mg Glucose	3.61
MW2001-3	10 mg Glucose	3.50
MW2001-4	10 mg Cellulose	4.07
MW2001-5	10 mg Cellulose	4.10
MW2001-6	10 mg Cellulose	2.06

Einfüllens der Säure entgast, die Proben nach der Hydrolyse (Mikrowellengerät Miele) eingedampft und der pH-Wert vor der Analyse mit dem BioLC angepaßt.

Für die ersten sechs Proben (MW2001-1..6) wurden je dreimal 10 mg Glucose und 10 mg Cellulose (nativ) eingewogen, mit 5 mL 3.7%iger Salzsäure (circa 1 M) versetzt und 10 min bei 150 °C erwärmt. Nach dem Abkühlen wurden die Wände der Teflonbomben mit 3.7%iger Salzsäure abgespült und die Proben unter Stickstoff eingedampft. Diese Proben wurden in 10 mL Wasser aufgenommen und 1:10 verdünnt. Davon wurden die pH-Werte mit einem pH-Meter von Inolab gemessen (Tabelle 3.2).

Diese Proben wurden anschließend 1:10 verdünnt und mit dem BioLC analysiert. Die Messung erfolgte bei isokratischem Lauf mit 100 mM Natronlauge, die Detektion im amperometrischen Detektor mittels Dreistufen-Potential.

Die Proben MW2001-7 bis MW2001-12 wurden äquivalent bei auf 20 min verlängerter Reaktionszeit hergestellt.

Die Proben MW2001-13 bis MW2001-15 enthielten 100 mg statt 10 mg Glucose und wurden mit MW2001-16 bis MW2001-18 (je 10 mg Cellulose) bei 150°C 30 min erwärmt.

Die Proben MW2001-19 bis MW2001-24 wurden wieder mit je 10 mg Substanz aber 40 min erwärmt.

Die Proben MW2001-7 bis MW2001-24 wurden nach dem Eindampfen nicht in Wasser, sondern in 10 mL 5 mM Natronlauge aufgenommen. Die pH-Werte der Lösungen sind in Tabelle 3.3 dargestellt.

Weitere Proben (Reihe MW2002, Tabelle 3.4) mit Cellulose und Rinderserumalbumin (BSA) auf Glasfaserfiltern wurden im Mikrowellengerät (Miele) mit 3 N und 6 N Salzsäure behandelt. Dabei sollte Protein als Matrixkomponente für die Messungen im BioLC eingeführt werden. Die Substanzen wurden aus einer gemischten Stammlösung von 1 mg/mL auf die Filter aufgetragen. Nach dem Trocknen wurden die Lösungen mit Salzsäure versetzt und durch Einleiten von Stickstoff entgast. Nach der Hydrolyse bei

Tabelle 3.3: Mikrowellenunterstützte saure Hydrolyse in 3.7%iger Salzsäure. Substanzen pur ohne Substrate verwendet. Hydrolyse bei 150°C 20, 30 und 40 min. pH-Werte der wässrigen Lösungen nach dem Abdampfen der Salzsäure und Aufnahme in 10 mL 5 mM Natronlauge.

Probe	Substanz	pH
MW2001-7	10 mg Glucose	10.6
MW2001-8	10 mg Glucose	11.1
MW2001-9	10 mg Glucose	3.3
MW2001-10	10 mg Cellulose	11.6
MW2001-11	10 mg Cellulose	11.6
MW2001-12	10 mg Cellulose	1.6
MW2001-13	100 mg Glucose	1.7
MW2001-14	100 mg Glucose	1.4
MW2001-15	100 mg Glucose	1.5
MW2001-16	10 mg Cellulose	11.4
MW2001-17	10 mg Cellulose	11.6
MW2001-18	10 mg Cellulose	11.6
MW2001-19	10 mg Glucose	11.3
MW2001-20	10 mg Glucose	11.1
MW2001-21	10 mg Glucose	11.1
MW2001-22	10 mg Cellulose	11.6
MW2001-23	10 mg Cellulose	11.5
MW2001-24	10 mg Cellulose	11.6

140 °C wurden die Proben mit Spritzenfiltern geklärt, eingedampft, in 5 mL Wasser aufgenommen und für die chromatographische Analyse verdünnt.

Die Hydrolyse von Glucose und Cellulose auf Glasfaserfiltern mittels 1 N und 6 N Salzsäure wurde dann mit dem neuen Mikrowellensystem MARS5 durchgeführt (Tabelle 3.5). Hierzu wurden Glasfaserfilter mit 100 und 200  $\mu\text{g}$  des jeweiligen Analyten belegt und in 15 mL Salzsäure (1N in Testreihe MW1N und 6N in Testreihe MW6N) nach 2 min. Aufheizphase und kurzem Halten auf der Reaktionstemperatur in den großen Teflonbomben erhitzt.

Für die Bestimmung der Wiederfindung von Glucose in der Reaktion wurde analog der Reihen MW1N-c und MW6N-c die Experimente mit Glucose statt Cellulose wiederholt (MW1N-g, MW6N-g).

Alle Lösungen wurden nach dem Abkühlen durch Spritzenfilter filtriert, zur Trocknung unter Stickstoffstrom eingedampft, in deionisiertem Wasser aufgenommen und mit dem Glucose-Enzymtestkit vermessen.

Tabelle 3.4: Mikrowellenunterstützte Hydrolyse auf Faserfiltern in Salzsäure. Untersuchung zum Matrixeinfluss auf Analyse im BioLC durch hydrolysiertes Protein.

MW2002-1: Cellulose/BSA, 6N Salzsäure, 140 °C, 12 min Proben: 0, 100, 100, 200, 200 $\mu\text{g}$ Cellulose/BSA
MW2002-2: Cellulose/BSA, 3N Salzsäure, 140 °C, 30 min Proben: 0, 100, 100, 200, 200 $\mu\text{g}$ Cellulose/BSA
MW2002-3: nur Cellulose, 6N Salzsäure, 140 °C, 12 min Proben: 0, 100, 100, 200, 200 $\mu\text{g}$ Cellulose

Tabelle 3.5: Mikrowellenunterstützte Hydrolyse von Cellulose in Salzsäure. Aufheizphase 2 min.

Reihe	Endtemperatur °C
1N Salzsäure	
MW1N-c1	125
MW1N-c2	145
MW1N-c3	165
6N Salzsäure	
MW6N-c1	125
MW6N-c2	145
MW6N-c3	165

### Organische Säuren

In Anlehnung an Mosier et al. (2001 und 2002) wird die saure Hydrolyse von Cellulose mit Maleinsäure versucht. Anstelle von geschlossenen Stahlrohrreaktoren, die im Sandbad erhitzt werden müssen, wird die Reaktion in einem Mikrowellengerät (CEM, Modell MARS5) mit Temperatur- und Druckkontrolle in geschlossenen Teflongefäßen durchgeführt.

Zuerst wurde folgende Testreihe (JK-PFA) mit Glucose und Cellulose in 50 mM Maleinsäure (5 mL) in den PFA-Gefäßen durchgeführt. In jeweils drei PFA-Gefäße wurden 500  $\mu$ L Wasser, 500  $\mu$ L Glucoselösung (entspricht 500  $\mu$ g) und in 500  $\mu$ L Cellulosesuspension (entspricht 500  $\mu$ g) gegeben. Dann wurden 3.0 mL der Maleinsäure hinzugefügt, die Lösungen eine Minute mit Argon entgast, die Gefäße verschlossen in die großen Teflonbomben gegeben und mit 10 mL Wasser umgeben. Das Referenzgefäß wurde mit 1.5 mL Cellulosesuspension und 9.0 mL Maleinsäure gefüllt. Die Lösungen wurden in 3 min auf 100 °C erhitzt und 27 min bei dieser Reaktionstemperatur gehalten. Als Reaktionsdruck wurde circa 1 bar gemessen. Nach dem Abkühlen wurden die Proben unter Stickstoff eingedampft. Der klare Rückstand wurde in 1.0 mL Wasser aufgenommen und 5 min im Ultraschallbad belassen. Zum Messen im Glucose-UV-Test wurden die Proben durch Spritzenfilter filtriert und 1:100 und 1:50 verdünnt.

Da die Dichtigkeit der Gefäße nicht einwandfrei war und die Lösungen teilweise braun gefärbt wurden (ein Hinweis auf unerwünschte Zersetzung von Reaktionskomponenten) und in den kleinen Gefäßen die Suspensionen nicht gerührt werden konnten, wurden folgende Testreihen durchgeführt.

In der Testreihe (MW1, Tabelle 3.6) wurde Cellulose auf Glasfaserfiltern, Macherey-Nagel, 47 cm, in 50 mM Maleinsäure (20 mL) auf verschiedene Temperaturen bei einem festen Zeitprogramm aufgeheizt, um die Reaktionsparameter zu erfassen. Die Reaktionslösungen befanden sich in den XP1500-Gefäßen mit Rührfischen. Die Lösungen wurden nach dem Abkühlen durch Spritzenfilter filtriert und mit dem Glucose-Enzymtestkit vermessen.

Keine der Lösungen zeigte eine Verfärbung.

Eine Testreihe (MW1-g5) mit Glucose statt Cellulose wurde anschließend äquivalent zur Reihe MW1-c5 durchgeführt, um zu zeigen, dass die Glucose unter diesen Bedingungen von der Maleinsäure nicht angegriffen wird und um die Wiederfindung von Glucose zu bestimmen.

Zuletzt wurde noch eine Testreihe MW2-c5, äquivalent zur Reihe MW1-c5, mit verlängerter Reaktionszeit, 25 statt 15 Minuten, durchgeführt.

Zur Auswahl als Anwendung auf einige Realproben kamen dann die Konditionen der Reihe MW1-c5, 20 mL 50 mM Maleinsäure in XP1500 Gefäßen, bei 2 min. Aufheizphase auf 175 °C mit 25 min. Haltezeit. Dabei wurde eine Realprobe aus Großhadern (Kleinfiterprobe 2003) halbiert und eine Hälfte mit 100  $\mu$ g Cellulose aufgestockt.

Tabelle 3.6: Testprogramme der sauren, mikrowellenunterstützten Hydrolyse mit 50 mM Maleinsäure. Die Reihe enthält je dreimal Blankfilter, Filter mit 100  $\mu\text{g}$  Cellulose und mit 200  $\mu\text{g}$  Cellulose.

Reihe	Aufheizzeit min	Endtemperatur $^{\circ}\text{C}$	Haltezeit min	Reaktionsdruck bar
MW1-c1	2	135	15	2
MW1-c2	2	145	15	3
MW1-c3	2	155	15	3.5
MW1-c4	2	165	15	6
MW1-c5	2	175	15	8.6

### Gemischte Säuren

Es wurde die Reaktivität einer Mischung aus 50 mM Maleinsäure mit 50 mM Salzsäure im Verhältnis 4:1 getestet. Die Reaktion wurde in den kleinen PFA-Gefäßen durchgeführt, mit 2 mL Maleinsäure, 0.5 mL Salzsäure und Probe. Die Proben bestanden aus je dreimal 500  $\mu\text{L}$  Wasser, 500  $\mu\text{L}$  Glucose- und 500  $\mu\text{L}$  Celluloselösung (je 1 mg/mL). Die Lösungen wurden 6 min auf 105  $^{\circ}\text{C}$  aufgeheizt und 45 min inkubiert. Die Proben wurden danach zur Trocknung eingedampft, in 4 mL Wasser aufgenommen und mittels Glucose-Enzymtest vermessen.

### 3.1.3 Enzymatische Hydrolyse von Cellulose

Für die Hydrolyse von Cellulose mittels der Enzyme Cellulase und Cellubiase müssen in Abhängigkeit der gewählten Enzyme verschiedene Reaktionsbedingungen eingehalten werden. Zuerst werden verschiedene getestete Cellulasen und deren Reaktionsbedingungen beschrieben. Anschließend folgt eine von Kunit und Puxbaum (1996) veröffentlichte Methode und schließlich die angewendeten Möglichkeiten zur Aufreinigung der Enzyme.

#### Cellulasen

Die ersten enzymatischen Hydrolysen im Rahmen eines Praktikums wurden mit Cellulase (*Trichoderma reesei*, Sigma, 6.0 U/mg) und  $\beta$ -Glucosidase (aus Mandeln, Sigma, 3.4 U/mg) durchgeführt. Die Einheit Unit (U) ist ein Maß für die Enzymreaktivität und gibt an, wieviel Glucose bei 37 $^{\circ}\text{C}$  in einem vorgegebenen Puffer bei bestimmter Temperatur aus einem Substrat freigesetzt wird. Diese Angaben sind herstellerepezifisch und substratabhängig. Für die Hydrolysen mit diesen Enzymen wurde ein 50 mM Natriumacetatpuffer hergestellt. Dieser wurde mit Essigsäure auf einen pH-Wert von 5 eingestellt. 13.8 mg Cellulase wurden in 16 mL Puffer gelöst, von der Glucosidase 23.8 mg. Von drei

verschiedenen Cellulose-Stammsuspensionen mit je 200 mg/L in deionisiertem Wasser wurden 50, 250, 500 und 1000  $\mu\text{L}$  unter ständigem Rühren entnommen. Es erfolgte eine Auffüllung auf 1000  $\mu\text{L}$  mit Wasser. Dabei enthielt eine Probe nur 1.0 mL Wasser. Je Probengläschen wurden je 1.0 mL Enzymlösung hinzugefügt, so dass sich ein Gesamtvolumen von 3.0 mL ergab. Die Gläschen wurden mit Rührfischen versehen, mit Parafilm und Schnappdeckel verschlossen und in ein auf 37 °C vorgeheiztes Wasserbad gestellt. Es standen drei verschiedene Cellulosen zur Verfügung, eine kommerzielle von ICN Biochemicals, und zwei nicht näher bezeichneter Herkunft. Eine davon sollte nativ und eine mikrokristallin sein und wurden von Dr. Nestle am Institut zur Verfügung gestellt. Diese 15 Proben (5 je Cellulose) wurden einmal 48 Stunden und einmal 96 Stunden inkubiert (Reihe SB48 und SB96).

Da die Enzymmenge auch proportional zur Substratmenge zugegeben werden kann, wurden zwei Testreihen (SB10mU und SB10uU) durchgeführt. Aus einer Stammlösung von ICN-Cellulose in Puffer wurden wieder 0, 10, 50, 100 und 200  $\mu\text{g}$  pipettiert. Bei der ersten Testreihe SB10mU wurden Lösungen von 1.7 U/mL  $\beta$ -Glucosidase und 1.0 U/mL Cellulase in Natriumacetatpuffer (50 mM, pH 5) hergestellt. Pro  $\mu\text{g}$  Cellulose wurden jeweils 0.01 U der Enzyme zugegeben. Bei der zweiten Testreihe SB10uU wurden Enzymlösungen von 0.034 U/mL  $\beta$ -Glucosidase und 0.030 U/mL Cellulase in Natriumacetatpuffer angesetzt und pro  $\mu\text{g}$  Cellulose jeweils  $10^{-5}$  U der beiden Enzyme zugegeben. Somit sind in der Reihe SB10mU 10 mU Enzym je  $\mu\text{g}$  Cellulose und in SB10uU 10  $\mu\text{U}$  Enzym je  $\mu\text{g}$  Cellulose. Das Gesamtvolumen wurde jeweils auf 5.0 mL mit Acetatpuffer aufgefüllt. Die Inkubation erfolgte bei 37 °C 24 Stunden.

Die anschließenden Versuche („GH“) erweiterten die Analytik durch Aufbringen der Cellulose auf Achtel von 150-mm-Glas- und Quarzfaserfiltern sowie zwei sequentiellen Extraktionsschritten sowie der Anwendung auf Realproben. Die Filter wurden bei 300 °C ausgeheizt und im Trockenexsikkator aufbewahrt. Jede Probe bestand aus einem Achtel eines Leer- („B“), Modell- („M“) oder Realfilters („R“). Alle Proben wurden mit 10 mL deionisiertem Wasser versetzt und eine Stunde unter Rühren extrahiert, anschließend zentrifugiert, der Überstand wurde abgenommen. Bei Realproben wurde der pH-Wert des wässrigen Extrakts gemessen. Die wässrigen Extrakte werden mit dem Kürzel „Ü“ bezeichnet. Die Rückstände wurden dann mit 5 mL 1%iger Wasserstoffperoxidlösung (pH 11.5) 2h gerührt. Nach Zentrifugation und dreimaligem Waschen mit je 5 mL Wasser wurden die Waschfraktionen mit dem oxidativen Extrakt („ÜH“) zusammengeführt. Alle Proben wurden durch Spritzenfilter (0.45  $\mu\text{m}$ ) gefiltert und unter Stickstoff eingedampft.

Die 1%ige Wasserstoffperoxidlösung wurde aus 1.6 ml 30%igem Wasserstoffperoxid, verdünnt mit 50 ml deionisiertem Wasser, gewonnen und mit Natronlauge auf einen pH-Wert von 11.5 eingestellt.

Die Proben wurden dann mit 10 mL Natriumacetatpuffer (50 mM, pH 5) aufgenommen. Die Enzyme Cellulase (*Trichoderma reesei*, Sigma, 6.0 U/mg) und  $\beta$ -Glucosidase (aus Mandeln, Sigma, 12.4 U/mg) wurden gelöst (5 U/mL) und je 1 mL wurde zu den

Tabelle 3.7: Realproben, gesammelt mit einem High-Volume-Filtersammler Digital DHA80 (500 L/min) auf 150 mm Faserfiltern im Juli 2001 in München (Großhadern). Die Massenzunahme der gewogenen Filter entspricht PM2.5. Das beprobte Volumen  $V_N$  ist auf Standardbedingungen 0°C und 1013 mbar normiert.

Probe	Beprobung	$V_N$ m <sup>3</sup>	PM2.5	
			mg	$\mu\text{g m}^{-3}$
1	19.7. 14:09 - 22.7. 14:07	1927.830	24.2	12.6
2	22.7. 14:07 - 25.7. 14:07	1902.827	14.1	7.4
3	26.7. 09:09 - 28.7. 14:07	1898.538	25.0	13.2
4	28.7. 14:07 - 31.7. 09:20	1780.319	32.0	18.0
5	31.7. 09:22 - 01.8. 09:22	632.521	13.5	21.3
6	01.8. 09:22 - 02.8. 09:22	634.907	15.0	23.6
7	02.8. 09:22 - 03.8. 09:22	629.141	16.3	25.9
8	03.8. 09:22 - 04.8. 09:22	636.347	7.8	12.3

Proben pipettiert. Die 12 mL Gesamtsuspension wurden mit Rührfischen versetzt, verschlossen und 48 Stunden bei 37 °C im Wasserbad inkubiert.

Insgesamt wurden 5 Filter-Blindwerte (B1-B5), drei Pufferlösungen mit Enzym und zwei Filterachtel mit Enzym, 8 Modellfilter (M1-M8) und 4 Realproben (R1-R4) behandelt.

Die Realproben wurden mit einem High-Volume-Filtersammler der Firma Digital (DHA80) im Juli 2001 vor dem Institutsgebäude gesammelt (Tabelle 3.7).

Die Modellproben wurden mit 200  $\mu\text{L}$  aus einer 1.08 mg/mL Cellulose-Suspension, entsprechend 216  $\mu\text{g}$  Cellulose, belegt und auf einer Heizfläche bei niedrigen Temperaturen ( $\leq 60$  °C) getrocknet.

Die Modell- und Realproben, sowie deren Extrakte, wurden jeweils mit dem Glucose-Enzymtest von Boehringer-Mannheim und ionenchromatographisch mit dem BioLC analysiert. Die Analyse am BioLC erfolgte bei isokratischem Lauf von 100 mM Natronlauge. Eingespritzt wurden 25  $\mu\text{L}$  Probe auf eine CarboPac-PA100-Trennsäule mit Vorsäule. Der gepulste amperometrische Detektor wurde mit einem Standardgemisch aus Glucose, Fructose und Cellobiose kalibriert. Die Cellulosewerte der Proben wurden anteilig aus dem Glucose- und dem Cellobiose-Signal berechnet.

Ohne Extraktion wurden noch jeweils ein Achtel der Realproben aus Großhadern 2001, Nummer 7 und 8, in getrennten Testreihen (AZ2002-1, AZ2002-2) analysiert. Dazu wurden die Proben, sowie passende Blind- und Wiederfindungsfilter, bei 37 °C 48 Stunden im Natriumacetatpuffer mit 5 U Cellulase inkubiert. Nach dem Eindampfen wurden die



Proben in 0.50 mL Wasser aufgenommen und verdünnt im BioLC vermessen. Bei der zweiten Testreihe, zur Analyse der Realprobe GH 2001-8, ergab sich, dass im Chromatogramm des BioLC mehrere Peaks im Bereich des Glucose-Signals übereinander lagen. Auch mit der Reduktion der Laufmittelkonzentration von 100 mM auf 85 mM Natronlauge und Aufstocken der Analyselösungen mit Glucose konnte das Problem nicht behoben werden.

Um mehr Daten über die Hydrolysereproduzierbarkeit und BioLC-Trennleistung sowie Realproben zu bekommen, wurden weitere Modell und Realproben analysiert. Alle folgenden Probenreihen (AZ2002-3, AZ2002-4, AZ2002-5) wurden unter gleichen Bedingungen durchgeführt. Zuerst wurden die Proben durch Rühren wässrig extrahiert (mit 7.0 mL deionisiertem Wasser, 2 Stunden). Durch Zentrifugation wurde der Extrakt (E) vom Rückstand (R) getrennt. Nach dem Eindampfen bzw. Trocknen wurden beide in 5.0 mL Natriumacetatpuffer mit 5U (200  $\mu$ L) Cellulase (Sigma, C8546) bei 37 °C für 38 Stunden inkubiert. Nach dem Filtern und Eindampfen wurden die Proben in Wasser aufgenommen, verdünnt und im BioLC vermessen. Zu jeder Reihe wurden die Pufferlösung mit Enzymen ohne Substrat, Blindfilter, Wiederfindungsfilter mit 50 bzw. 100  $\mu$ g Cellulose und Realproben aus Großhadern (2001) und von der Zugspitze 2001 (Tabelle 3.8) vermessen. Zusätzlich wurden bei Reihe AZ2002-5 einige Extrakte der Realproben auch ohne Hydrolyse analysiert, um festzustellen, ob freie lösliche Glucose in den atmosphärischen Proben vorkommt.

Tabelle 3.8: Realproben SCAVEX2001, gesammelt mit einem High-Volume-Filtersammler Digital DHA80 (500 L/min) auf 150 mm Faserfiltern im Juli 2001 auf der Zugspitze (Schneefernerhaus). Die Massenzunahme der gewogenen Filter entspricht PM2.5. Das beprobte Volumen  $V_N$  ist auf Standardbedingungen 0°C und 1013 mbar normiert.

Probe	Beprobung	$V_N$ $m^3$	PM2.5	
			mg	$\mu g m^{-3}$
2	12.8. 11:55 - 15.8. 11:55	1682.516	8.1	4.8
3	15.8. 11:55 - 18.8. 11:55	1676.037	16.9	10.1
4	18.8. 11:55 - 21.8. 11:55	1680.356	10.0	6.0
5	21.8. 11:55 - 24.8. 11:55	1686.836	8.3	4.9
6	24.8. 11:55 - 27.8. 11:55	1673.877	15.5	9.3
7	27.8. 11:55 - 30.8. 11:55	1682.516	15.0	8.9
8	30.8. 11:55 - 04.9. 11:55	2832.275	7.6	2.7
9	04.9. 11:55 - 09.9. 11:55	2843.875	10.1	3.6
10	09.9. 11:55 - 14.9. 11:55	2865.467	12.5	4.4
11	14.9. 11:55 - 19.9. 11:55	2858.274	6.1	2.1
15	04.10. 11:55 - 14.10. 11:55	5608.677	22.4	4.0

**Methode nach Kunit und Puxbaum (1996)**

In Anlehnung an die Originalvorschrift wird die enzymatische Cellulosehydrolyse folgendermaßen vorbereitet und durchgeführt (Tabelle 3.9).

Für den Puffer werden 2.1 g Zitronensäure-Monohydrat (Merck) in circa 50 mL deionisiertem Wasser gelöst. Natriumhydroxid-Microprills (Merck) werden in deionisiertem Wasser gelöst. Mit wenigen Tropfen dieser stark konzentrierten Lösung wird der pH-Wert der Zitronensäurelösung auf 4.5 eingestellt. Anschließend wird die Lösung auf 200 mL im Maßkolben aufgefüllt und der pH-Wert kontrolliert. Der 50 mM Zitronensäure-Puffer soll einen pH-Wert von 4.8 aufweisen. Auf die Verwendung von Thymol-Zusatz als Puffer-Stabilisator wird verzichtet, da der Puffer jedesmal frisch angesetzt und nicht länger als einen Tag aufgehoben wird.

Die Enzymlösungen Celluclast 1.5L und Novozym 188 von NovoNordisk (Sigma) werden 1:10 (500  $\mu$ L Enzymlösung auf 5 mL deionisiertem Wasser) und 1:100 (50  $\mu$ L Enzymlösung auf 5 mL deionisiertem Wasser) verdünnt.

Auf einer Glasunterlage werden die Filter bzw. Filterstücke mittels eines Skalpells kleingeschnitten und in Gläschen mit Rührfischen gegeben. Das Puffervolumen kann leicht variiert werden und sollte so gewählt sein, dass die Suspension sehr leicht zu rühren ist. Andere verwendete Substrate wie die Aluminiumfolien des Impaktors wurden nicht zerkleinert.

In die Reaktionsgläschen wird je nach Filtermenge 5-15 mL Puffer und je 100  $\mu$ L der beiden verdünnten Enzymlösungen gegeben. Die Gefäße werden mit Parafilm und Schraubdeckel verschlossen und in einem auf 45 °C vorgeheiztem Wasserbad unter ständigem Rühren 6-48 Stunden inkubiert.

Zu jeder Messserie sollten parallel unbelegte Substrate und aufgestockte Substrate (50  $\mu$ g Cellulose) hydrolysiert werden. Damit kann die Enzymqualität, -Stabilität und -Aktivität laufend kontrolliert werden.

Tabelle 3.9: Hydrolysebedingungen für die enzymatische Cellulose-Hydrolyse mit Celluclast 1.5L und Novozym 188. Das Puffervolumen und die Inkubationszeit kann leicht variiert werden.

Celluclast 1.5L	1:10 verdünnen	100 $\mu$ L je Probe
Novozym 188	1:100 verdünnen	100 $\mu$ L je Probe
Puffer	50 mM Zitronensäure	pH 4.8
Puffervolumen	10 mL je Probe	
Temperatur	45 °C	

### Aufreinigung von Cellulasen

Zur Aufreinigung von makromolekularen Substanzen gibt es zwei bekannte Standardverfahren, die Größenausschlußchromatographie (SEC, size exclusion chromatography) und die Dialyse. Letztere wurde nach erfolgreicher Anwendung der SEC nicht mehr getestet. Zur Größenausschlusschromatographie wurden Entsalzersäulen der Firma Amersham Biosciences (Freiburg, D-79111) verwendet (disposable PD-10 desalting column, code 17-0851-01, exclusion limit 5000 Da). Die circa 8 cm hohen Säulen (1.5 cm Innendurchmesser) sind mit 5 cm (8.5 mL) Sephadex G-25 Medium in destilliertem Wasser zwischen zwei Fritten aus Polyethylen gefüllt. Die Säulen wurden zuerst mit 30 - 40 mL eines zum Enzym passenden Puffer äquilibriert. Anschließend wurden 1.0 mL Enzymlösung aufgegeben und mit Puffer eluiert. In den ersten Vorversuchen wurden die ersten 2.0 mL Eluat verworfen und die folgenden 4.0 mL eluierter Enzymlösung aufgefangen (Variante PD10-A). Die erhaltene Enzymlösung ist 1:4 verdünnt. In der Variante PD10-B wurden die ersten 2.5 mL Eluat verworfen und die folgenden 1.0 mL enzymhaltigen Eluats aufgefangen. Die hier erhaltene Enzymlösung ist unverdünnt. In der Variante PD10-C wurden die ersten 2.25 mL Eluat verworfen und die folgenden 1.0 mL enzymhaltigen Eluats aufgefangen. Die hier erhaltene Enzymlösung ist unverdünnt. Jede PD10-Säule wurde nur einmal verwendet.

Tabelle 3.10: Verwendete Varianten der Größenausschlusschromatographie zur Aufreinigung der Enzyme Cellulase und Cellubiase mittels PD10-Säulen. Die Vor-Äquilibrierung der Säulen erfolgt mit Zitronensäurepuffer. Das Auftragevolumen der Enzymlösung beträgt 1.0 mL. Alle Werte in mL.

Variante	Cut-Volumen	Eluat-Volumen
PD10-A	2.0	4.0
PD10-B	2.5	1.0
PD10-C	2.25	1.0

#### 3.1.4 Extraktion von Filter- oder Impaktorproben

Die Extraktion der Proben dient in den meisten Fällen nicht der Extraktion des Analyten Cellulose, sondern der Reduzierung der Matrixkomponenten und der Trennung von leicht löslichen Zuckermonomeren von Polysacchariden.

##### Wässrige Extraktion

Filter- oder Impaktorproben wurden in ein passendes Wägegläschen mit Schliff gelegt und mit soviel deionisiertem Wasser versetzt, dass die Oberfläche gut bedeckt war (5-

10 mL). Die Extraktion dauerte 24 Stunden. Gelegentlich wurden die Gläschen geschwenkt. Anschließend wurde die wässrige Phase mit einer Pasteur-Pipette vollständig in ein Gläschen überführt und unter Stickstoff bei Raumtemperatur eingedampft. Die Filter wurden im Trockenschrank bei 100-120 °C zwei Stunden getrocknet.

Anfänglich wurden die Filter zerkleinert und in deionisiertem Wasser einige Stunden gerührt. Da dies aber aufgrund anschließend notwendiger Zentrifugation aufwendiger war und keine Unterschiede bei den Ergebnissen festgestellt wurden, wurde dieser Weg aufgegeben.

### Oxidative Extraktion

Die oxidative Extraktion soll Cellulose von Komponenten wie Lignin und Suberin befreien (Kunit & Puxbaum, 1996). Hierzu wird 30%iges Wasserstoffperoxid 1:30 verdünnt (4 mL auf 120 mL deionisiertem Wasser). In einem kleinen Teil dieser 1%igen Wasserstoffperoxid-Lösung werden Natriumhydroxid-Microprills gelöst. Damit wird dann der pH-Wert der ersten Lösung auf 11.5 eingestellt.

Filterproben wurden in ein passendes Wägegläschen mit Schliff gelegt und mit soviel alkalischer Peroxidlösung versetzt, dass die Oberfläche gut bedeckt war (5 - 10 mL). Die Extraktion dauerte 24 Stunden bei Raumtemperatur. Gelegentlich wurden die Gläschen geschwenkt. Anschließend wurde die wässrige Phase mit einer Pasteur-Pipette vollständig in ein Gläschen überführt und unter Stickstoff eingedampft. Die Filter wurden im Trockenschrank bei 100 - 120 °C zwei Stunden getrocknet.

Die oxidative Extraktion kann nicht auf Impaktorsubstrate aus Aluminium angewendet werden, da diese vollständig aufgelöst würden.

### Wässrig-organische Lösung von Cellulose

Mittels N-Methylmorpholin-N-Oxid (NMMO) ist es möglich, Cellulose in wässrig-organischem Medium direkt zu lösen (Rosenau et al., 2001; Biganska & Navard, 2003). Die schwach basische Verbindung NMMO ist stark hydrophil, sehr gut löslich in Wasser, vollständig mischbar und stark hygroskopisch. NMMO ist ein Oxidationsmittel und thermisch labil. In den Versuchen sollten die Eigenschaften des ternären Systems, Cellulose/Wasser/NMMO, ausgenutzt werden, um eventuell die Hydrolyse von Cellulose zu erhöhen. Hierzu wurde eine 50%ige Lösung von NMMO in Wasser vorbereitet. Die Enzyme Celluclast 1.5L und Novozym 188 wurden mittels PD-10-Säulen nach Variante PD10C gereinigt. Zu 5 mL Acetatpuffer wurden 5 mL der 50%-NMMO-Lösung gegeben. Mit dieser Mischung wurde eine Probenreihe mit 0, 5, 10, 25 und 50 mg Cellulose erstellt. Da sich kein Löseeffekt zeigte, wurden noch einmal 5 mL der NMMO-Lösung zugegeben. Anschließend wurden die standardgemäß verdünnten Enzyme zugegeben und die Proben 24 Stunden inkubiert. Danach wurden die Proben mit 0.22 µm-CME-Spritzenfilter

gefiltert. Beim Versuch, die Lösung unter Stickstoff einzudampfen, ergab sich eine gelatineartige leicht gelblich gefärbte Substanz. Diese wurde in 10 mL Wasser aufgenommen und sowohl 1:10, wie auch 1:100 verdünnt. Die Messung des Glucosegehaltes erfolgte mit dem Glucose-Enzymtest von Boehringer-Mannheim.

## 3.2 Elektrischer Niederdruckimpaktor (ELPI)

Der elektrische Niederdruckimpaktor (ELPI) von Dekati (Tampere, Finland) basiert auf einer Entwicklung an der Universität von Tampere (Keskinen et al., 1992). Das Gerät hat an der Oberseite einen Schlauchanschluss als Aerosoleinlass. Im Inneren folgt dem Einlass eine zylindrische Kammer mit einer Wolframnadel im Zentrum eines kegelförmigen Teflonblocks. Diese Kammer dient zur Erzeugung einer Corona-Entladung und enthält auch eine Ionenfalle. Danach folgt ein Niederdruck-Kaskadenimpaktor, an den ein Mehrkanalelektrometer angeschlossen ist. Eine externe Scroll-Pumpe GVSP30 (BocEdwards, West Sussex, Great Britain) sorgt für den am Einlass gemessenen Durchfluss von knapp 30 Liter pro Minute (lpm) bei der Outdoor-Version des ELPI. Der Durchfluss ist damit dreimal höher als bei der ELPI-Version für Messungen am Motorenprüfstand und sorgt für eine den Konzentrationen im atmosphärischen Aerosol angepasste niedrigere Nachweisgrenze. Durch einen integrierten Computer mit Standardkomponenten, wie Diskettenlaufwerk, Festplatte, Tastatur- und Monitoranschluß sowie LCD-Display, kann das Gerät alleinstehend (stand-alone) arbeiten. Zur einfacheren Steuerung mit entsprechender Software (ELPI VI) ist an der Rückseite auch ein 9-poliger serieller Anschluss angebracht. Die Software wurde in der Version 3.1 rev454 geliefert und verwendet. Später folgte die Version 3.2b. Dies hat besondere Relevanz, da die neue Software neue Rechenroutinen enthält, die eine Überschätzung der Partikelanzahl auf der Filterstufe verringert. Alle gezeigten Daten wurden mit der neuen Software nachberechnet. Der Aerosolstrom wird zuerst durch die unipolar arbeitende Corona-Entladung (5 kV, 1.0  $\mu$ A) geleitet. Dabei werden die Partikeloberflächen mit positiven Ladungen gesättigt (ca.  $10^{14}$  Ladungen pro  $\text{cm}^2$ ). Durch eine geringe Spannung (50 V bei Betrieb mit, 400 V bei Betrieb ohne Filterstufe) in der Ionenfalle werden im Überschuss erzeugte Gasionen aus dem Aerosolstrom entfernt. Anschließend werden die Partikel im 12-stufigen Kaskadenimpaktor gemäß ihres aerodynamischen Durchmessers  $D_{\text{aero}}$  getrennt abgeschieden. Die oberste Stufe (Stage 12) stellt dabei einen Vorimpaktor mit 50% Abscheideeffizienz (D50%) bei 10  $\mu\text{m}$  dar (PM10). Bei den nachfolgenden Impaktionsstufen (11-1) werden stufenweise immer kleinere Partikel abgeschieden (bis D50% = 30 nm). Die Größenklassen der Impaktionsstufen sind für jeden Impaktorturm charakteristisch und im Anhang (8.4) aufgegliedert. Die letzte Stufe besteht aus einer Filtereinheit, die Partikel größer als 7 nm abscheidet. Das Gerät wurde mit einem Membranfilter auf einer Metallunterlage ausgeliefert. Ist der Filter installiert, muss das im Gerät integrierte Manometer über dem Filter eine Druckdifferenz von 100 mbar anzeigen, damit der Durchfluss von

30 lpm gewährleistet ist. Im Jahre 2002 wurde eine neue Filterstufe aus mehrlagigen gewelltem Metallgitter anstelle des Membranfilters eingesetzt. Da der Druckabfall an der neuen Filterstufe geringer als am Membranfilter ist, kann der ELPI seitdem auch mit kleiner dimensionierten Pumpen betrieben werden, als in der ursprünglichen Konfiguration. Der Outdoor-ELPI könnte auch ohne die Filterstufe betrieben werden, indem diese durch eine Impaktorplatte ersetzt wird. Dadurch würden aber die ultrafeinen Partikel ( $< 30$  nm) nicht mehr erfasst. Die Impaktorstufen sind mit Teflonringen elektrisch gegeneinander isoliert und einzeln mit dem Mehrkanalelektrometer verbunden. Trifft ein Partikel auf eine Impaktorplatte, wird die Ladung des Partikels über den entsprechenden Elektrometerkanal abgeleitet und gemessen (femto-Ampere-(fA)-Bereich). Die oberste Impaktionsstufe (Vorimpaktor) ist nicht mit einem Elektrometer verbunden, so dass ein Größenbereich von etwa 7 nm bis  $10 \mu\text{m}$  abgedeckt wird. Der ELPI kalibriert das Elektrometer alle drei Stunden (veränderbare Einstellung). Bei diesem sogenannten auto-zeroing wird eine interne Pumpe (flush pump) eingeschaltet, die Raumluft durch Absolutfilter partikelfrei in den Impaktorturm mit etwas mehr als 30 lpm einleitet. Da diese Luft partikelfrei ist, sollen sich die Elektrometersignale nach einer kurzen Spülzeit (fall-time) zwischen  $-10$  und  $+10$  fA einpendeln. Nach der fall-time, wenn die Signale stabil sind, werden die Elektrometer-Werte auf Null gesetzt. Die interne Pumpe wird ausgeschaltet und nach einer rise-time, in der die Signale während des Durchspülens des ELPI mit dem Messaerosol wieder ansteigen, ist das auto-zeroing beendet. Dieser Vorgang dauert je nach Einstellungen 7 bis 9 Minuten und wird von der ELPI-Software im Laptop mit aufgezeichnet. Die Status-Flags (F und Z) im Datensatz zeigen diese Vorgänge an. Für eine Datenauswertung werden diese Zeitbereiche des auto-zeroing vom Beginn durch Einschalten der flush-pump (f wechselt zu F) bis zum Ende (eine Minute nach dem Ausschalten, F wechselt zu f) ausgeschnitten, da in dieser Zeit kein Messaerosol vollständig erfasst wird. Die Werte werden aufgezeichnet, um bei Unstimmigkeiten, z.B. Sprüngen in der Partikelanzahl, Fehler im auto-zeroing auszuschließen. Trockene Partikel im Aerosolstrom würden beim Auftreffen auf eine der Impaktorplatten von der Oberfläche wieder abspringen und mit dem Aerosolstrom auf die nachfolgende Stufe transportiert werden. Dieser sogenannte bounce-off kann sich über mehrere Stufen erstrecken. Dabei kann das Partikel bei jedem Kontakt mit einer Impaktorstufe Ladung abgeben. Da die ELPI Software aus dem Ladungsfluss die Partikelanzahl auf jeder Stufe berechnet, würde dann im Bereich der kleineren Partikel deren Anzahl auf der online-Darstellung der Software stark zunehmen. Um diese Fehlmessung zu vermeiden, wurde der ELPI immer nur mit befeuchtetem Aerosolstrom oder gefetteten Impaktor-Substraten betrieben. Als Impaktionssubstrate wurden Aluminiumscheiben mit 25 mm Durchmesser aus Haushaltsfolie mit einem Loch Eisen ausgestanzt und mit Isopropanol im Ultraschallbad 5 Minuten gewaschen. Zur anschließenden Trocknung im Stickstoffstrom wurden die Substrate in eine Glasfilterfritte gelegt, diese mit Parafilm abgedeckt, der Parafilm durchlöchert und Stickstoff durch die Fritte geblasen. Eine Trocknung im Trockenschrank führt zur Oxidation

und Verfärbung der Aluminiumfolien und sollte daher nicht angewendet werden. Bei der Fettung der Substrate kann anschließend mit den gesammelten Partikeln keine chemische Analyse mehr durchgeführt werden. Bei Verwendung von Apiezon L als Fett kann noch eine Analyse anorganischer Anionen betrieben werden. Zur Entwicklung einer einheitlichen Prozedur zur Fettung der Substrate wurde folgende Anordnung getestet: Die Substrate wurden auf eine Metallplatte verteilt und mit einer gelochten Silikon-Folie abgedeckt. Der Durchmesser der in die Silikonfolie eingebrachten Löcher war circa 4 mm kleiner als der Durchmesser der Substrate. Die Substrate wurden zentrisch unter den Löchern der Folie angeordnet. Eine entsprechend der Folie gelochte Metallplatte wurde auf die Folie gepreßt und mit der unteren Trageplatte verschraubt. Fett (Apiezon L) wurde in Toluol gelöst und in die Löcher auf die Substrate pipettiert. Durch leichtes Erwärmen der Metallplatten auf Temperaturen unter 40°C auf einem Heizer wurde das Toluol verdampft. Ein dünner und gleichmäßig verteilter Fettfilm blieb dadurch auf den Substraten zurück. Somit konnte anwenderunabhängig eine stets gleiche Substratfettung erreicht werden.

### 3.3 Befeuchtung des Aerosolstroms

Die Befeuchtung des Aerosolstroms vor der Probenahme mit dem ELPI oder anderen Impaktoren ist nötig, wenn die Prallplatten des Impaktors nicht gefettet sind und die Partikel nach der Abscheidung chemisch analysiert werden sollen. Die Befeuchtung sollte bei dem Outdoor-ELPI-System zwischen 60 und 80% rH liegen, um genug Feuchte zur Vermeidung von bounce-off-Effekten zu haben und ein Partikelwachstum durch die Feuchte noch weitgehend zu vermeiden.

Zur Befeuchtung des Aerosolstroms wurden zwei Versionen von Stahlkammern gebaut. Die erste Version hatte einen Rauminhalt von circa 3 Liter und bestand aus einem Stahlzylinder mit 190 mm Höhe und 150 mm Durchmesser. Boden- und Deckplatte wurden gegeneinander verschraubt und luftdicht an den Zylinder gepresst. Die Deckplatte enthielt zwei Öffnungen als Aerosolstromein- und auslass. Ein kleiner Bruchteil des Volumens der Kammer wurde mit Wasser gefüllt. Mittels eines externen Heizers unter der Bodenplatte der Kammer wurde die Befeuchtung des Aerosolstroms auf wenige Prozent genau eingestellt. Es stellte sich heraus, dass die Wassermenge für den Dauerbetrieb über mehrere Tage nicht ausreichte. Da diese Kammer aber ohne Verluste von Partikeln oder anderen Nachteilen erfolgreich eingesetzt werden konnte, wurde eine zweite Version gebaut. Diese bestand wiederum aus einem Stahlzylinder mit 150 mm Durchmesser. Als Höhe wurden 450 mm gewählt. Somit stand ein Volumen von circa 7 L zur Verfügung, mit einem Wasserfüllvolumen von 2 L. Die Bodenplatte ist angeschweißt, die Deckplatte mit mehreren Schrauben und einem Dichtring mit dem Zylinder verbunden. An zwei gegenüberliegenden Stellen des Zylinders befindet sich parallel dazu ein Steigrohr, um die Wasser-Füllhöhe in cm abzulesen, sowie ein mittels Absperrhahn verschließbarer



Anschluss zur Einführung eines Thermometers, mit dem die externe Heizung geregelt werden kann (siehe Anhang 8.5). Als externe Heizung wurde ein RCTbasic Heizrührer (ika-Serie, Roth) mit dazu passendem Thermometer mit fuzzy-Steuerung verwendet. Die Regelgenauigkeit von circa einem Grad Celsius erlaubte eine Befeuchtung im Bereich von 60 - 80% rH (relative humidity) des Aerosolstroms. Die Schwankung durch die Temperatur-Regelung betrug nur wenige Prozent relative Feuchte. Größere Schwankungen in der relativen Feuchte wurden in der Regel durch die Umgebungsfeuchte des Aerosolstroms hervorgerufen. Eine Steuerung der Befeuchtung über Feuchtesensoren war aus Kostengründen nicht realisierbar und im Einsatz bei Messkampagnen nicht erforderlich. Die Deckplatte enthält zwei Stützen als Aerosolein- und auslass. Diese wurden mit zwei Gummistopfen versehen, die jeweils mit zwei Stahldurchführungen zum Anschluß von Schläuchen bestückt sind. Bei Außenmesskampagnen wurden je Stopfen je ein Schlauchanschluss mit einem Eppendorf-Reaktionsgefäß geschlossen. Die Deckplatte enthält noch drei weitere Öffnungen als Hilfsanschlüsse für Laborexperimente.

### 3.4 Partikelverluste in einem Thermodenuder

Die allgemeinen Partikelverluste in einem Aerosolzuleitungssystem können durch Berücksichtigung der Diffusionsverluste, wie im allgemeinen Teil (2.8) gezeigt, näherungsweise berechnet werden. Bei besonderen Einsätzen sind diese gesondert zu quantifizieren. Im Rahmen der Staub-Emissionsmessung in einem Schwellenwerk der Bahn wurde ein Thermodenuder der Firma Topas (Dresden), Modell TDD590, eingesetzt. Dieser besteht aus einem langem Glasrohr mit Metallnetzeinsatz. Das Gitter trennt den freien inneren Aerosoldurchlass von der Aktivkohlefüllung des Glasrohres. Im Einlassbereich des Glasrohres befindet sich eine kurze Heizstrecke, in der das Aerosol auf bis zu 400 °C aufgeheizt werden kann. Durch diese Anordnung können flüchtige Aerosolkomponenten aus dem Aerosolstrom entfernt werden. Nach dem Austausch des Gitternetzes und der Kohlefüllung erfolgte die Feststellung der Partikelverluste im Denuder.

Mit einem Palas Funken-Rußgenerator GfG1000R wurde bei 2 bar Argondruck ein Rußpartikelstrom mit 4 lpm erzeugt. Diesem werden 5 lpm Druckluft zugeführt. Damit bestand ein konstanter Rußpartikelfluss von 9 lpm. Mit einem T-Stück wurde der Fluss vor dem Thermodenuder geteilt. Mit einem Ventil V1 vor dem Einlass am Thermodenuder und einem Ventil V2, gekoppelt mit einem Rotameter, konnte das Verhältnis der Flüsse durch den Thermodenuder und den Bypass, der einen Teil des Aerosolstroms am Denuder vorbeiführt, eingestellt werden. Zwischen V1 und Denudereinlass befand sich ein Y-Stück, an dem ein Teilstrom zum SMPS Messsystem abgezweigt werden konnte. Nach dem Thermodenuder wurde über ein Y-Stück ein Teil des Aerosolstroms abgezweigt. Dieser wurde durch eine Palas Verdünnungsstufe VKL10 erzeugt und betrug circa 3 lpm. Die Kontrolle erfolgte durch ein Rotameter. Nach der Verdünnungsstufe entnahm ein SMPS (DMA 3071 mit CPC 3025, Impaktor 0.0508 cm,  $t_d = 3.7$  s, Sheathflow 10

lpm) 1 lpm Aerosolstrom. Die Scan-Up-Zeit war mit 120 s, die Retracezeit mit 30 s eingestellt. Die Retracezeit wurde für jede Messung solange verlängert, bis die Partikelanzahl im SMPS-System nach einem Scan als Null angezeigt wurde (bis zu 240 s). Der Aerosolstrom des Bypass wurde nach der Abzweigung zur Verdünnungsstufe am Ende des Denuders zugeführt und dem Abzugssystem zugeleitet. Der Thermodenuder wurde bei 52 °C betrieben. Das SMPS wurde abwechselnd vor und nach dem Thermodenuder eingesetzt. Für drei verschiedene Durchflüsse durch den Denuder wurden die Größenverteilungen gemessen.

Die Teilströme V1 und V2 wurden mit einem Seifenblasenzähler (Gilibrator) kontrolliert.

### 3.5 Filtersammler

Um Filterproben mit atmosphärischem Aerosol zu erhalten, wurden verschiedene Systeme eingesetzt. Als Hochdurchsatz-Filtersammler (high volume) kam das Gerät Digital DHA80 (Riemer Messtechnik) zum Einsatz. Das Gerät ist ein stand-alone Instrument für den Außeneinsatz mit programmierbarer Zeitsteuerung, Protokolldrucker, Druck- und Temperatursensor, Durchflusskontrolle, Heizung und automatischem Wechsler für bis zu 12 Filter. Es ist mit einem PM2.5-Probenahmekopf ausgestattet. Als Filter wurden Quarz- (Munktell MK360) und Glasfaserfilter (Macherey-Nagel, MN85/90BF) mit 150 mm Durchmesser verwendet. Das Gerät arbeitet mit 500 lpm Durchfluss, der über eine Lichtschranke an einem Rotameter im Gerät in Abhängigkeit der Höhe über dem Meeresspiegel eingestellt und geregelt wird. Probenahmekopf und Elektronik wurden im Winter beheizt. Die Temperatur des Aerosolstroms, Luftdruck und Filterbeprobung wurde mittels Protokolldrucker aufgezeichnet.

KleinfILTERGERÄTE (Typ GS050) der Firma Ingenieurbüro Purucker (Berlin) mit einem maximalen Durchfluss von 2.5 m<sup>3</sup>h<sup>-1</sup> kamen ebenso zum Einsatz. Diese konnten mit passenden Probenahmeköpfen wahlweise für Gesamtstaub (TSP, total suspended particle matter) oder PM10 oder PM2.5 benutzt werden. Als Filter wurden Glasfaserfilter (Macherey-Nagel, MN85/90BF) mit 47 mm Durchmesser verwendet.

Die Filter wurden bei 300 °C für 12h in einer Aluminiumschale im Muffelofen ausgeheizt und anschließend im Trockenexsikkator über Blaugel getrocknet. Zur Wägung wurden die Filter 48h in einem Feuchteexsikkator (gesättigte Kaliumcarbonat-Lösung, 45 % rH) äquilibriert, anschließend auf einem Metallgitter in einer Waage von Mettler Toledo (AT261 DeltaRange) gewogen. Die Filter wurden vor und nach der Beprobung wieder im Trockenexsikkator getrocknet. Anschließend wurde wieder im Feuchteexsikkator äquilibriert und gewogen. Nach der nachfolgenden Trocknung wurden die Proben dann bis zur Analyse eingefroren.

### 3.6 Atmosphärische Probenahme

Für den grundlegenden Aufbau des ELPI-Messsystems siehe Abbildung 3.1. Eine externe Scrollpumpe ist über ein Faltenbalgventil, einem Druckschlauch und einem Absperrhahn an den Outdoor ELPI angeschlossen. Ein Tygonschlauch (R3603, Länge 0.5 m, I.D. 3/8“) verbindet den Einlass am ELPI mit dem Ausgang der Befeuchterkammer. Am Aerosoleinlass der Befeuchterkammer führt ein weiterer Tygonschlauch zum Ansaugstutzen, der auf die Außenseite des Messgebäudes führt.

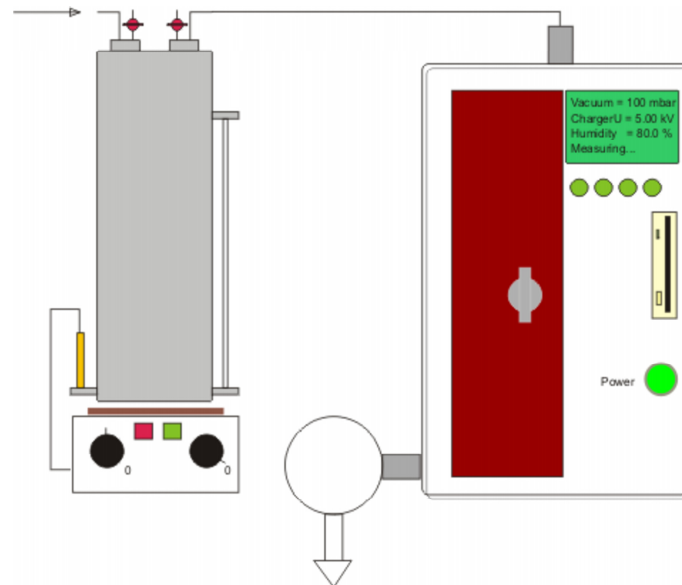


Abbildung 3.1: Grundlegender Aufbau des Outdoor-ELPI-Messsystems. Die Befeuchterkammer steht auf dem Heizer. Beide sind über ein Regelthermometer miteinander verbunden. Ein Tygonschlauch verbindet den Aerosoleinlass am ELPI mit dem Auslass an der Kammer. Bei dem Pfeil wird die Verbindung zum Aerosolgenerator (im Labor) oder zur Außenluft hergestellt.

Dieser Aufbau befindet sich immer innerhalb eines Gebäudes und ist für nahezu alle Messungen gleich und hat sich nach vielen Laborexperimenten und Messkampagnen entwickelt. Die weiteren Verbindungen und Aerosoleinlässe variieren im folgenden je nach Probenahmeort.

#### 3.6.1 Städtische Proben (München)

Die Probenahme in München, Stadtteil Großhadern, wurde vor dem Institut in einem der Außen-Messcontainer durchgeführt. Das Institut befindet sich im Westen Münchens, am Stadtrand. Es steht auf dem Gelände des Klinikums Großhadern, durch das vergleichs-

weise wenig, aber regelmäßig Verkehr fließt und das mit Grünfläche versehen ist. Der Container verfügte bereits über einen 4 m hohen Stahl-Probenahmestutzen (O.D. circa 8 cm, I.D. 5 cm) mit Ventilator. Der Einlass befand sich oberhalb des Messcontainers und am unteren Ende waren Schlauch-Anschlüsse für mehrere Messgeräte vorhanden. Ein 1.5 m langer Tygonschlauch (3/8" I.D.) führte den Aerosolfluss von 30 lpm zum Einlass der Befeuchterkammer des ELPI-Messaufbaus. Das SMPS-System (TSI 3936) wurde über einen Tygonschlauch (1/4" I.D.) mit dem Probenahmestutzen verbunden. Das SMPS System wurde wahlweise mit einem kurzen (nanoDMA) und einem langen (longDMA) DMA (differential mobility analyzer) bei verschiedenen Durchflusseinstellung betrieben. Je nach Aufbau konnten damit verschiedene Größenbereiche der Partikelverteilung gemessen werden.

### 3.6.2 Ländliche Proben (Hohenpeißenberg)

Das meteorologische Observatorium Hohenpeißenberg (MOHp) befindet sich auf dem Hohenpeißenberg bei Weilheim (47°48' N, 11°07' E) ungefähr 980 m über N.N. in einer ländlichen Region. Es ist umgeben von Wäldern und Wiesen. Je nach Windrichtung wird das Aerosol mehr städtisch oder ländlich bestimmt. Das MOHp gehört zum Global-Atmosphere-Watch-(GAW)-Programm und wird vom Deutschen Wetterdienst (DWD) betrieben. Das ELPI-Messsystem befand sich im 4. Stock des Gebäudes. Als Aerosoleinlass wurde ein Aluminiumtrichter an ein Stahlrohr (3-4 m Länge, O.D. 3/8") aufgesetzt und mit der Öffnung nach unten in circa 1 m Abstand von der Außenmauer positioniert. Ein kurzes Stück Tygonschlauch verband das Stahlrohr mit dem Aerosoleinlass an der Befeuchterkammer.

Der High-Volume-Filtersammler (Digitel DHA80) wurde auf der Dachterrasse ein Stockwerk höher angeschlossen.

### 3.6.3 Alpine Proben (Zugspitze)

Das Schneefernerhaus befindet sich auf der Südseite der Zugspitze (2964 m N.N.) circa 310 m unterhalb des Gipfels. Die benutzten Messräume und Außenterrassen befanden sich im 5. Stock des Gebäudes. Im Abstand von 0.5 m von der Außenmauer und 2 m über dem Boden befanden sich die trichterförmigen Probenahmeköpfe, die keine Funktion als Vorabscheider hatten, sondern nur Schnee und Eis abschirmen sollten. Ein Tygonschlauch (1.5 m, 3/8" I.D.) verband die Einlässe mit der Wanddurchführung, 2 m Stahlrohre (O.D. 3/8").

Im Inneren des Labors führte 1 m Tygonschlauch den Aerosolstrom zum Einlass an der Befeuchterkammer des ELPI-Aufbaus. Die Impaktorstufen des Outdoor ELPI waren über den ganzen Messzeitraum gefettet.

Das DMPS (differential mobility particle sizer) wurde getrennt vom ELPI angeschlossen. Mittels einer externen Pumpe wurde der Aerosolstrom mit einem hohen Durchfluss

(circa 10 lpm) bis zum DMPS geführt und mit einem Y-Verbinder getrennt. Das DMPS bestand aus einem langen DMA (TSI 3071) und einem Kondensationskernzähler (CPC, condensation particle counter) TSI 3025. Es wurde zeitweise mit 10 lpm Schleierluft und 1 lpm Aerosolfluss bzw. 3 lpm zu 0.3 lpm betrieben.

Sowohl Kleinfiltergeräte (Ingenieurbüro Purucker) als auch der High-Volume-Filter-sammler (Digital DHA80) kamen zum Einsatz.

## 3.7 Modell-Aerosolproben

### 3.7.1 Natriumchlorid

Bei den ersten Laborexperimenten mit dem neuen Outdoor ELPI wurden verschiedene Aerosole mittels eines Querfluss-Verneblers (crossflow-nebulizer) aus einer Lösung mittels eines Stickstoffstroms erzeugt. Der Stickstoffstrom von 4 L/min leitete das Aerosol durch einen Diffusionsabscheider, der, mit Blaugel gefüllt, Wasserdampf aus dem Aerosolstrom abgezogen hat. Das Aerosol wurde über einen 1 m langen Tygonschlauch (3/8" I.D.) zu einer Mischkammer geleitet und mit gefilterter Druckluft gemischt. Aus der Leitung dieses Gesamtstroms erfolgte dann mit einem SMPS (TSI, Modell 3071 mit CPC 3025) und dem Outdoor-ELPI die Probenahme. Das SMPS wurde mit 3 L/min Schleierluft und 0.3 L/min Aerosolfluss betrieben. Zur Aerosolerzeugung wurden wässrige Lösungen von Natriumchlorid (0.1%) verwendet.

### 3.7.2 Ruß

Zur Messung von Modellruß mit dem ELPI-Messsystem (Abbildung 3.2) wurde ein Palas-Rußgenerator (Modell GfG1000) verwendet. Dieser erzeugte durch Funkenüberschlag zwischen zwei Kohleelektroden Rußpartikel breiter Größenverteilung, die durch einen Argonstrom (4 L/min) abtransportiert wurden. Ein Glaskolben diente als Zwischenreservoir. Der Rußaerosolfluss wurde durch Rotameter geleitet und mittels einer Schlauchklemme ein Überschussstrom abgelassen. Ein Tygonschlauch führte den verbleibenden Rußaerosolstrom zur Befeuchterkammer. Vor dem Einlass der Kammer wurde über ein Y-Verbindungsstück Raumluft durch einen Absolutfilter zwecks Verdünnung zugemischt. Am Ausgang der Befeuchterkammer war ein SMPS-System mit langem DMA und Partikelzähler 3025 (TSI SMPS Modell 3936 L25) sowie der Outdoor ELPI angeschlossen. Die Befeuchterkammer wurde beheizt, so dass sich circa 80% relative Luftfeuchte im Aerosolstrom einstellten. Die Substrate im Impaktor waren nicht gefettet. Das SMPS wurde mit 3 L/min Schleierluft und 0.3 L/min Aerosolfluss betrieben.

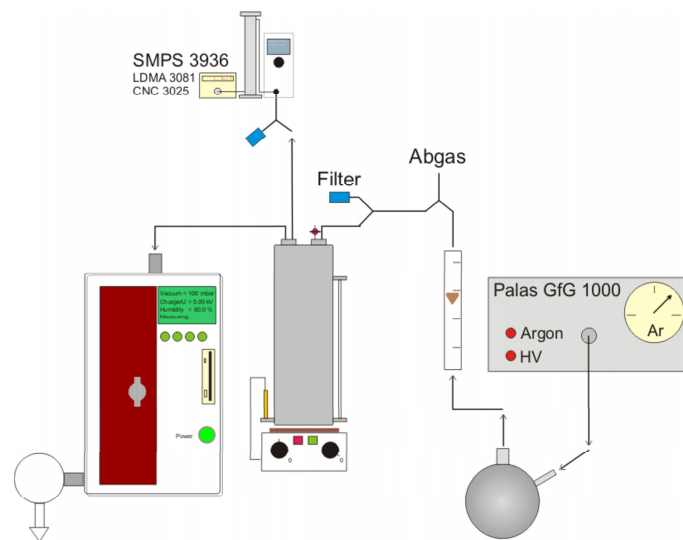


Abbildung 3.2: Aufbau des Outdoor ELPI-Messsystems im Labor. Die Befeuchterkammer steht auf dem Heizer. Beide sind über ein Regelthermometer miteinander verbunden. Am Ausgang der Befeuchterkammer sind die Messgeräte (SMPS, ELPI) angeschlossen. Hier wird Verdünnungsluft durch die Ansaugung gefilterter Raumluft zugeführt und nicht aktiv über Druckluft.

### 3.7.3 Meersalz

An der Universität Bayreuth wurden Messungen an einem Simulationsreaktor für Aerosolzeugung aus bewegtem Meerwasser durchgeführt. Der Reaktor bestand aus einem Stahlzylinder mit trichterförmigen Boden und Deckel (Anhang 8.8). Im Boden befand sich der Wasserauslass und eine Vorrichtung, mit der durch eine runde Membran durch Poren Pressluft in das Wasser eingeblasen werden konnte. Am Deckel befand sich an der Trichterspitze ein kreuzförmiger Flansch und ein T-förmiger aufgesetzter Klein-Flansch zum Anschluss der Messgeräte sowie der Auslass für den Überdruck im Reaktor. Im Deckel eingelassen war ein Schauglas sowie eine zuschaltbare Beleuchtung. Am Kessel befand sich ein Hahn zur Wasserprobenahme sowie ein Steigrohr, um den Füllstand abzulesen und ebenfalls ein Schauglas. Die Pressluft wurde mit einem Ölabscheider, einem HEPA-Aktivkohlefilter und einem HEPA-Filter vor dem Einleiten in den Reaktor gereinigt. Der Volumenstrom der Druckluft konnte mit einem Mikrokontroller gesteuert und über Gasuhren abgelesen werden. Als Messgeräte kamen das Outdoor-ELPI-Messsystem, ein Berner-Niederdruckimpaktor, ein LAS-X und ein Filterhalter mit externer Pumpe und Gasuhr zur Partikelprobenahme zum Einsatz.

Die scheinbare Selbstverständlichkeit, dass Druckluft und das leere System keine Partikel enthalten, wurde für jedes Experiment überprüft.

Im Experiment Bayreuth01 wurde der Reaktor mit 250 L Leitungswasser befüllt (Füllhöhe 2/3), einige Stunden bis zur Äquilibrierung begast und dann der Druckluftstrom von 3.8 auf  $10 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  gesteigert. Die Messung mit dem ELPI erfolgte mit gefetteten Substraten.

Im Experiment Bayreuth02 wurde schrittweise bis 200 mg Tensid (LAS, Dodecylbenzoylsulfonat) zum Leitungswasser zugesetzt und die Partikeldaten bei ansteigendem und fallendem Druckluftstrom gemessen. Die ELPI Substrate waren gefettet. LAS ist ein anionisches Tensid, das in Waschmitteln verwendet wird, und durch das Abwasser in die Umwelt gelangt. Als oberflächenaktive Substanz, mit vielen homologen Verbindungen, kann es die Aerosolbildung aus Meerwasser beeinflussen.

Im Experiment Bayreuth03 wurde der Reaktor mit 250 L Leitungswasser gefüllt und 8.75 kg synthetisches Meersalz zugesetzt, so dass sich eine Salzkonzentration von 35 g/L ergab. Die Partikeldaten wurden bei verschiedenen Belüftungsraten gemessen. Die ELPI Substrate waren wieder gefettet. Am Ende des Experiments wurden noch 200 mg LAS zugesetzt.

Im Experiment Bayreuth04 wurde der Reaktor wieder mit der 35 g/L Meersalzlösung gefüllt und Analytzusätze aus Styrol und polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAKs) zugegeben. Die ELPI-Substrate waren diesmal ungefettet, der Aerosolstrom wurde befeuchtet.

Im Experiment Bayreuth05 wurde zusätzlich zum Experiment Bayreuth04 200 mg LAS zugesetzt.

Das synthetische Meersalz enthält eine Vielzahl von Komponenten, wie Salze und Vitamine. Die genaue Auflistung der Inhaltsstoffe ist im Anhang 8.9 gegeben.

## 4 Ergebnisse der Cellulose und Glucose-Analytik

Zunächst werden die verschiedenen Methoden zur quantitativen Erfassung von Zuckern, wie Levoglucosan, Glucose, Cellobiose, die hier Verwendung gefunden haben, bewertet. Es findet eine Erläuterung zu Kriterien wie Nachweisgrenze, Linearität des Kalibrierbereichs, Störfaktoren und Anwendbarkeit statt. Dem Kapitel wird folgende Definition vorangestellt: Die Nachweisgrenze wird in der Regel aus der dreifachen Standardabweichung aus Reagenzien-Blindproben (WBW) bestimmt, die kein Proben-Trägersubstrat wie Filter enthalten. Zusätzlich bestimmte Filter-Blindwerte (FBW) sind ebenfalls angegeben.

### 4.1 Bewertung der analytischen Methoden

#### 4.1.1 Zeitverlauf der enzymatischen Glucose-Nachweisreaktion

Der Glucose-Nachweis im UV/Vis-Spektrophotometer nach Boehringer-Mannheim zeigt durch die ablaufende Glucose-Derivatisierungsreaktion eine zeitliche Abhängigkeit. Zur Messung der Zeitdauer der Reaktion wurde eine PMMA-Makro-Küvette mit dem Reaktionspuffer (1.0 mL) und einem 10 mg/L D-Glucose-Standard (2.0 mL) gefüllt. Die Absorptionmessung der Lösung erfolgte bei 340 nm gegen Luft. Nach Zugabe der Reaktionsenzyme (20  $\mu$ L) wurde die Aufzeichnung der Absorption gestartet. Die Abbildung 4.1 zeigt den gemessenen zeitlichen Verlauf.

Man sieht, dass die Reaktion in der Standardlösung innerhalb von 3 Minuten beendet ist, das heißt, dass die Absorption, also die Menge des gebildeten NADPH, nicht mehr zunimmt. Aufgrund des hohen Probendurchsatzes wurde die empfohlene Reaktionszeit von 10 Minuten auf 5 Minuten gesenkt. Bei der Messung von einigen Realproben jedoch musste das Ende der Absorptionzunahme abgewartet werden.

#### 4.1.2 Varianten des enzymatischen Glucose-Nachweises

Die beiden Varianten des enzymatischen Glucosetests von Boehringer-Mannheim nach der Originalvorschrift und der Abwandlung als Halbmikro-Version wurden untersucht und bewertet. Dazu wurden Glucosestandards von 0 bis 40 mg/L sowohl in Makro- als



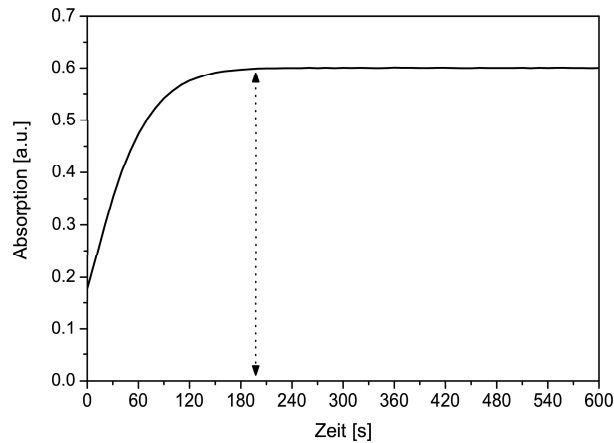


Abbildung 4.1: Zeitliche Absorptionzunahme eines Glucose-Standards während der Derivatisierungsreaktion im Enzymtest-Kit von Boehringer-Mannheim. Messung bei 340 nm alle 10 Sekunden. Nach 180 Sekunden ist die Derivatisierungsreaktion bei einem 10 mg/L Glucose-Standard vollständig abgelaufen.

auch in Halbmikroküvetten vermessen. Die Makroküvetten fassen 3.0 mL, die Halbmikro-Variante nur 1.5 mL Volumen. Von Kunit und Puxbaum wurden die Puffer und Probevolumina der Enzymtestvorschrift jeweils halbiert. Zu jeder Messreihe wurde als Blindwert deionisiertes Wasser in sechs Messreihen vermessen.

Die Tabelle 4.1 fasst die Resultate der Kalibrierungen beispielhaft zusammen. Die Steigungen und Achsenabschnitte der Kalibriergeraden variieren um wenige Prozent. Die Steigung zeigt eine extrem flache Gerade, wodurch eine Kalibrierung über zwei Zehnerpotenzbereiche möglich ist. Folglich unterscheiden sich die beiden Varianten des Boehringer-Mannheim Glucosetests außer anhand der Probenmengen nicht wesentlich und liefern somit eine stabile Kalibrierbasis.

Tabelle 4.1: Vergleich der Makro- mit der Halbmikro - Variante des Glucose-UV-Tests von Boehringer Mannheim. Die beiden Methoden sind in der Nachweisstärke und Linearität gleichwertig und über Monate stabil.

	Makro	Halbmikro
Kalibrierung	$y = 0.0241 \cdot x + 0.0061$	$y = 0.0230 \cdot x + 0.0078$
Nachweisgrenze	0.5 mg/L	0.6 mg/L

### 4.1.3 Chromatographische Trennungen

Zu Beginn dieses Kapitels der chromatographischen Analyse von Kohlenhydraten wird der BioLC von Dionex als zentrales System vorgestellt. Im Hinblick auf die später zu diskutierenden Ergebnisse wird hier auf die Problematik im Umgang mit dem BioLC eingegangen. Die Originalkonfiguration des BioLC wurde in der Zeitspanne dieser Arbeit verändert. Die Standardvorsäule CarboPac PA100G wurde Anfang April 2002 durch die AminoTrap-Vorsäule ausgetauscht. Diese AminoTrap-Vorsäule hält Aminosäuren, die in den Proben enthalten sein können, zurück, so dass deren Detektorsignale nicht mit den zu quantifizierenden Kohlenhydraten überlagern. Die Präparation der Laufmittel für den BioLC wurde hinsichtlich Konzentration und Sterilfiltration geändert. Das gepulste Elektrodenpotential des elektrochemischen Detektors wurde von vier auf drei Spannungsstufen reduziert.

Der folgende Abschnitt fasst die Ergebnisse der Kalibrierung des Systems unter den verschiedenen, ausgewählten Bedingungen zusammen und zeigt die Probleme beim Langzeiteinsatz des Gerätes auf. Da das Detektionssignal jedoch von der Natronlaugekonzentration bzw. allgemein von der Ionenkonzentration des Laufmittels abhängt, ist eine isokratische Zusammensetzung der Laufmittel mit konstanter Natronlaugekonzentration einem Gradienten, wenn möglich, vorzuziehen. Die Untergrenze der Natronlaugekonzentration, mit der noch reproduzierbar gearbeitet werden kann, liegt laut Angabe des Dionex-Applikationslabors bei 50 mM Natronlauge. Diese Konzentration reicht nach Angaben des Dionex-Applikationslabors auch zur Trennung der gängigen, dicht aufeinanderfolgenden Zuckermonomere aus.

Die Tabelle 4.2 zeigt die Ergebnisse der Kalibrierung des BioLC für die D-Glucose-Standards. Die Tabelle enthält nur einen Auszug aus drei Jahren Kalibrierergebnissen. Zu jeder Probenreihe wurde vor, nach und während des Durchlaufs der Proben kalibriert.

Zu Beginn, als der BioLC erst einige Monate in Betrieb war, ergab sich bei Zuckergemischen eine gute Peaktrennung bei 100 mM Natronlauge (siehe Abbildung 4.2). Die gleiche Lösung, an verschiedenen Tagen vermessen, ergab jedoch unterschiedliche Kalibriergeraden, bei denen die Steigung zwischen 2 und 7 nC\*min\*L/mg variierte, der Achsenabschnitt aber gleich blieb. So ist der Blindwert jeweils relativ gering, die Empfindlichkeit und damit die Nachweisstärke für Glucose aber extremen Schwankungen unterworfen. Auch die Retentionszeit veränderte sich im Vergleich zu chromatographischen Systemen sehr stark, auch wenn man berücksichtigt, dass der Einbau der AminoTrap-Vorsäule die Retentionszeit der Analyten zunächst erhöhte. Wenigstens innerhalb eines Tages blieb die Retentionszeit relativ stabil und schwankte nur minimal, um weniger als 0.1 min. Ein möglicher Grund für eine kontinuierliche Änderungen der Retentionszeit über einen langen Zeitraum hinweg kann die Alterung der verwendeten Trennsäule sein. Dabei belegt sich die Oberfläche des trennaktiven Materials mit Substanzen. Die Analyten werden dadurch schlechter retardiert und die Retentionszeit verkürzt sich. Durch

Spülen der Trennsäule mit Säuren konnte das Säulenmaterial immer wieder nachweislich gereinigt werden. Gegen Mitte 2003 verschlechterte sich die Trennleistung der CarboPac-PA100-Säule jedoch so sehr, so dass weitere Messungen nicht möglich waren.

Grundsätzlich wurde immer wieder versucht, eine Probenserie innerhalb eines Tages durch den BioLC zu analysieren, um verlässliche Ergebnisse zu erhalten. Auch wurden die Proben oft zusätzlich mit Standardaddition gemessen werden, um Peaks identifizieren zu können.

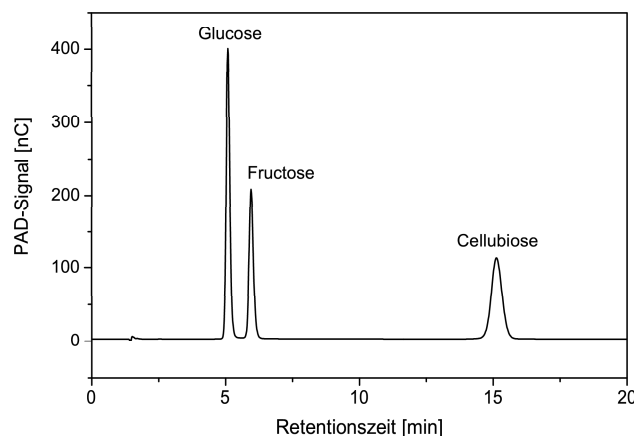


Abbildung 4.2: BioLC-(HPAEC-PAD)-Chromatogramm einer Standardmischung von Glucose, Fructose und Cellubiose (je 10 mg/L) bei 100 mM Natronlauge isokratisch (18.09.2001). Cellubiose wird als Dimer gegenüber den beiden Monomeren Fructose und Glucose verzögert.

Um weitere Monomere voneinander trennen zu können, wurde Ende 2001/Anfang 2002 die Natronlaugekonzentration soweit herabgesetzt, dass eine maximale Trennleistung erwartet werden konnte. Dies spiegelt sich in der verlängerten Retentionszeit für Glucose wider, die um 2 bis 2.5 Minuten zugenommen hat (Februar bis März 2002 in Tabelle 4.2). Die Steigung bewegte sich im Februar bis Juni 2002 um den Wert  $3 \text{ nC} \cdot \text{min} \cdot \text{L} / \text{mg}$ , der Offset schwankte im Gegensatz zu vorher deutlich. Die Peakbreite vergrößerte sich von rund 0.25 auf 0.46 Minuten bei Glucose, basisgetrennt von anderen Signalen. Im Juli 2002 fiel die Steigung der Kalibriergeraden unter den Wert 1. Anfang 2003 wurden dann Reinigungsversuche mit der Trennsäule unternommen. Die Retentionszeit und Signalantwort des Glucosestandards veränderte sich jedoch ebenso innerhalb der Sequenzen, wie auch zwischen den Messsequenzen. Die Trennsäule konnte nicht mehr verwendet werden.

Die Abbildung 4.3 zeigt die Kalibrierung für Glucose als Einzelstandard und im Gemisch mit Xylose vom 15.2.2002 unter Verwendung von 50 mM Natronlauge als Lauf-

mittel. Dabei konnte die Trennung im Vergleich zum Lauf mit 100 mM Natronlauge verbessert werden. Trotzdem überlappten die Peaks noch immer und waren nicht basisliniengetreunt. Dadurch unterschieden sich entsprechend die Kalibriergeraden innerhalb einer Tagesmessreihe (Tabelle 4.3).

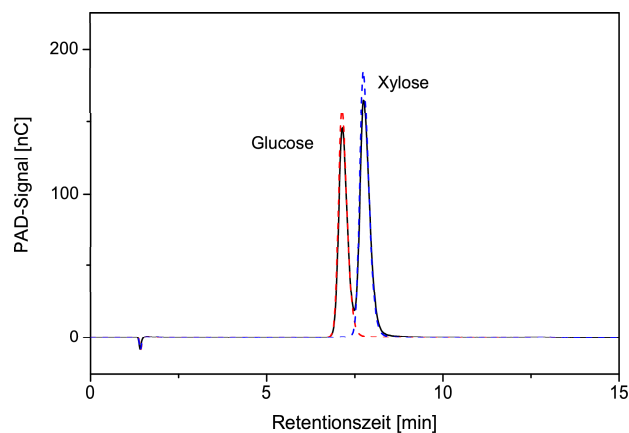


Abbildung 4.3: BioLC-(HPAEC-PAD)-Chromatogramm einer Standardmischung von Glucose und Xylose (schwarz) sowie der Einzelstandards (rot, blau) mit jeweils 15 mg/L bei 50 mM Natronlauge isokratisch. Glucose- und Xylose-Peaks sind nicht vollständig basisliniengetreunt.

Zu Beginn der ersten Hydrolyseexperimente wurden fertige Proben auch mit HPLC-UV und BioLC simultan vermessen, um eine Vergleichbarkeit der beiden Methoden zu erhalten. Die Tabelle 4.4 zeigt Ergebnisse von Modell-Filterproben, jeweils mit 500- $\mu$ g-Glucose- oder Cellulose-belegten Filtern, die einmal mit nur Cellulase und einmal mit der Kombination von Cellulase und Cellubiase hydrolysiert wurden.

Vordergründig zeigt die HPLC-UV-Methode niedrigere Wiederfindungsraten. Dabei befand sich sowohl die BioLC- als auch HPLC-UV-Methode noch in der Entwicklungsphase. Später wurde die HPLC-UV für die Analyse von Aminosäuren eingesetzt und eine detaillierte Vergleichsmethodik nicht wieder aufgegriffen. Die Derivatisierung, die für die HPLC-UV-Analyse notwendig ist, weist bei der Analyse von Realproben den Vorteil auf, dass eine Trennung des Analyten von den Matrixkomponenten erfolgt. Die Analyseergebnisse zeigen, dass beide instrumentelle Techniken gleichwertig sind.

Tabelle 4.2: Kalibrierung des BioLC-Systems mit Glucose bei isokratischer Laufmittelzusammensetzung. NaOH = Natronlauge, RT = Retentionszeit, Steigung und Achse sind die zwei Parameter der berechneten Kalibriergerade. Datum zeigt Jahr/Monat/Tag. Ab April 2002 wurde das System mit AminoTrap-Vorsäule verwendet. Man kann signifikante Schwankungen der Kalibrierungen über die Zeit erkennen. Ab Mitte 2002 fiel die Steigung der Kalibriergeraden ab. 2003 wurden verschiedene Reinigungsverfahren benutzt, um die Trennsäule zu reinigen.

Datum	NaOH mmol/L	RT min	Steigung nC min L mg <sup>-1</sup>	Achse nC min
2001 09 11	100	4.5	1.93	-0.07
2001 09 18	100	5.1	7.22	0.00
2001 09 25	100	4.7	5.28	0.05
2002 02 15 a	50	7.1	3.13	0.37
2002 02 15 b	50	7.2	2.85	-0.10
2002 02 27	50	7.0	2.96	2.14
2002 03 27	50	6.6	3.08	0.24
2002 04 15	50	8.9	2.99	0.33
2002 05 14	50	8.9	2.74	0.14
2002 06 11	50	8.5	2.98	0.21
2002 07 22	50	7.7	0.94	-0.05
2002 08 21	50	8.1	0.77	0.03
2003 04 23	50	5.0	4.87	9.20
2003 05 13	50	5.6	8.20	6.93
2003 05 19 a	50	4.7	4.18	2.65
2003 05 19 b	50	5.6	6.46	6.92
2003 05 23	50	5.7	4.91	7.71

Tabelle 4.3: Eintages-Kalibrierung des BioLC-Systems mit Glucose/Xylose bei isokratischer Laufmittelzusammensetzung (50 mM Natronlauge), RT = Retentionszeit, Steigung und Achse sind die zwei Parameter der berechneten Kalibriergeraden. Glucose- und Xylose-Peaks sind im Chromatogramm nicht vollständig basisliniengetrennt.

	RT min	Steigung nC min L mg <sup>-1</sup>	Achse nC min
Glucose (einzeln)	7.1	3.13	0.37
Xylose (einzeln)	7.8	3.87	0.33
Glucose (Mischstandard)	7.2	2.85	-0.10
Xylose (Mischstandard)	7.8	3.73	0.02

Tabelle 4.4: Vergleich der chromatographischen Analyse von Modellfilter-Hydrolysaten mit HPLC-UV und BioLC. Die Modellfilter waren mit 500  $\mu\text{g}$  Glucose bzw. Cellulose belegt. Alle Angaben in  $\mu\text{g}$ . Beide Methoden zeigten schon in der Entwicklungsphase gute Übereinstimmung.

	BioLC	HPLC-UV
nur mit Cellulase inkubiert		
Glucose	427	385
Glucose	455	502
Cellulose	405	399
mit Cellulase und Cellubiase inkubiert		
Glucose	406	328
Glucose	399	407
Cellulose	466	320
Cellulose	359	306

#### 4.1.4 Aufreinigung von Enzymen

Die zur Aufreinigung der Cellulasen und Cellubiasen angewendete Größenausschlusschromatographie wurde mit Entsalzer-Säulen (PD10) der Firma Amersham Biosciences durchgeführt. Diese enthalten Sephadex-G-25-Gel, das auf mit Dextran quervernetzter Agarose basiert. Vor dem Aufbringen der Enzyme wurden die Säulen mit mindestens 25 mL Puffer gespült. Als Laufpuffer wurde der Inkubationspuffer, 50 mM Zitronensäure mit pH 4.8, verwendet. Es wurden die beschriebenen Varianten PD10-A bis PD-10-C zur Aufreinigung der Cellulasen angewendet. Diese unterscheiden sich in der Menge und im Abschnitt des aufgefangenen Eluats.

Die Enzyme wurden anschließend auf die erforderlichen Mengen unter Berücksichtigung des Eluatvolumens verdünnt und bei Hydrolysereaktionen mit und ohne Cellulose auf Substrat und pur getestet. Alle Reinigungsversionen brachten Verbesserungen der Blindwerte im Vergleich zur Verwendung der ungereinigten Enzyme. So wurde der Blindwert des Systems auf bis zu einem Zehntel des ursprünglichen Wertes abgesenkt. Die Wiederfindung der Cellulose wurde dabei im wesentlichen nicht verändert, also nicht erhöht und nicht erniedrigt. Die Tabelle 4.5 gibt einen Überblick über die Ergebnisse von Cellulosehydrolyse-Experimenten auf verschiedenen Substraten.

Tabelle 4.5: Vergleich der enzymatischen Hydrolysen von Cellulose auf verschiedenen Substraten nach Gelchromatographie PD10-C der Enzyme. Hydrolyse über 24h nach Tabelle 3.9. Die Blindwerte sind durch die Aufreinigung sehr niedrig.

Cellulose		
vorgelegt ( $\mu\text{g}$ )	gefunden ( $\mu\text{g}$ )	Wiederfindung (%)
ohne Substrat		
0	$4 \pm 2$	
50	$27 \pm 1$	$46 \pm 3$
100	$56 \pm 7$	$52 \pm 7$
Glasfaserfilter 47 mm, keine Extraktion		
0	$6 \pm 3$	
25	$10 \pm 1$	$27 \pm 5$
50	$32 \pm 9$	$53 \pm 15$
100	$40 \pm 6$	$33 \pm 6$
Aluminiumfolie 25 mm, keine Extraktion		
0	$2 \pm 1$	
50	$25 \pm 4$	$45 \pm 8$
100	$45 \pm 7$	$43 \pm 7$

Bei den Pufferlösungen ohne Cellulose war eine deutliche Verringerung dieser System-Blindwerte zu erkennen. Hier zeigte sich, dass die Blindwerte der Analysen hauptsächlich durch die Enzymlösungen bestimmt sind.

Das Abschneiden der vorderen Lauffront der Enzymlösung in Variante PD10-B brachte eine deutliche Verringerung des Blindwertes ohne nennenswerte Verluste bei der Enzymaktivität, gemessen an der Cellulose-Wiederfindung. Dieses Ergebnis wurde nicht erwartet, da bei der Größenausschlusschromatographie in diesem Fall die Moleküle mit der größten Masse, also die Enzyme, mit der Lauffront ohne Verzögerung kommen sollten. Je nach den chemischen Eigenschaften können aber auch Enzyme in dem Gel etwas retardiert werden. Ist dies nicht der Fall, liegen die Enzyme in den daraus folgenden Reaktionslösungen im starken Überschuss vor, da sonst die Wiederfindung deutlich abgesunken wäre. Möglicherweise wurde aber doch ein kleiner Teil der Enzymmenge abgeschnitten, so dass in der Variante PD10-C das verworfene Eluatvolumen von 2.5 auf 2.25 mL gesenkt wurde.

In der Variante PD10-C wurde sowohl von der Lauffront, als auch von den nachfolgenden Substanzen die Hälfte weniger abgeschnitten. Das Elutionsvolumen verblieb bei 1.0 mL. Möglicherweise kann durch das weitere Verringern des Eluat-Volumens, z.B. auf 0.5 mL der Blindwert noch weiter abgesenkt werden.

Als Ergebnis läßt sich festhalten, dass Sephadex G-25 Material gut zum Aufreinigen der Rohlösungen von Cellulasen und Cellubiasen geeignet ist. Die Enzyme wurden unter den ausgewählten Bedingungen nicht denaturiert. Ohne erkennbare Verluste oder Nebenreaktionen, wie Wechselwirkungen mit dem Säulenmaterial, behielten die Enzyme ihre Aktivität bei. Der Blindwert und auch die Nachweisgrenze der enzymatischen Cellulosehydrolyse konnte mit dem vorgestellten Verfahren wirkungsvoll gesenkt werden.

Die Tabelle 4.6 zeigt den Vergleich zwischen ungereinigtem und gereinigtem Enzym. Die Werte der Wiederfindung unterliegen Schwankungen von bis zu 20%. Durch die Aufreinigung der Enzyme ist die Wiederfindung nicht verbessert, doch sind die Schwankungen der Wiederfindung verringert worden. Zum Beispiel zeigen sich bei rohem Enzym in Cellulosesuspension 48 bis 97%, mit gereinigtem Enzym nur noch 43 bis 59% Wiederfindung.



Tabelle 4.6: Vergleich von Cellulosehydrolyse-Experimenten mit gereinigtem und ungereinigtem Enzym auf verschiedenen Substraten. Die Blindwerte sind in  $\mu\text{g}$  Cellulose angegeben. Die Blindwerte konnten durch die Aufreinigung ungefähr um Faktor 10 gesenkt werden.

vorgelegt $\mu\text{g}$	Cellulose gefunden	
	Enzyme ungereinigt	PD10
	ohne Substrat	
0	$57 \pm 10$	$4 \pm 4$
50	$65\% \pm 10\%$	$46\% \pm 7\%$
100	$48\% \pm 2\%$	$43\% \pm 17\%$
200	$97\% \pm 5\%$	$59\% \pm 19\%$
	Glasfaserfilter 47 mm, keine Extraktion	
0	$57 \pm 10$	$6 \pm 3$
100		$48\% \pm 17\%$
150	$50\% \pm 7\%$	
200		$49\% \pm 15\%$
250	$33\% \pm 15\%$	
	Aluminiumfolie 25 mm, keine Extraktion	
0	$94 \pm 18$	$2 \pm 1$
100	$64\% \pm 12\%$	$31\% \pm 2\%$
200	$58\% \pm 4\%$	$31\% \pm 2\%$
500	$91\% \pm 7\%$	

## 4.2 Methodenentwicklung zur enzymatischen Cellulosehydrolyse

Das Grundproblem der enzymatischen Hydrolyse ist, dass die Menge an einzusetzendem Enzym unbestimmt ist. Daher werden hier die Ergebnisse der ersten Hydrolysen mit unterschiedlichen Enzymmengen im Verhältnis zum Substrat vorgestellt. Verwendet wurden zwei ausgewählte Enzyme, Cellulase von *Trichoderma reesei*, und  $\beta$ -Glucosidase aus Mandeln (Experimente SB48 und SB96). Die Ergebnisse der Verwendung einer konstante Enzymmenge bei unterschiedlicher Substratmenge zeigen Tabelle 4.7 und 4.8. Dabei wurde verglichen, ob mit verlängerter Inkubationszeit ein höherer Hydrolyseumsatz erzielt werden könnte. Die Enzyme wurden in diesem frühen Stadium noch nicht gereinigt.

Tabelle 4.7: Enzymatische Hydrolyse von Cellulose mit Cellulase,  $\beta$ -Glucosidase in Natriumacetatpuffer bei 37°C und 48 Stunden.

Cellulose ( $\mu\text{g}$ )		Wiederfindung (%)	
vorgelegt	gefunden	Probenwert	Mittelwert
ICN			
0	1		
10	4	29	
50	14	27	
100	30	29	
200	62	30	29
nativ			
0	1		
10	5	40	
50	20	38	
100	45	44	
200	86	42	41
mikrokristallin			
0	1		
10	5	38	
50	21	39	
100	45	44	
200	81	40	40

Hier ergibt sich eine mittlere Wiederfindung von  $37 \pm 6$  % bei 48 Stunden Inkubationszeit. Bei 96 Stunden Inkubation erhält man Wiederfindungswerte von  $44 \pm 9$  %. Die

Verdopplung der Inkubationszeit erbringt also keine wesentliche Steigerung der Hydrolyseeffizienz bei konstanter Enzymmenge. Die Abweichung der Wiederfindungswerte ist dabei sehr hoch, während der Umsatz selbst mit unter 50% gering ist.

Tabelle 4.8: Enzymatische Hydrolyse von Cellulose mit Cellulase,  $\beta$ -Glucosidase in Natriumacetatpuffer bei 37°C und 96 Stunden.

Cellulose ( $\mu\text{g}$ )		Wiederfindung (%)	
vorgelegt	gefunden	Probenwert	Mittelwert
ICN			
0	1		
10	7	64	
50	18	35	
100	30	29	
200	67	33	40
nativ			
0	1		
10	5	4	
50	21	20	
100	47	46	
200	90	45	29
mikrokristallin			
0	1		
10	6	48	
50	26	50	
100	49	48	
200	99	49	49

Die zur Cellulosemenge proportionale Enzymzugabe wird in Tabelle 4.9 gezeigt. Dabei wird deutlich, dass die, wie oben zugegebenen Mengen von mindestens 5-9 U je Enzym, die richtige Dosierung darstellen. Im Bereich von  $\mu\text{U}$  Enzym ist kein Umsatz mehr feststellbar. Bei der Dosierung von mU Enzym ist der Umsatz wesentlich geringer als bei den Experimenten mit 5-9 U je Enzym. Folglich wurde bei allen Experimenten die Dosierung von 5-9 U je Enzym beibehalten.

Die Erweiterung der Versuche auf Analyse von Blind-, Modell- und Realfiltern (Versuche „GH“) zeigen die nachfolgenden Tabellen. Diese Filterproben wurden nacheinander wässrig und oxidativ extrahiert. Anschließend wurden alle Extrakte und die Filtrerrückstände mit jeweils 5 U Cellulase und  $\beta$ -Glucosidase im Acetatpuffer bei 37 °C 48 Stunden hydrolysiert. Dabei wurden 5 Blindwert- und 8 Modellfilter analysiert (Tabelle

Tabelle 4.9: Enzymatische Hydrolyse von Cellulose mit Cellulase,  $\beta$ -Glucosidase in Natriumacetatpuffer bei 37°C und 24 Stunden. Die Enzymmenge wurde proportional zur Substratmenge zugegeben. Bei  $\mu$ U Enzym pro  $\mu$ g Substrat ist kein Umsatz mehr feststellbar. Bei der Dosierung von mU Enzym ist der Umsatz wesentlich geringer als bei den Experimenten mit 5-9 U je Enzym. Die bisher eingesetzten Mengen von 5U Enzym pro Probe ergeben dagegen gute Wiederfindungen von Cellulose.

Cellulose ( $\mu$ g)		Wiederfindung
vorgelegt	gefunden	%
10 mU Enzyme je $\mu$ g Cellulose		
0	1	
10	1	0
50	4	7
100	12	11
200	26	13
10 $\mu$ U Enzyme je $\mu$ g Cellulose		
0	0.5	
10	0.4	0
50	0.5	0
100	2	1
200	2	1

4.10). Die Anwendung auf die Realproben aus Großhadern im Juli 2001 zeigt Tabelle 4.11.

Es ergab sich ein Filter-Blindwert von  $15 \pm 10 \mu\text{g}$  Cellulose und eine Wiederfindung von  $42 \pm 13 \%$ . Der Gehalt an Cellulose in den verwendeten Realproben aus Tabelle 3.7 sollte damit effektiv über  $45 \mu\text{g}$  Cellulose betragen. Bei vier von diesen Realproben vom Juli 2001, gesammelt in Großhadern/München, lag ein mittleres beprobtes Volumen von circa  $1900 \text{ m}^3$  vor. Der Cellulose-Mindestgehalt auf die Gesamtfilterprobe umgerechnet würde einer Konzentration von  $24 \text{ ng m}^{-3}$  entsprechen, wenn der gesamte Filter zur Analyse verwendet würde. Da aber immer nur ein Achtel des Filters analysiert wurde, muss dieser Wert achtmal höher liegen. Es müssten also mindestens  $190 \text{ ng m}^{-3}$  Cellulose vorliegen bzw. mehr als 1.5% der PM2.5-Massenbelegung.

Die Tabelle 4.11 zeigt gleichzeitig die Ergebnisse der wässrigen und oxidativen Extrakte sowie der Filtrerrückstände. Alle Mittelwerte der Doppelbestimmung der Filteranalysen waren unterhalb der  $3s_{\text{FBW}}$ -Nachweisgrenze von  $30 \mu\text{g}$  Cellulose. Damit konnte in den letzten zwei Juliwochen im Jahr 2001 im Massenbereich PM2.5 keine Cellulo-

Tabelle 4.10: Erste enzymatische Cellulosehydrolysen auf Faserfiltersubstraten. Filterblindwerte und Modellfilter der Versuchsreihe „GH“. Ergebnisse aus Glucosetest. Es ergab sich ein Filter-Blindwert von  $15 \pm 10 \mu\text{g}$  Cellulose und eine Wiederfindung von  $42 \pm 13 \%$ . Im Vergleich zur Hydrolyse von Cellulose suspendiert in Puffer ohne Filtersubstrat (z.B. Tabelle 4.7) ergibt sich eine ähnliche Wiederfindung und ein wesentlich erhöhter Blindwert.

Probe	Cellulose		
	vorgelegt $\mu\text{g}$	gefunden $\mu\text{g}$	Wiederfindung %
B1	0	29	
B2	0	17	
B3	0	1	
B4	0	15	
B5	0	16	
M1	216	122	49
M2	216	95	37
M3	216	92	35
M4	216	147	61
M5	216	128	52
M6	216	66	24
M7	216	99	29

sekonzentration im atmosphärischen Aerosol über  $190 \text{ ng m}^{-3}$  Cellulose nachgewiesen werden.

Die wässrigen Extrakte der Realproben zeigten pH-Werte von 4.2 bis 6.6.

Die wässrigen Extrakte der Modellfilter zeigten auch durchwegs Cellulose-Werte unterhalb der  $3s_{\text{FBW}}$ -Nachweisgrenze. Die Werte der oxidativen Extrakte waren alle negativ, wodurch sich zeigt, dass die oxidative Extraktion enzymatische Analysen stören kann.

Die meisten Proben wurden sowohl mit dem Glucose-UV-Test, als auch mit dem BioLC vermessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4.12 gegenübergestellt. Die Ergebnisse des BioLC ergeben sich aus der Addition der gefundenen Glucose und Cellubiose. Cellubiose wurde nicht bei allen Proben gefunden. Der Anteil des Glucose-Dimers kann Rückschlüsse auf die abgelaufene Hydrolysereaktion erlauben.

Da bei den Modellfiltern weniger als 10% Cellubiose zu finden war, ergibt sich der Eindruck, dass die Hydrolyse nahezu vollständig ablief. Der berechnete Umsatz nach dem Glucose-UV-Test wurde bereits mit  $42 \pm 13 \%$  festgestellt. Aus den BioLC Daten ergab sich ein Wert von  $45 \pm 9 \%$ . Auch sonst sind die Werte der beiden Methoden durchweg vergleichbar.

Bei den oxidativen Extrakten konnten keine Peaks analysiert werden, da, möglicherweise durch Peroxide oder andere Nebenprodukte bei der Extraktion, der amperometrische Detektor über Minuten je Chromatogramm gestört wurde. Die BioLC-Messung war insgesamt wenig geeignet, die hydrolysierten Proben zu analysieren, da die Methode isokratisch arbeitet und damit nicht nur am Beginn des Chromatogramms eine geringe Trennung erfolgt, sondern auch am Ende, im Bereich der Dimere, Signale aus komplexen Matrizen überlagern konnten. Da keine Derivatisierung vor der ionenchromatographischen Analyse stattfand, waren die Signale der Realproben nicht eindeutig.

Die Abbildung 4.4 zeigt die Werte aus Tabelle 4.12 grafisch gegeneinander aufgetragen. Zumindest für die Modellfilter ergibt sich ein linearer Zusammenhang über einen weiten Bereich. Die Realproben liegen eher im unteren Bereich der Cellulosemenge und zeigen teilweise sehr große Abweichungen zwischen Glucose-Enzymtest und BioLC.

Tabelle 4.11: Erste enzymatische Cellulosehydrolysen auf Faserfiltersubstraten. Realfilter der Versuchsreihe „GH“ vom Juli 2001 aus München. High-Volume-Filterproben, PM2.5. Ergebnisse des Glucosetests. Der Filter-Blindwert betrug  $15 \pm 10 \mu\text{g}$  Cellulose. Je Probe wurden zweimal ein Achtel des Filters analysiert (Doppelbestimmung). Alle Werte in  $\mu\text{g}$  Cellulose.

Probe	wässriger Extrakt	oxidativer Extrakt	Filter
R1	5	6	28
	9	6	32
R2	6	11	31
	5	12	14
R3		8	12
	5	10	44
R4		10	16
	5	7	15

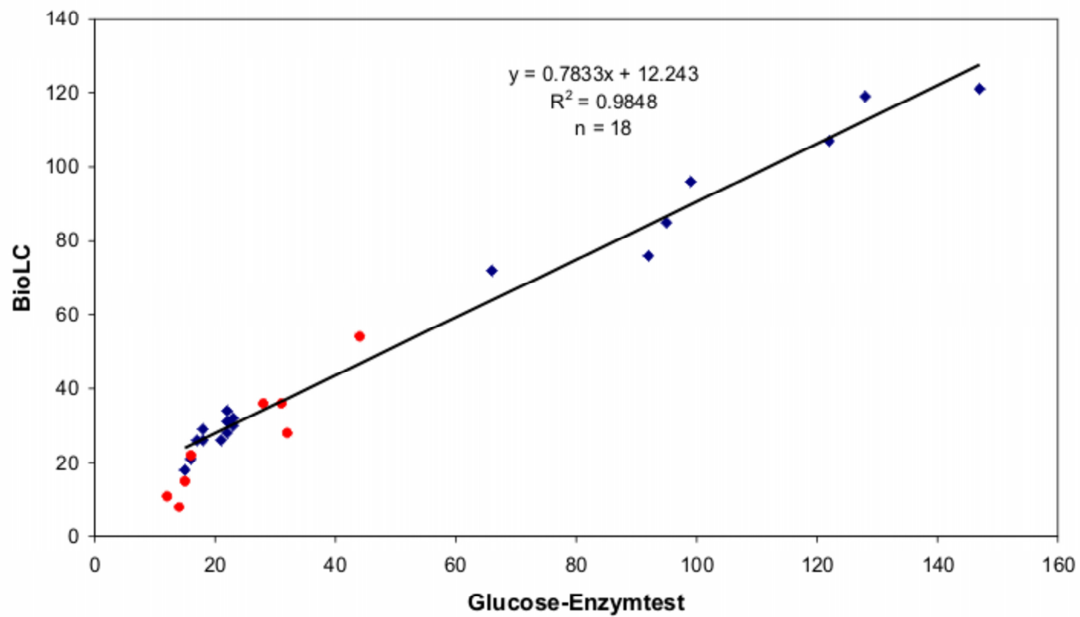


Abbildung 4.4: Gegenüberstellung der Analyseergebnisse von Hydrolyse-Proben im Glucose-UV-Test und BioLC. Die Proben sind Modell- und Realproben aus der Experimentreihe GH. Sie wurden erst wässrig, dann oxidativ extrahiert und anschließend 48h bei 37°C mit Cellulase und  $\beta$ -Glucosidase im Acetatpuffer hydrolysiert. Die x-Achse zeigt die Ergebnisse aus dem Glucose-Enzymtest in  $\mu\text{g}$  Cellulose, die y-Achse die Ergebnisse aus der Analyse mit dem BioLC. Rote Kreise zeigen die Werte der Realproben, blaue Dreiecke die der Modellfilter.

Tabelle 4.12: Gegenüberstellung der Analyseergebnisse von Hydrolyse-Proben im Glucose-UV-Test und BioLC. Die Proben sind Modell- und Realproben aus der Experimentreihe GH. Sie wurden erst wässrig, dann oxidativ extrahiert und anschließend 48h bei 37°C mit Cellulase und  $\beta$ -Glucosidase im Acetatpuffer hydrolysiert.

Probe	UV-Test		BioLC
	Cellulose $\mu\text{g}$	Cellulose $\mu\text{g}$	Anteil Cellubiose %
wässrige Extrakte			
B4	22	34	
B5	17	26	
M1	18	26	
M2	21	26	
M3	22	31	
M4	23	32	
M5	18	29	
M6	22	28	
M7	23	30	
Filter			
B4	15	18	28
B5	16	21	14
M1	122	107	5
M2	95	85	3
M3	92	76	3
M4	147	121	4
M5	128	119	4
M6	66	72	8
M7	99	96	6
R1	28	36	29
	32	28	9
R2	31	36	15
	14	8	0
R3	12	11	27
	44	54	16
R4	16	22	0
	15	15	0



Für die Messreihen AZ2002-1 und AZ2002-2 wurden die Realproben GH 2001-7 und GH 2001-8 (Tabelle 3.7) ohne Extraktion analysiert. Die Ergebnisse der ersten Reihe mit der Filterprobe GH 2001-7 konnten nicht ausgewertet werden, da trotz Standardaddition der Probelösung der Glucosepeak nicht eindeutig identifiziert werden konnte. Die Probe wurde nur mit dem BioLC analysiert. Bei der zweiten Testreihe, zur Analyse der Realprobe GH 2001-8, ergab sich, dass im Chromatogramm des BioLC mehrere Peaks im Bereich des Glucose-Signals übereinander lagen. Auch mit der Reduktion der Laufmittelkonzentration von 100 mM auf 85 mM Natronlauge und Aufstocken der Analyselösungen mit Glucose konnte das Problem nicht behoben werden.

Tabelle 4.13: Enzymatische Hydrolyse der Realprobe Großhadern 2002-8 (Test AZ2002-2) ohne Extraktion. Glucose-Analyse mit Enzymtest. Alle Werte in  $\mu\text{g}$ . Der Filter-Blindwert (FBW) betrug  $4 \pm 1 \mu\text{g}$  Cellulose. Die mittlere Wiederfindung (WF) betrug 44%. Im Mittel ergibt sich für die Probe GH2001-8 ein Cellulosegehalt von 1.5%PM2.5 und  $0.18 \mu\text{g m}^{-3}$ .

Probe	Cellulose			
	vorgelegt	gefunden	Probe-FBW	$8 \times \frac{\text{Probe-FBW}}{WF}$
Pufferlösung	0	0		
Blindfilter	0	5		
Blindfilter	0	3		
Modell50	50	29		
Modell50	50	21		
GH2001-8		12	8	145
GH2001-8		9	5	90

Die Auswertung der BioLC-Messreihe mit der Probe GH2001-8 (Tabelle 4.13) ergab einen Filter-Blindwert von  $4 \pm 1 \mu\text{g}$  Cellulose mit einer  $3s_{\text{FBW}}$ -Nachweisgrenze von  $3 \mu\text{g}$ . Die Wiederfindungsproben ergaben 52% und 37% Wiederfindung. Zieht man von den beiden Werten der Realfilterprobe den Filter-Blindwert ab, multipliziert mit Acht und teilt durch die Wiederfindung erhält man  $145 \mu\text{g}$  und  $90 \mu\text{g}$  Cellulosegehalt für die gesamte Realprobe GH2001-8. Für die Probe GH2001-8 ergibt sich im Mittel bei  $636.347 \text{ m}^3$  beprobtem Volumen und 7.8 mg PM2.5 Beladung 1.5 % von PM2.5 oder  $0.18 \mu\text{g m}^{-3}$  Cellulosekonzentration. Die gefundene Massenkonzentration von Cellulose in der Luft liegt im Bereich der von Kunit und Puxbaum (1996) beobachteten Menge.

In den Proben AZ2002-3, AZ2002-4 und AZ2002-5 wurden eine Vielzahl von Modell- und Realproben (Großhadern 2001, Tabelle 3.7, und Scavex 2001, Tabelle 3.8) untersucht, um mehr Daten über die Hydrolysereproduzierbarkeit, BioLC-Trennleistung, sowie Realproben zu bekommen. Die drei Reihen (Tabellen 4.14, 4.15, 4.16) wurden unter

gleichen Bedingungen mit wässriger Extraktion der Proben durchgeführt. Alle Realproben bis auf SCAVEX 2001-10 und -11 liegen unterhalb des Filter-Blindwertes. Aus dem Filterblindwert lässt sich anhand der beprobten Volumina und unter Berücksichtigung einer mittleren Wiederfindung errechnen, dass die Eintagesproben aus Großhadern weniger als  $0.42 \mu\text{g m}^{-3}$  Cellulose enthalten. Die Mehrtages-Proben vom Schneefernerhaus auf der Zugspitze (SCAVEX) enthalten bei einer mittleren Wiederfindung von 41% weniger als  $0.28 \mu\text{g m}^{-3}$  Cellulose.

Der Filter-Blindwert aus Experiment AZ2002-4 (Tabelle 4.15) ergibt  $12 \pm 2 \mu\text{g}$  Cellulose. Die Nachweisgrenze, berechnet aus der dreifachen Standardabweichung des Blindwertes, ist damit  $6 \mu\text{g}$ , die Wiederfindung 44 %. Die gefundenen Werte der Realproben von der Zugspitze aus dem Jahr 2001 sind alle kleiner als der Filter-Blindwert addiert mit dessen dreifacher Standardabweichung.

Im Anhang 8.6 findet man zu den SCAVEX-Filterprobe 2001-15 und 2001-18 jeweils eine REM-Aufnahme mit Elementspektrum. Die Filterachtel wurden mittels thermochemischer Analyse untersucht. Nach der Verbrennung der kohlenstoffhaltigen Komponenten blieb eine bräunlich-kristalline Färbung auf dem Filter zurück. Diese Färbung stammt möglicherweise von Wüstensand, der gelegentlich bis zur Zugspitze transportiert wird, wobei das Elementspektrum keine abschließende Analyse zulässt, da die Elemente des Sandes, vornehmlich Silizium und Sauerstoff, von denen des Filters nicht unterschieden werden können.

Der Filter-Blindwert aus Experiment AZ2002-5 (Tabelle 4.16) ergibt  $24 \mu\text{g}$  Cellulose. Die Wiederfindung beträgt 36 %. Mit dem Wert der Realprobe SCAVEX 2001-10 ( $2865.467 \mu\text{g m}^{-3}$ ,  $12.5 \text{ mg PM}_{2.5}$ ) abzüglich des Filter-Blindwertes kann man unter Berücksichtigung der Wiederfindung der Modellfilter für den ganzen Filter eine Cellulosekonzentration von  $0.04 \mu\text{g m}^{-3}$  bzw. 0.9 % von  $\text{PM}_{2.5}$  berechnen. Für die Filterprobe SCAVEX2001-11 ( $2858.274 \mu\text{g m}^{-3}$ ,  $6.1 \text{ mg PM}_{2.5}$ ) ergibt sich auf die gleiche Rechenweise eine Cellulosekonzentration von  $0.01 \mu\text{g m}^{-3}$  bzw. 0.4 % von  $\text{PM}_{2.5}$ .

Die enzymatische Hydrolyse von Cellulose mit, durch Größenausschlusschromatographie, aufgereinigten Enzymen wurde auf verschiedene Modellproben in Einzelexperimenten und bei jeder folgenden Analyse von Realproben angewendet.

Die Tabelle 4.17 zeigt die Ergebnisse für Modellproben auf Aluminiumsubstraten, wie sie im Outdoor ELPI verwendet werden. Es ergibt sich ein Substrat-Blindwert (entsprechend dem FBW) von nur  $2.3 \mu\text{g}$ , eine Wiederfindung für  $50 \mu\text{g}$  von 45% ( $22.3 \pm 4.1 \mu\text{g}$ ) und für  $100 \mu\text{g}$  Cellulose von 43% ( $42.8 \pm 7.3 \mu\text{g}$ ). Damit wurde ein sehr niedriger Blindwert, aber in dem maximal zu erwartenden Konzentrationsbereich nur eine relativ niedrige Wiederfindung mit  $45 \pm 8\%$  erreicht.

Zum Vergleich zeigt die nachfolgende Tabelle 4.18 die Werte einer Hydrolyseriehe von Cellulose-Modellproben auf Aluminium mit ungereinigten Enzymen. Die Hydrolyse wurde 48h inkubiert. In der Testreihe nach Tabelle 4.18 ist selbst der Reagenzien-Blindwert ohne Aluminiumsubstrat mit  $66 \pm 9 \mu\text{g}$  bereits sehr hoch, wobei nur Enzyme in Puffer

Tabelle 4.14: Enzymatische Hydrolyse der Realproben Großhadern 2001-3 bis 6 (Test AZ2002-3) mit wässriger Extraktion. Alle Werte in  $\mu\text{g}$ . Der Reagenzien-Blindwert betrug  $6 \pm 5 \mu\text{g}$  Cellulose, der Filter-Blindwert  $19 \mu\text{g}$ , die mittlere Wiederfindung 57%.

Probe	Cellulose	
	vorgelegt	gefunden
wässrige Extrakte		
Pufferlösung	0	2
Blindfilter	0	5
Modell50	0	4
Modell50	0	2
Modell100	0	2
GH2001-3		5
GH2001-4		4
GH2001-5		6
GH2001-6		8
	Filter	
Blindfilter	0	19
Modell50	50	82
Modell50	50	36
Modell100	100	61
Modell100	100	44
GH2001-3		8
GH2001-4		3
GH2001-5		15
GH2001-6		5

Tabelle 4.15: Enzymatische Hydrolyse der Realproben Zugspitze/Scavex 2001-5 und 15 (Test AZ2002-4) mit wässriger Extraktion. Alle Werte in  $\mu\text{g}$ . Der Filter-Blindwert betrug  $12 \pm 2 \mu\text{g}$  Cellulose, die mittlere Wiederfindung 44%.

Probe	Cellulose	
	vorgelegt	gefunden
wässrige Extrakte		
Pufferlösung	0	2
Blindfilter	0	2
Modell50	0	1
Modell50	0	3
Modell50	0	2
SCAVEX 2001-5		2
Filter		
Blindfilter	0	14
Blindfilter	0	10
Modell50	50	31
Modell50	50	39
Modell50	50	32
SCAVEX 2001-5		10
SCAVEX 2001-15		17

ohne weitere Substanzen inkubiert sind. Damit ist deutlich, wie hoch der Einfluss der Enzymreinigung auf den Blindwert ist. Erst die Enzymreinigung ermöglicht eine Spurenanalytik in Bereich weniger  $\mu\text{g}$  Cellulose, da dann die Nachweisgrenze in den einstelligen  $\mu\text{g}$  Bereich sinkt. Die durchschnittliche Wiederfindung in der Testreihe nach Tabelle 4.18 liegt bei 72%.

Die Tabelle 4.19 zeigt die Abhängigkeit der Wiederfindung von Cellulose in Modellproben von der Vorbehandlung und der Extraktion der Proben. Dies ist ein wichtiger Punkt, da eine Extraktion bei den Realproben zur Verminderung störender Einflüsse durch Matrixkomponenten wünschenswert ist.

Die Tabelle 4.19 zeigt mehrere Effekte auf einmal. Sofort auffällig ist, dass nach der wässrigen Extraktion der Filter die Wiederfindung der Cellulose signifikant abfällt, obwohl die Cellulose wasserunlöslich ist. Ein weiterer Effekt ist, dass die Standardabweichung bei 50  $\mu\text{g}$  Cellulose circa doppelt so groß ist wie bei der 100  $\mu\text{g}$  Probe. Zuletzt zeigt sich, dass eine um sechs Stunden (25 %) verkürzte Inkubationszeit keinen deutlichen Einfluss auf die Wiederfindung hat. Da 18 Stunden Inkubation ungünstig zu realisieren sind und aus einer längeren Reaktionszeit kein Nachteil hervorgeht, wurden 24 Stunden

bei den Experimenten bevorzugt. Aus den dreifachen Standardabweichungen der Filter-Blindwerte ergibt sich eine Nachweisgrenze von  $6 \mu\text{g}$  Cellulose absolut. Bei Kleinfiler- bzw. Kurzzeitbeprobung kann bei  $50 \text{ m}^3$  beprobtem Volumen eine Nachweisgrenze von  $0.12 \mu\text{g m}^{-3}$  abgeschätzt werden.

Die Ergebnisse der Experimente führten dazu, dass eine Inkubationszeit von 24 Stunden beibehalten wurde, und die wässrige Extraktion bzw. die Art deren Durchführung als ungeeignet angesehen wurde.

Die Hydrolyse von Cellulose in Suspension ohne Aufbringen auf ein Substrat, wie Filter oder Aluminiumfolie, wird in Tabelle 4.20 dargestellt. Der Reagenzien-Blindwert ist nicht geringer als bei Cellulose auf Substraten, wodurch darauf geschlossen werden kann, dass die Verwendung unterschiedlicher Substrate keine oder nur eine sehr geringe Rolle spielt. So kann z.B. also auch der Blindwert eines 47-mm-Glasfaserfilter für einen 2/8-Bruchteil einer 150-mm-Glasfaserfilterprobe oder eines Quarzfaserfilters verwendet werden. Dies ist nicht als selbstverständlich voranzusetzen, da unterschiedliche Oberflächenarten und Oberflächengrößen durchaus eine chemische Reaktion beeinflussen können, da das Verhältnis der Fläche eines 47-mm-Filters zur Fläche zweier Achtel eines 150-mm-Filters nur 40% beträgt, und die verwendeten Aluminiumfolien nur einen Durchmesser von 25 mm haben.

Tabelle 4.16: Enzymatische Hydrolyse der Realproben Zugspitze/Scavex 2001-2 bis 11 (Test AZ2002-5) mit wässriger Extraktion. Alle Werte in  $\mu\text{g}$ . Der Filter-Blindwert (FBW) betrug  $24 \mu\text{g}$  Cellulose, die mittlere Wiederfindung (WF) 36%.

Probe	Cellulose			$8 \times \frac{\text{Probe-FBW}}{\text{WF}}$
	vorgelegt	gefunden	Probe-FBW	
wässrige Extrakte				
Pufferlösung	0	7		
Blindfilter	0	4		
Modell50	0	3		
Modell50	0	2		
SCAVEX 2001-2		3		
SCAVEX 2001-3		4		
SCAVEX 2001-4		4		
SCAVEX 2001-6		4		
SCAVEX 2001-7		8		
SCAVEX 2001-8		3		
SCAVEX 2001-9		6		
SCAVEX 2001-10		5		
SCAVEX 2001-11		3		
Filter				
Blindfilter	0	24		
Modell50	50	35		
Modell50	50	49		
SCAVEX 2001-2		17	< FBW	
SCAVEX 2001-3		24	< FBW	
SCAVEX 2001-4		21	< FBW	
SCAVEX 2001-6		7	< FBW	
SCAVEX 2001-7		10	< FBW	
SCAVEX 2001-8		21	< FBW	
SCAVEX 2001-9		18	< FBW	
SCAVEX 2001-10		29	5	111
SCAVEX 2001-11		25	1	22

Tabelle 4.17: Enzymatische Cellulosehydrolyse auf Aluminiumfolie. Experiment 23 mit Enzymreinigung auf PD10 Säulen, 1.0 mL Enzymlösung, 2.25 mL Cutvolumen, 1.0 mL Eluat. Hydrolyse in 10 mL Puffer mit 200  $\mu\text{L}$  Enzymlösungen für 24h bei 45°C. Alle Werte in  $\mu\text{g}$  Cellulose. Der Substrat-Blindwert (FBW) beträgt  $2 \pm 1 \mu\text{g}$  Cellulose.

vorgelegt	gefunden	Probe-Blindwert
0	3	
0	3	
0	1	
0	2	
50	29	27
50	23	21
50	19	17
50	26	24
100	35	33
100	52	50
100	48	46
100	44	42

Tabelle 4.18: Enzymatische Cellulosehydrolyse auf Aluminiumfolie. Experiment PL001 ohne Enzymreinigung. Hydrolyse Zitronensäurepuffer mit 200  $\mu\text{L}$  Enzymlösungen für 48h bei 45°C. Alle Werte in  $\mu\text{g}$  Cellulose. Der Substrat-Blindwert (FBW) beträgt  $77 \pm 5 \mu\text{g}$  Cellulose.

vorgelegt	gefunden	Probe-Blindwert
0	$77 \pm 5$	
25	97	$21 \pm 9$
50	120	$43 \pm 9$
100	140	$64 \pm 12$
200	192	$115 \pm 9$

Tabelle 4.19: Enzymatische Cellulosehydrolyse auf Glasfaserfiltern. Experimente 21/27/28 sind ohne Extraktionsschritt, Experimente 20/25/26 mit wässriger Extraktion der Filter durchgeführt worden. Enzymreinigung über PD10 Säulen, 1.0 mL Enzymlösung, 2.25 mL Cutvolumen, 1.0 mL Eluat. Hydrolyse in 10.0 mL Zitronensäurepuffer mit 200  $\mu$ L Enzymlösungen für 48h (außer Experiment 20: 18h) bei 45°C.

vorgelegt	Cellulose ( $\mu$ g)		Wiederfindung (%)	n
	gefunden	Probe-Blindwert		
keine Extraktion				
0	$7 \pm 2$			10
50	$35 \pm 9$	$28 \pm 8$	$56 \pm 17$	8
100	$40 \pm 6$	$33 \pm 6$	$33 \pm 6$	4
wässrige Extraktion				
0	$9 \pm 2$			10
50	$21 \pm 6$	$13 \pm 5$	$25 \pm 10$	6
100	$33 \pm 5$	$23 \pm 5$	$23 \pm 5$	4

Tabelle 4.20: Enzymatische Cellulosehydrolyse in Suspension. Experimente 20-22. Enzymreinigung über PD10 Säulen, 1.0 mL Enzymlösung, 2.25 mL Cutvolumen, 1.0 mL Eluat. Hydrolyse in 10.0 mL Zitronensäurepuffer mit 200  $\mu$ L Enzymlösungen für 48h (außer Experiment 20: 18h) bei 45°C.

vorgelegt	Cellulose ( $\mu$ g)		Wiederfindung (%)	n
	gefunden	Probe-Blindwert		
0	$4 \pm 2$			8
50	$27 \pm 1$	$23 \pm 1$	$46 \pm 3$	4
100	$56 \pm 7$	$52 \pm 7$	$52 \pm 7$	8



### 4.3 Methodenentwicklung zur chemischen Cellulosehydrolyse

Bei der sauren Hydrolyse von Cellulose sind, obwohl nur wenige Parameter variierbar, viele verschiedene Verfahren veröffentlicht. Diese unterscheiden sich in zwei wesentlichen Punkten, der Verwendung von anorganischen oder organischen Säuren. Innerhalb dieser Gruppen kann dann die Konzentration der Säure, sowie die Temperatur variiert werden. Außerdem gibt es noch die Möglichkeit, anorganische Salze als Reaktionsbeschleuniger zu verwenden.

Zuerst wird die saure, mikrowellenunterstützte Hydrolyse durch Salzsäure zur chemischen Cellulosehydrolyse getestet. Salzsäure ist als nicht - oxidierende anorganische Säure am ehesten hierzu geeignet, da mit oxidierenden Säuren Oxidationen der Kohlenhydrate bis zum Kohlendioxid ablaufen können.

Die ersten Versuche wurden nach der Methode gemäß Beschreibung in Tabelle 3.1 mit Cellulose und Glucose bei mindestens 160 °C durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 4.21 gezeigt. Im Mittel ergibt sich eine Hydrolyseeffizienz von  $5 \pm 3$  % bei einem Reagenzien-Blindwert von über 150  $\mu\text{g}$ . Die Wiederfindung ist im Vergleich zu in der Literatur veröffentlichten Werten niedrig ausgefallen. Daher wurde untersucht, wie sich die Glucose, die am Ende der Hydrolyse nachgewiesen werden soll, unter Einwirken von heißer Salzsäure verhält (Tabelle 4.22).

Man kann aus den Glucose-Werten der Tabelle 4.22 sehr leicht erkennen, dass mit sinkender Einwirkung der Salzsäure auf die Glucose, deren Wiederfindung steigt. Geringe Temperaturen und kurze Verweilzeiten führen zu einer Wiederfindung von nur 50%.

Die Versuchsreihen wurden daraufhin noch einmal unter veränderten Bedingungen wiederholt (MW2001, siehe Tabelle 3.2 und 3.3). Dabei wurde eine niedrigere Konzentration an Salzsäure (3.7%, circa 1.2 M) bei niedrigerer Temperatur (maximal 140-150 °C) und verringerter Einwirkzeit gewählt. Die Probenmenge wurde erhöht, die Lösungen in den Teflonbomben mit Stickstoff entgast und die Salzsäure zusätzlich nach der Hydrolyse abgedampft. Die Ergebnisse der Glucose-Wiederfindung zeigt Tabelle 4.23. Die Wiederfindung der Glucose ist ohne Korrektur der Reagenzien-Blindwerte angegeben. Die Blindwerte der Experimente sind gering gegenüber den Einwaagemengen von 10 mg. Die Glucose wird insgesamt wesentlich besser wiedergefunden als bei den vorherigen Experimenten mit 6 N Salzsäure. Die Länge der Reaktionszeit zeigt im gewählten Bereich bis 40 min keinen wesentlichen Einfluss auf das Ergebnis. Die Ergebnisse von Celluloseproben dieser Serie sind alle sehr gering. Bei der 40-minütigen Hydrolyse sind die absoluten Werte immer noch unter 2% Umsatz. Zur Auswertung der Messergebnisse wurde nur der als Glucose identifizierte Peak im BioLC-Chromatogramm verwendet.

Die Probenaufnahme nach dem Eindampfen wurde hinsichtlich ihres pH-Wertes untersucht, da dieser nicht nur auf die hier verwendete Analyse im BioLC, sondern auch auf andere Analysetechniken einen Einfluss haben kann. Zuerst wurde festgestellt, dass die ersten sechs Proben, die nach dem Eindampfen unter Stickstoff nur in Wasser auf-

genommen wurden, einen stark sauren pH-Wert aufweisen, der im Bereich von 2 bis 4 lag. Bei Chromatographie-Systemen wie dem BioLC kann sich mit dem pH-Wert, der im basischen Bereich liegen sollte, die Retentionszeit ändern. Daher wurden die nächsten 18 Proben in verdünnter Natronlauge aufgenommen. Wie die pH-Kontrolle zeigte, war die Konzentration der Lauge noch nicht groß genug, um den pH-Wert aller Proben auf 10.6 bis 11.6 einzustellen. Bei der Analyse mit dem BioLC konnte kein eindeutiger Einfluss des pH-Wertes dieser Proben festgestellt werden. Das verwendete Laufmittel enthält Natronlauge und liegt im Vergleich zur Probenmenge im starken Überschuss vor. So erfolgt eine pH-Wert-Einstellung im Bereich der Natronlauge-Konzentration des Laufmittels sofort nach dem Einspritzen der nur einige  $\mu\text{L}$  großen Analytmenge.

Tabelle 4.21: (Mikrowellen-)unterstützte Cellulosehydrolyse in 6N Salzsäure. Erste Versuche mit Mikrowellengerät von Miele. Der Reagenzien-Blindwert beträgt über 150  $\mu\text{g}$ , die Hydrolyseeffizienz  $5 \pm 3 \%$ .

Experiment	Cellulose		Wiederfindung %
	vorgelegt mg	gefunden mg	
SB1	0	0.13	
SB1	2	0.38	12
SB1	4	0.36	6
SB1	8	0.87	9
SB2	0	0.17	
SB2	2	0.29	6
SB2	4	0.41	6
SB2	8	0.42	3
SB3	0	0.16	
SB3	2	0.27	5
SB3	4	0.41	6
SB3	6	0.33	3
SB3	8.2	0.64	6
SB4	0	0.17	
SB4	2.2	0.19	1
SB4	4.2	0.46	7
SB4	8	0.18	0
70 °C/ 60 min, Wasserbad			
SB5	0	0.16	
SB5	3	0.24	2
SB5	6	0.33	3

Tabelle 4.22: Glucose in 6 N Salzsäure. Vergleiche der Wiederfindung nach der Behandlung im Mikrowellengerät, im Wasserbad und bei Raumtemperatur.

Experiment	Glucose		
	vorgelegt mg	gefunden mg	Wiederfindung %
Mikrowellengerät, 160 °C			
SB6 (100 min)	4	0.22	0
SB6 (90 min)	4	0.29	2
SB6 (10 min)	0.5	0.30	19
	2	0.75	27
	4	1.35	26
ohne Mikrowellengerät, 20 °C, 10 min			
SB7	0	0.20	
SB7	5.3	4.9	89
SB7	5.4	3.0	51
SB7	7.8	4.1	50
ohne Mikrowellengerät, Wasserbad, 70 °C, 60 min			
SB7	0	0.21	
SB7	2	1.2	50
SB7	4	2.2	48
SB7	7	3.7	50

Tabelle 4.23: Mikrowellenunterstützte Hydrolyse mit 3.7%iger Salzsäure. Bestimmung der Glucose-Wiederfindung. Je Probe wurden 10 mg Glucose vorgelegt.

Probe	Reaktionszeit min	Wiederfindung	
		$\mu\text{g}$	%
MW2001-1	10	4436	44
MW2001-2	10	4519	45
MW2001-3	10	4445	44
MW2001-7	20	7036	70
MW2001-8	20	10593	106
MW2001-9	20	2601	26
MW2001-19	40	5638	56
MW2001-20	40	4153	42
MW2001-21	40	3228	32

Mit den Proben der Testserie MW2002 (Tabelle 3.4) mit Cellulose und Rinderserumalbumin (BSA) auf Glasfaserfiltern sollte im wesentlichen der Einfluss hydrolysierten Proteins auf die Analyse der Proben mit dem BioLC untersucht werden. Aminosäuren als Matrixkomponente für die chromatographische Auftrennung im BioLC erfordern die Einführung einer speziellen Vorsäule, eine sogenannte AminoTrap (Dionex). Mit dieser werden Aminosäuren, die die Kohlenhydrat-Peaks überdecken können, in der kurzen Vorsäule retardiert. Durch den Spülschritt der am jeden Ende eines Chromatogrammlaufs durchgeführt wird, wird dann diese spezielle Säule wieder gereinigt. Die Glucose-Wiederfindung wurde bei diesen Proben außer Acht gelassen. Zur Auswertung der Messergebnisse wurde nur der als Glucose identifizierte Peak im Chromatogramm verwendet. Die Ergebnisse im einzelnen zeigt Tabelle 4.24.

Tabelle 4.24: Mikrowellenunterstützte Hydrolyse von Cellulose auf Glasfaserfiltern mit BSA als Matrix für die Analyse im BioLC. Hydrolyse bei 140 °C in Salzsäure (3N und 6N).

Cellulose		
vorgelegt	gefunden	Wiederfindung
$\mu\text{g}$	$\mu\text{g}$	%
MW2002-1: Cellulose und BSA, 6 N Salzsäure, 12 min.		
0	0	
100	4	0
100	0	5
200	30	9
200	16	17
MW2002-2: Cellulose und BSA, 3 N Salzsäure, 30 min.		
0	0	
100	8	8
100	9	9
200	25	13
200	17	9
MW2002-3: Cellulose ohne BSA, 6 N Salzsäure, 12 min.		
0	0	
0	0	
100	5	5
100	5	5
200	12	7
200	13	7

Wie erwartet ist die Hydrolyseeffizienz sehr gering ausgefallen. Die Chromatogramme (Abbildung 4.5) zeigen aber, dass das zugesetzte Protein die Analyse nicht stört. Durch Standardaddition zur Probe im BioLC-Vial konnte gezeigt werden, dass der erste Peak die Glucose enthält.

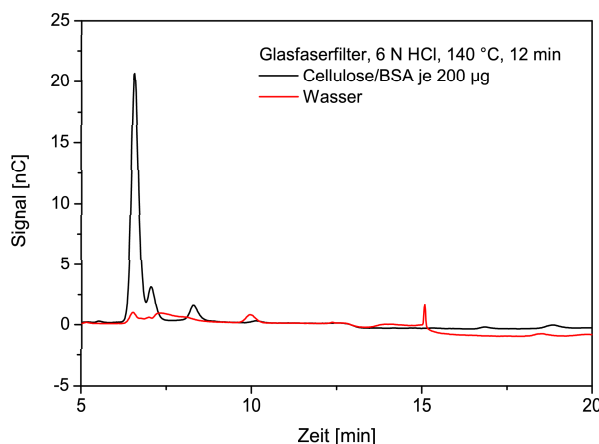


Abbildung 4.5: Chromatogramme der Filterhydrolysate MW2002-1. Die Hydrolyse wurde in 6 N Salzsäure bei 140°C für 12 Minuten durchgeführt. Die schwarze Kurve zeigt die Probe mit je 200  $\mu\text{g}$  Cellulose und BSA, die rote die Probe mit Wasser.

Die Chromatogramme der Hydrolyse ohne Proteinzusatz (Abbildung 4.6) weisen keinen zweiten Peak, aber eine wesentlich schwächere Signalantwort auf. Hier ist zu beachten, dass das BioLC-System aufgrund der Überlegungen zu diesen Versuchen umgebaut wurde. Die Standard-Vorsäule CarboPac PA100G wurde durch eine AminoTrap ausgetauscht. Diese soll Aminosäuren, die überlappend mit den Kohlenhydraten eluieren können, zurückhalten und diese erst im Spülschritt wieder abgeben. Dies führte zu einer Verlängerung der Glucose-Retentionszeit von 6,5 auf 8,8 Minuten. Als Folge davon war keine Aussage mehr möglich, ob der vorher aufgetretene Begleitpeak eine Aminosäure sein könnte.

Weitere Versuche zur sauren, mikrowellenunterstützten Hydrolyse von Cellulose wurden mit der Inbetriebnahme eines neuen temperaturgesteuerten Mikrowellengerätes (MARS5) unternommen. Die zur Hydrolyse verwendete Salzsäure wurde nach der Reaktion vollständig abgedampft, der pH-Wert der Proben wird nicht mehr auf 8 reguliert. Zusätzlich wurde versucht, die Experimente mit 1 N Salzsäure durchzuführen. Die Substanzen werden nicht mehr pur in Suspension hydrolysiert, sondern auf einem Substrat (Glasfaserfilter). Die Suspension wird im Mikrowellenofen gerührt. Die Temperatur wird im Bereich 120 bis 170 °C getestet. Die Tabellen 4.25 und 4.26 zeigen die Ergebnisse zu den Experimenten.

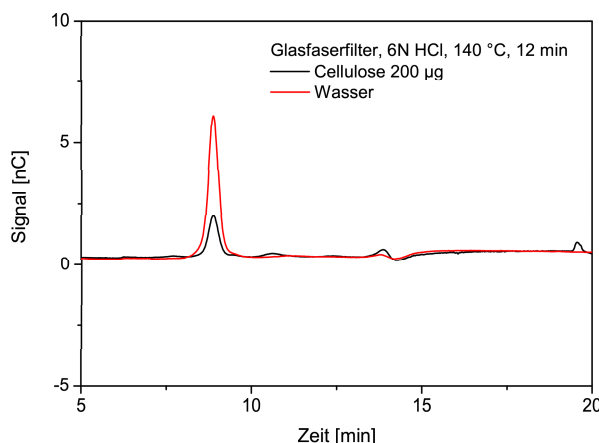


Abbildung 4.6: Chromatogramme der Filterhydrolysate MW2002-3. Die Hydrolyse wurde in 6 N Salzsäure bei 140 °C für 12 Minuten durchgeführt. Die schwarze Kurve zeigt die Probe mit 200 µg Cellulose ohne Proteinzusatz, die rote die Probe mit Wasser.

Als Ergebnis wurde festgestellt, dass die Filter-Blindwerte der mit 1 N Salzsäure hydrolysierten Celluloseproben konstant niedrig liegen. Bei gleichbleibender Reaktionszeit steigt mit der Temperatur auch die Hydrolyseeffizienz. Erst bei 165 °C erreicht die Wiederfindung Werte über 10%. Dies resultiert, wie die Behandlung von Glucose unter gleichen Bedingungen zeigt (Tabelle 4.26), aus der mit der Temperaturerhöhung zunehmenden Zerstörung der aus Cellulose entstehenden Glucose. Dies trifft auch mit der Erhöhung der Salzsäurekonzentration zu, so dass die mikrowellenunterstützte Cellulosehydrolyse schnell an Grenzen stößt. Eventuell könnte man hier mit Zusätzen, wie zum Beispiel Salzen, experimentieren, um den Abbau von Glucose zu unterbinden oder die Hydrolyseeffizienz von Cellulose zu erhöhen.

Die saure, mikrowellenunterstützte Hydrolyse mit Maleinsäure ergab im Temperaturbereich von 100 bis 175 °C zwar eine sehr hohe Glucose-Wiederfindung von circa 90%. Die Hydrolyse der Cellulosemoleküle blieb aber unter 10%. Mit einer Mischung von Malein- und Salzsäure wurde daraufhin getestet, ob die Effekte der beiden Säuren nicht positiv vereint werden können. Die dazu getesteten Proben aus Wasser, Glucose und Cellulose wurden mit den 50 mM konzentrierten Säuren im Verhältnis 4:1 (Maleinsäure:Salzsäure) versetzt und bei 105 °C 51 Minuten lang erwärmt. Durch die Salzsäure wurde bei den niedrigen Temperaturen merklich Cellulose gespalten, aber gleichzeitig auch deutlich mehr Glucose zerstört. Folglich wäre es sehr aufwendig, ein Mischungsverhältnis zu finden, bei dem die Cellulose effektiv hydrolysiert und die Glucose, die schließlich zur Bestimmung des Erfolgs der Cellulosehydrolyse verwendet wird, nicht noch stärker zerstört wird.

Tabelle 4.25: Mikrowellenunterstützte Hydrolyse von Cellulose auf Glasfaserfilter in 1 N Salzsäure. Aufheizphase 2 min.

Reihe	Endtemperatur °C	Haltezeit min	Cellulose vorgelegt $\mu\text{g}$	Cellulose gefunden $\mu\text{g}$
MW2-c1	125	10	0	$0 \pm 1$
MW2-c1	125	10	100	$3 \pm 1$
MW2-c1	125	10	200	$10 \pm 1$
MW2-c1	145	10	0	$2 \pm 1$
MW2-c1	145	10	100	$5 \pm 2$
MW2-c1	145	10	200	$16 \pm 9$
MW2-c2	165	10	0	$0 \pm 1$
MW2-c2	165	10	100	$14 \pm 4$
MW2-c2	165	10	200	$33 \pm 2$

Tabelle 4.26: Mikrowellenunterstützte Hydrolyse von Glasfaserfilter mit Glucose in 1 N Salzsäure. Aufheizphase 2 min.

Reihe	Endtemperatur °C	Haltezeit min	Glucose vorgelegt $\mu\text{g}$	Glucose gefunden $\mu\text{g}$
MW2-c1	125	10	0	$6 \pm 0.3$
MW2-c1	125	10	100	$64 \pm 7$
MW2-c1	125	10	200	$152 \pm 5$
MW2-c1	145	10	0	$1 \pm 3$
MW2-c1	145	10	100	$69 \pm 4$
MW2-c1	145	10	200	$68 \pm 3$
MW2-c2	165	10	0	$1 \pm 1$
MW2-c2	165	10	100	$37 \pm 6$
MW2-c2	165	10	200	$38 \pm 17$



Tabelle 4.27: Mikrowellenunterstützte Hydrolyse mit einer Säuremischung Maleinsäure : Salzsäure = 4:1 (Konzentration jeweils 50 mM). Reaktion 51 min bei 105 °C.

Probe	Analyse	Wiederfindung
500 $\mu$ L Wasser	1 $\mu$ g Cellulose	
500 $\mu$ g Glucose	377 $\pm$ 25 $\mu$ g Glucose	75 %
500 $\mu$ g Cellulose	14 $\pm$ 1 $\mu$ g Cellulose	3 %

## 4.4 Zusammenfassung der Anwendung der enzymatischen Hydrolyse von Cellulose auf Realproben

Aus den analysierten Proben kann man ersehen, dass die  $3s_B$ -Nachweisgrenze der enzymatischen Hydrolyse von Cellulose auf Filterproben bei 3 bis 20  $\mu\text{g}$  liegt. Bei 3000  $\text{m}^{-3}$  beprobtem Volumen und circa 50% Wiederfindung müssen folglich bis zu 13  $\text{ng m}^{-3}$  Cellulosekonzentration oder ein Anteil von mehr als 0.5 Promille an PM2.5 (bei einer typischen Filterbelegung von 5 bis 40  $\text{mg PM2.5}$ ) vorliegen. Da von den 150-mm-Filtern immer nur ein bis zwei Achtel der Filterfläche analysiert werden, sind diese Werte entsprechend mit Faktor 8 oder 4 zu multiplizieren.

Die Analyse der ländlichen Proben atmosphärischen Aerosols vom Hohenpeißenberg erfolgte durch enzymatische Hydrolyse in Zitronensäurepuffer bei 24 Stunden Inkubation bei 45 °C. Verwendet wurden jeweils zwei Achtel der 150 mm Glasfaserfilter. Die Enzyme Celluclast und Novozym wurden nach PD10-C aufgereinigt. Jeweils zwei Achtel der Proben wurden mit 50  $\mu\text{g}$  Cellulose aufgestockt und parallel hydrolysiert. Die folgenden Proben wurden wässrig extrahiert. Tabelle 4.28 umfasst die Beprobungsdaten der Filter.

Tabelle 4.28: Filterproben vom Hohenpeißenberg aus dem Jahr 2003. Diese Proben wurden zur Celluloseanalyse wässrig extrahiert. Die Proben 36, 37, BF19 und BF20 wurden nicht aufgestockt und die Inkubation erfolgte nur über 18 Stunden. BF steht für Blindfilter die nur im Filtersammler über den angegebenen Zeitraum gelagert wurden.  $V_N$  ist das beprobte Volumen in Standardbedingungen 0°C und 1013 mbar.

Filter	Beprobungszeitraum	$V_N$ $\text{m}^3$	PM2.5	
			mg	$\mu\text{g m}^3$
MOHP 2003 - 23	18.-23.5. (13:04)	3148.862	9.5	3.0
MOHP 2003 - 24	23.-28.5. (13:04)	3113.841	26.4	8.5
MOHP 2003 - 25	28.5.-2.6. (13:04)	3099.442	29.9	9.6
MOHP 2003 - 26	2.-7.6. (13:04)	3085.041	37.4	12.1
MOHP 2003 - 27	7.-12.6. (13:04)	3082.684	34.5	11.2
MOHP 2003 - 28	12.-17.6. (13:04)	3102.697	30.5	9.8
MOHP 2003 - 36	22.-27.7. (13:04)	3106.649	24.4	7.9
MOHP 2003 - 37	27.7. (13:04) - 1.8. (8:00)	3000.435	21.1	7.0
MOHP 2003 - BF19	14.-31.7.		0.68	
MOHP 2003 - BF20	14.-31.7.		0.85	

Die folgenden Proben wurden ohne Extraktion direkt hydrolysiert (Tabelle 4.29). Diese Proben wurden ebenfalls als PM2.5-Filterproben gesammelt. Von der Probe MOHp-32

Tabelle 4.29: Filterproben vom Hohenpeißenberg aus dem Jahr 2003. Diese Proben wurden zur Celluloseanalyse direkt hydrolysiert. BF steht für Blindfilter die nur im Filtersammler über den angegebenen Zeitraum gelagert wurden.  $V_N$  ist das beprobte Volumen in Standardbedingungen 0°C und 1013 mbar.

Filter	Beprobungszeitraum	$V_N$ m <sup>3</sup>	PM2.5	
			mg	$\mu\text{g m}^3$
MOHP 2003 - 29	17.-22.6. (13:04)	3116.746	33.2	10.7
MOHP 2003 - 30	22.-27.6. (13:04)	3095.254	39.8	12.9
MOHP 2003 - 31	27.6.-2.7. (13:04)	3099.442	29.4	9.5
MOHP 2003 - 32	2.-7.7. (13:04)	3139.040	17.6	5.6
MOHP 2003 - 33	7.-12.7. (13:04)	3110.241	39.6	12.7
MOHP 2003 - 34	12.-17.7. (13:04)	3083.492	29.8	9.7
MOHP 2003 - BF13	20.5.-12.6. (13:04)		1.0	
MOHP 2003 - BF15	12.-30.6. (13:04)		0.4	
MOHP 2003 - BF17	30.6.-14.7. (13:04)		0.4	

liegen nur die Ergebnisse der aufgestockten Filterprobe vor, da die Probe im Laufe des Verfahrens zerstört wurde.

In den Testreihen zur Analyse von Cellulose in Filterproben vom Hohenpeißenberg (Tabellen 4.28 und 4.29) befinden sich auch Filter mit den Bezeichnungen BF. Diese Filter wurden mit den anderen Filtern in den Filtersammler gelegt, aber nicht beprobt. Durch die Analyse dieser BF-Filter erhält man zusätzlich zu den Labor-Filter-Blindwerten Werte, die etwas über die Kontaminationsmöglichkeit der Realproben während der Messkampagnen aussagen können. Die Analysewerte dieser Proben werden als Realfilter-Blindwerte (RBW) bezeichnet.

Die Ergebnisse der wässrig extrahierten Proben zeigt Tabelle 4.30. Zu jeder Probe ist der Filter-Blindwert der Testreihe vorangestellt und der Wert der aufgestockten Probe beigestellt. Bei letzterem ist zu beachten, dass dieser Wert um 50  $\mu\text{g}$  höher sein sollte, als der zugehörige Probenwert, hundertprozentige Wiederfindung vorausgesetzt. Die Werte der Proben MOHP 2003 Nummer 24, 28, 36, 37, BF19, BF20 sind jeweils kleiner als die Nachweisgrenze aus dem Blindwert, addiert mit dessen dreifacher Standardabweichung. Bei Probennummer 25 ist der aufgestockte Wert geringfügig kleiner als der Probenwert selbst. Die Proben 23, 26 und 27 verbleiben zur genaueren Betrachtung. Das Aufstocken der Probe 23 erhöht den Probenwert um 22  $\mu\text{g}$  (Wiederfindung 44 %), das von Nummer 26 erhöht den Probenwert um 23  $\mu\text{g}$  (Wiederfindung 46%) und das Aufstocken von Nummer 27 erhöht um 18  $\mu\text{g}$  und liefert 36 % Wiederfindung. Lässt man die Wiederfindung, die gleichzeitig mit Modellfiltern innerhalb der gleichen Testreihe bestimmt wurde, au-

ßer Acht, und berücksichtigt nur die Wiederfindung der aufgestockten 50  $\mu\text{g}$  Cellulose als matrixabhängige Gesamtanalysenwiederfindung, so errechnen sich für Probe 23 auf dem GesamtfILTER 64  $\mu\text{g}$  Cellulose und somit 20  $\text{ng m}^{-3}$ . Für Probe Nummer 26 ergeben sich 96  $\mu\text{g}$  Cellulose auf dem GesamtfILTER und somit 31  $\text{ng m}^{-3}$ . Für Probe Nummer 27 ergeben sich 78  $\mu\text{g}$  Cellulose auf dem GesamtfILTER und somit 25  $\text{ng m}^{-3}$ . Trotz der geringen Nachweisgrenzen waren in dieser Testreihe nur 3 von 8 Proben, bei den Blindfiltern BF19 und BF20 wurde kein Wert erwartet, positiv getestet. Dabei ist die Unsicherheit des Messwertes nur schwer abzuschätzen. Die Schwankung der Wiederfindung der Modellfilter kann zur Abschätzung der Unsicherheit nicht herangezogen werden, da offensichtlich die Matrix der Realprobe die Wiederfindung bestimmt. Die Wiederfindung der aufgestockten Cellulose stimmt zumindest nicht mit den Wiederfindungen aus den Modellfilteranalysen überein.

Tabelle 4.30: Ergebnisse der Celluloseanalyse von Filterproben vom Hohenpeißenberg aus dem Jahr 2003 nach wässriger Extraktion. Die Proben wurden jeweils mit 50  $\mu\text{g}$  Cellulose aufgestockt. Je Probe wurden immer zwei Achtel eines Filters eingesetzt. P = Probe, S = Aufstockung, WF = Wiederfindung. Die Real-Blindwerte RBW aus Probe BF19 und BF20 heben sich nicht von den Labor-Filterblindwerten FBW ab.

Filter	Cellulose ( $\mu\text{g}$ )					
	P	P+S	WF (%)	$4 \times \frac{P-BW}{WF}$	$\mu\text{g m}^{-3}$	%PM2.5
Blindwert	$8 \pm 2$					
MOHp 2003 - 23	15	37	44	64	0.020	0.7
MOHp 2003 - 24	12	28	32			
MOHp 2003 - 25	27	22	n.a.			
MOHp 2003 - 26	19	42	46	96	0.031	0.3
MOHp 2003 - 27	15	33	36	78	0.025	0.2
MOHp 2003 - 28	5	20	30			
Blindwert	$10 \pm 2$					
MOHp 2003 - 36	13					
MOHp 2003 - 37	1					
MOHp 2003 - BF19	12					
MOHp 2003 - BF20	8					

Tabelle 4.31 zeigt die Ergebnisse der Celluloseanalyse von Filterproben vom Hohenpeißenberg (2003), die ohne Extraktion hydrolysiert wurden. Probe Nummer 32 wurde zerstört, so dass nur der Wert der aufgestockten Probe vorhanden ist. Die Testreihe, in der die Blindfilter BF13, BF15, BF17 vermessen wurden, zeigt alle Werte, auch die

Tabelle 4.31: Ergebnisse der Celluloseanalyse von Filterproben vom Hohenpeißenberg aus dem Jahr 2003 ohne Extraktion. Die Proben wurden jeweils mit 50  $\mu\text{g}$  Cellulose aufgestockt. Je Probe wurden immer zwei Achtel eines Filters eingesetzt. Die Analysenreihe der Blindfilter (BF) zeigte trotz intakter Enzyme keine Wiederfindungen. Die P = Probe, S = Aufstockung, WF = Wiederfindung.

Filter	Cellulose ( $\mu\text{g}$ )					
	P	P+S	WF (%)	$4 \times \frac{P-BW}{WF}$	$\mu\text{g m}^{-3}$	%PM2.5
Blindwert	$8 \pm 2$					
MOHp 2003 - 29	17	25	16	225	0.072	0.7
MOHp 2003 - 30	31	55	48	192	0.062	0.5
MOHp 2003 - 31	20	59	78	62	0.020	0.2
MOHp 2003 - 32		24	n.a.			
MOHp 2003 - 33	11	16				
MOHp 2003 - 34	19	30	22	200	0.065	0.7
Blindwert	$1 \pm 1$					
MOHp 2003 - BF13	3	2				
MOHp 2003 - BF15	1	3				
MOHp 2003 - BF17	2	3				

simultan mitbestimmter Modellfilter mit 50  $\mu\text{g}$  Cellulose, kleiner zehn  $\mu\text{g}$  Cellulose, so dass vermutet wurde, die Enzymchargen hätten die Aktivität verloren. Durch gleichzeitig hydrolysiertes Druckerpapier als Testprobe konnte aber bestätigt werden, dass die Enzymaktivität vorhanden war. In den vielen Messreihen trat immer wieder dieser Fall ein, dass die erhaltenen Daten durch derartige Unstimmigkeiten nicht verwertbar waren.

Die vier Realproben 29, 30, 31, 34 zeigen 16, 48, 78 und 22 % Wiederfindung der aufgestockten Cellulose, also sehr unterschiedliche Werte. Auch hier kann von einem bedeutenden Einfluss der Matrixkomponenten ausgegangen werden. Die Wiederfindungen der aufgestockten Cellulosemenge bei den wässrig extrahierten Proben lagen enger beisammen (44, 46 und 36 %), es fehlen aber mehr Werte für eine statistisch gesicherte Aussage über einen eventuellen Einfluss der Extraktion. Rein rechnerisch ergibt sich aus Werten der Proben 29, 30, 31, 34 Cellulosekonzentrationen von 72, 62, 20 und 65  $\text{ng m}^{-3}$ .

Auf der einen Seite verringert also die wässrige Extraktion die Gesamtwiederfindung von Cellulose in Modellfiltern, auf der anderen Seite ist es möglich, dass dadurch störende Matrixkomponenten aus Realproben entfernt werden. Obwohl die Blindwerte und damit die Nachweisgrenze auf circa 5  $\text{ng m}^{-3}$  Cellulose gesenkt wurden, ist zumindest zu ersehen, dass der Celluloseanteil im Aerosolmassenbereich PM2.5 auf dem Hohenpeißenberg, der

Tabelle 4.32: Thermochemische Analyseergebnisse der Hohenpeißenbergfilter 2003. TC ist der Gesamtkohlenstoffgehalt, EC für elementaren Kohlenstoff. TC- und EC-Werte in  $\mu\text{g m}^{-3}$  Kohlenstoff, PM2.5-Werte in  $\mu\text{g m}^{-3}$ .

Filter	PM2.5	TC	EC
MOHp2003-23	3.0	0.8	0.3
MOHp2003-24	8.5	1.5	0.6
MOHp2003-25	9.6	2.0	0.7
MOHp2003-26	12.1	3.1	0.8
MOHp2003-27	11.2	3.0	0.7
MOHp2003-28	9.8	2.1	0.5
MOHp2003-29	10.7	2.3	0.7
MOHp2003-30	12.9	2.9	0.7
MOHp2003-31	9.5	2.0	0.6
MOHp2003-32	5.6	1.2	0.4
MOHp2003-33	12.7	2.8	0.8
MOHp2003-34	9.7	2.4	0.7

direkt in einem Wald- und Wiesengebiet auf einer Höhe von knapp 1000 m N.N. liegt, sehr gering ist. Die PM2.5-Gesamtmasse der vorgestellten Filterproben liegt zwischen 3 und 13  $\mu\text{g m}^{-3}$ . Der prozentuale Anteil von Cellulose an dieser PM2.5-Masse liegt bei unter einem Prozent.

Zu den hier vorgestellten Filtern wurde auch die thermochemische Kohlenstoffanalyse nach VDI-Vorschrift durchgeführt. Diese Vorschrift ist für die Kohlenstoffanalyse in Verbrennungsaerosolen ausgelegt und kann nicht einwandfrei auf die atmosphärischen Proben übertragen werden, da im Verbrennungsprozess biochemische Polymere z.B. durch Verkokung scheinbare EC-(elemental carbon)-Werte erzeugen können. Zu dem in der VDI-Vorschrift standardisiertem Verfahren fehlt noch eine allgemein anerkannte Methode zur Bestimmung äquivalenter Kohlenstoffwerte in atmosphärischen Filterproben. Die Tabelle 4.32 zeigt die Ergebnisse.

Aus der Differenz von Gesamt- und elementaren Kohlenstoff kann der organische Kohlenstoffanteil errechnet werden. Dieser wird in Tabelle 4.33 dem gemessenen nicht-extrahierbaren Kohlenstoffanteil in Gewichtsprozent relativ zur Filterbeladung angegeben. Die Massenbeladung der Real-Blindfilter lag im Bereich kleiner gleich ein Milligramm, die der beprobten Filter zwischen 10 und 40 mg PM2.5.

Auffällig ist, dass die drei TC-(Gesamtkohlenstoff)-Werte der Real-Blindfilter über 40 Massenprozent, der beprobten Filter hingegen unter 30% liegen. Es liegt die Vermutung nahe, dass die Verunreinigung der Real-Blindfilter nicht sichtbar ist, sondern nur durch

die geringe Massenzunahme während der Lagerung im Probensammler, bedingt durch kohlenstoffhaltige Komponenten zustande kommt. Begaste Filter werden wohl mit einem größeren Anteil an anorganischen, nichtkohlenstoffhaltigen Verbindungen beladen. Der Anteil des nichtextrahierbaren Kohlenstoffs liegt für die Realproben zwischen 10 und 15 Massenprozent, für die Blindfilter über 50 %.

Tabelle 4.33: Thermochemische Analyse der Filterproben vom Hohenpeißenberg (2003). TC ist Gesamt-, OC ist organischer, NEC nicht extrahierbarer Kohlenstoff. Alle Angaben in Gewichtsprozent zur Beladung (PM2.5) der Filter. Die beprobtem Filter unterscheiden sich von den am Probenahmeort gelagerten Blindfiltern deutlich.

Filter	TC	OC	NEC
MOHp2003-23	27	19	14
MOHp2003-24	18	10	10
MOHp2003-25	21	14	11
MOHp2003-26	26	19	11
MOHp2003-27	27	20	11
MOHp2003-28	22	16	10
MOHp2003-29	22	15	11
MOHp2003-30	23	17	10
MOHp2003-31	21	15	10
MOHp2003-32	21	15	9
MOHp2003-33	22	16	10
MOHp2003-34	25	18	12
MOHp2003-BF13			53
MOHp2003-BF15	90	78	52
MOHp2003-BF17	48	18	94

Es wurden noch weitere Filterproben aus Großhadern aus dem Jahr 2002 auf Cellulose untersucht. Die Testserien zeigten geringe Blindwerte von circa 6  $\mu\text{g}$  und Wiederfindungen von circa 60%. Allerdings ergab sich wieder aus dem Vergleich der Analysen der Probenfilter mit den gleichzeitig analysierten aufgestockten Filter, dass für die verschiedenen Filter unterschiedliche Mengen der aufgestockten Cellulose wiedergefunden wurden. Vermutlich ist das auf einen Matrixeffekt zurückzuführen. So könnten andere Komponenten der Filterprobe die Hydrolyse oder Glucoseanalyse stören. Da jede Filterprobe eine andere Zusammensetzung hat und keine anderen Komponenten analysiert werden konnten, konnte hier der Effekt nicht auf bestimmte Substanzen zurückgeführt werden. Diese Inkonsistenz in der Wiederfindung der aufgetockten Cellulose erschwert

Tabelle 4.34: Enzymatische Hydrolyse von Filterproben aus der Verbrennung von verschiedenen Hölzern. Je Filter wurde eine Hälfte mit 50  $\mu\text{g}$  Cellulose aufgestockt. Die Analyse erfolgte mittels Glucose-Enzymtest. Die Werte der nicht aufgestockten Filter liegen unterhalb der Nachweisgrenze.

Filter	Cellulose ( $\mu\text{g}$ )		Wiederfindung
	Probe	Probe + aufgestockte Cellulose	
Blindwert	$6 \pm 2$		
EFEU A	4	27	46%
EFEU B	5	24	38%
EFEU C	5	37	64%
EFEU D	6	36	60%
EFEU E	7	26	38%
EFEU F	4	31	54%
EFEU G	7	32	50%
EFEU H	6	34	56%

die Auswertung von Cellulosegehalten in Filterproben. Prinzipiell muss für jede Filterprobe eine eigene Wiederfindung bestimmt werden, anstatt diese mittels Modellfiltern zu ermitteln. Aufgrund der Größe eines Filters sind zudem auch Mehrfachbestimmungen, die bei der Abschätzung des Fehlers nötig sind, nicht möglich.

Die enzymatische Cellulosehydrolyse wurde auch auf Filterproben aus einem Projekt „EFEU“ angewendet (Tabelle 4.34). In diesem Projekt wurden verschiedene Hölzer unter definierten Bedingungen in geschlossenen Verbrennungsöfen verbrannt. Dabei wurden Partikeldaten aufgezeichnet und Filterproben aus dem Abgas gesammelt. Die Filterproben wurden anschließend auf das Vorhandensein von Cellulose untersucht. Die Filter wurden halbiert. Eine Hälfte der Filter wurde zusätzlich mit 50  $\mu\text{g}$  Cellulose beaufschlagt. Die Hydrolyse erfolgte ohne Extraktionsschritte und mit nach PD10C aufgereinigten Enzymen. Die Ergebnisse fasst die Tabelle 4.34 zusammen.

In allen Proben aus dem EFEU-Projekt konnte keine Cellulose nachgewiesen werden. Trotz der sichtlichen Belegung der Filter und der Tatsache, dass diese aus dem Abgas von Holzöfen beprobt wurden, konnten mit der enzymatischen Cellulosehydrolyse keine Spuren der erwarteten Cellulose nachgewiesen werden. Die aufgestockten Filter lassen erkennen, dass das Verfahren grundsätzlich gut funktioniert hat. Folglich ist hier keine oder nur wenig störende Matrix in den Filterproben vorhanden. Die aufgestockte Cellulosemenge wurden mit  $50 \pm 9\%$  wiedergefunden. Die Berechnung der Wiederfindung erfolgte unter der Annahme, dass keine Cellulose aus dem Verbrennungsgas auf dem Filter vorhanden ist. Im Gegensatz zu Filtern aus sich ständig ändernder Aerosolzusam-



mensetzung, wie Großhadern 2002, ist die Wiederfindung der aufgestockten Cellulose konsistent.

# 5 Ergebnisse der physikalischen und chemischen Aerosolcharakterisierung

In diesem Kapitel wird die Anwendbarkeit und Vergleichbarkeit des Outdoor-ELPI zur Erfassung von physikalischen Aerosolparametern wie Größenverteilung, Anzahl- und Massenkonzentration immer mit Blick auf etablierte Standardtechniken vorgestellt. Die Besonderheit des ELPI-Messsystems (Outdoor-ELPI mit vorgeschalteter Befeuchtereinheit bei gleichzeitig Zurverfügungstellung der gesammelten und elektronisch erfassten Partikel zur chemischen Analyse) zeigt sich dann bei der Auswertung der Messdaten am realen atmosphärischen Aerosol. Die Langzeit-Feldmesskampagnen bestätigen das Potential des ELPI, ergänzend zur Langzeit-Beobachtung und Analyse des atmosphärischen Aerosols eingesetzt werden zu können.

## 5.1 Vergleich von ELPI und SMPS bei Laborversuchen

Bei den Laborexperimenten wurden verschiedene Aerosole aus Lösungen mittels eines Querfluss-Verneblers erzeugt und mit einem Stickstoffstrom nach der Trocknung im Diffusionsabscheider zu den Messgeräten (SMPS, ELPI) geleitet. Die gekoppelten Messsysteme sind derart an den Aerosolstrom anzuschließen, dass diese sich nicht gegenseitig, z.B. durch Druckschwankungen, in der Messung beeinflussen. Die Impaktorsubstrate waren gefettet, um Bounce-off-Effekte auszuschließen.

Die ersten Messdaten ergaben keine Übereinstimmung der beiden Messprinzipien (Abbildung 5.1). Später wurde dies jedoch, zum Beispiel durch Änderungen im Testaufbau, hinsichtlich der Aerosolneutralisierung mit Kryptonquellen, Trocknung des Aerosolstroms, Auswahl der Aerosolerzeugung und Aufteilung der Teilströme, sowie der verwendeten Software, verbessert. Weitere Vergleichsmessungen finden sich auch bei Elsässer 2001. Die Lage des Maximums und die Breite der Partikelverteilung stimmen im Wesentlichen überein. Der ELPI überschätzt bei dieser Anwendung die Anzahl der feinen Partikel. Dies wurde später durch eine neue Softwareversion der Fa. Dekati korrigiert.

Ein weiteres Experiment zur Vergleichbarkeit der ELPI-Messungen wurde mit einem SMPS an simulierten Verbrennungsaerosol (Ruß aus Funkengenerator) durchgeführt. Der Aufbau ist in Abbildung 3.2 dargestellt. Die Verdünnung erfolgte in diesem Aufbau nicht aktiv mit Druckluft, sondern unter Zuführung gefilterter Raumluft durch die Ansaugleistung der Messgeräte. Eine Beispielmessung zeigt die Abbildung 5.2.

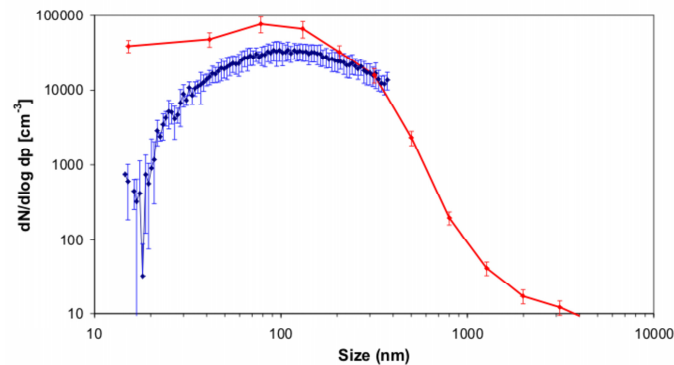


Abbildung 5.1: Vergleich der Messergebnisse von ELPI mit SMPS 3071. Aerosol vernebelt aus einer 0.1 %igen Natriumchlorid-Lösung, getrocknet und mit Druckluft verdünnt. Die obere Kurve mit nur 12 Messpunkten stellt die ELPI-Daten dar.

Beide Messgeräte zeigen ein Haupt- und ein Nebenmaximum der Größenverteilung. Die ELPI-Werte sind aber gegenüber den SMPS-Werten zu kleineren Partikeln verschoben. Die Verschiebung umfasst den Größenbereich einer Impaktorstufe. Eine Berechnung der ELPI-Kurve mit Stokes-Durchmessern und Dichte 1.0 verschiebt diese in Durchmesser und Konzentration näher an die SMPS-Kurve. Die gemessenen Gesamtpartikelanzahlkonzentrationen differieren sehr stark. Als Erklärung wurde gefunden, dass die vom ELPI gemessene Rußpartikelkonzentration sich innerhalb eines Messzyklus des SMPS stark ändert (siehe Abbildung 5.3).

Als Ergebnis kann festgehalten werden, dass die unterschiedlichen Messprinzipien des ELPI und des SMPS durchaus vergleichbare Ergebnisse bei der Messung von stationären Partikelanzahlgrößenverteilung ergeben können. Hierzu muss berücksichtigt werden, dass die von den Instrumenten ermittelten Partikeldurchmesser unterschiedlich gewichtet sind.

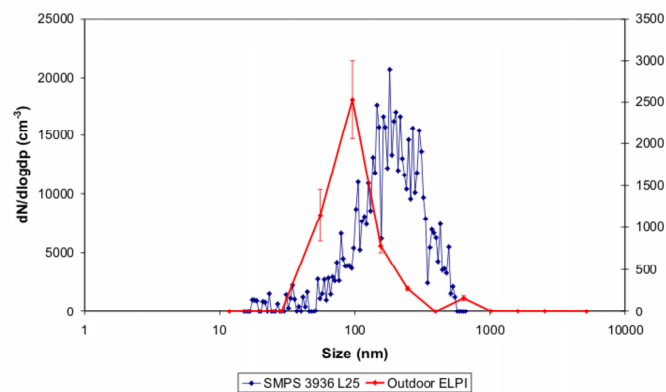


Abbildung 5.2: Vergleich der Messergebnisse von ELPI mit SMPS 3936L25. Gemessen wurde Rußaerosol. Die rote Kurve mit nur 12 Messpunkten stellt die ELPI-Daten dar. Die ELPI-Werte sind gegenüber den SMPS-Werten zu kleineren Partikelgrößen hin verschoben. Die Anzahlkonzentration des ELPI ist auf der rechten Größenachse dargestellt (Dichte  $1.5 \text{ g/cm}^3$ ). Für das SMPS entspricht die x-Achse Mobilitätswert, für den ELPI aerodynamischen Durchmesser. Eine Berechnung der ELPI-Kurve mit Stokes-Durchmessern und Dichte  $1.0$  verschiebt diese in Durchmesser und Konzentration näher an die SMPS-Kurve.

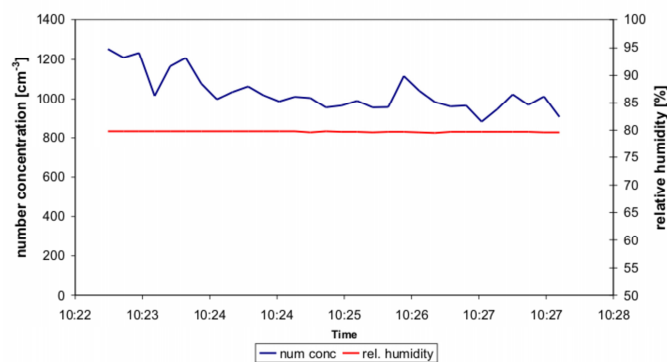


Abbildung 5.3: Variation der Partikelanzahlkonzentration des Rußaerosolgenerators während eines Messzyklus, gemessen mit dem ELPI.

## 5.2 Urbane Aerosole (München)

Im städtischen Bereich Münchens, Stadtteil Großhadern, wurden wie bereits beschrieben, ein SMPS-System mit variabler Konfiguration, und der ELPI zeitgleich zur Aerosolmessung im Dezember 2002 eingesetzt. Die Abbildung 5.4 zeigt einen Ausschnitt aus der Messung der Partikelanzahlgrößenverteilung. Das SMPS erfasste Partikel im Bereich 6 bis 225 nm, der ELPI von 7 nm bis 10  $\mu\text{m}$ . Die Zeitauflösung des SMPS lag mit 5 Minuten unterhalb der des ELPI (1 Minute Mittelung). Die Grafik zeigt, dass beide Instrumente konsistent die gleichen Partikelverläufe erfasst haben. Deutlich zu sehen ist die typische Absenkung der Partikelanzahlkonzentrationen zwischen Mitternacht und 6 Uhr morgens. Die Abbildung 5.5 zeigt den zeitlichen Verlauf der Partikelanzahlkonzentrationen. Dabei ist die Kurve der SMPS-Messdaten umrahmt von zwei ELPI-Auswertungen, einmal summiert über alle 12 Messstufen und einmal ohne die Filterstufe (7 - 30 nm). Die Summe der Partikelanzahlkonzentration über die 12 Impaktorstufen liegt nahe mit der SMPS-Anzahlkonzentration von 6 bis 225 nm zusammen, da die Anzahl von Partikeln über 300 nm vergleichsweise niedrig ist.

Summiert man in den ELPI-Messwerten die Partikelanzahlen über die Stufen 1 bis 5 erfasst man einen zum SMPS vergleichbaren Größenbereich. Diese zwei Datenreihen wurden in der Abbildung 5.6 gegeneinander aufgetragen. Dabei zeigt sich ein linearer Zusammenhang bei einer leichten Erhöhung der ELPI-Messwerte gegenüber den SMPS-Werten.

Die Abbildung 5.7 zeigt die mittlere gemessene Aerosol-Größenverteilung im Zeitraum 9.-13.12.2002 für das SMPS und 8.-14.12.2002 für den ELPI. Die SMPS-Kurve passt sehr gut auf die Werte der unteren Impaktorstufen. Kleiner 20 nm zeigt das SMPS mit der hohen Auflösung einen abfallenden Kurvenverlauf, wohingegen die Filterstufe des ELPI etwas höhere Werte ausgibt, da sie nur integral das Signal für Partikel zwischen 7 und 30 nm auswertet.

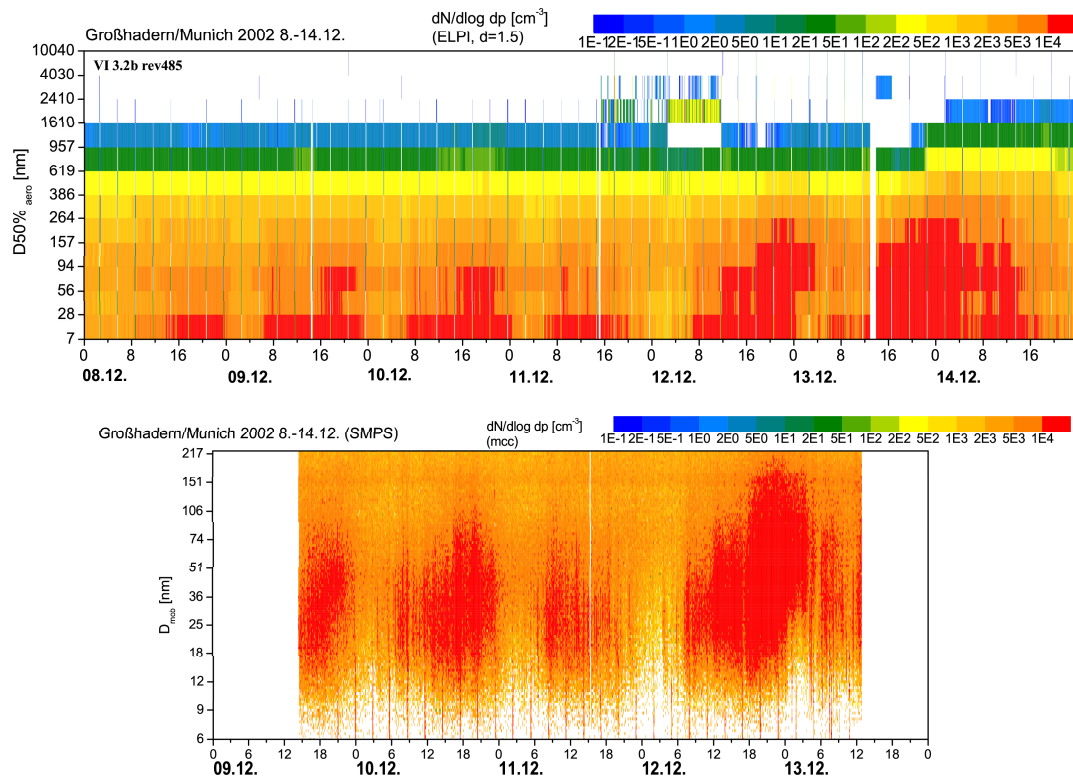


Abbildung 5.4: Zeitreihe einer Partikelanzahlgrößenverteilung eines städtischen Aerosols gemessen in Großhadern (München), 8.-14.12.2002. Die x-Achse zeigt die lokale Zeit in Tagen und Stunden; Farbkodierung zeigt die Größenverteilungsfunktion  $dN/d\log D_{p,\text{aero}}$  (weiß  $<10^{-1} \text{ cm}^{-3}$ , rot  $>10^4 \text{ cm}^{-3}$ ). ELPI (oben): Die y-Achse zeigt aerodynamische 50%-Abscheidewerte der 12 Impaktorstufen. Zeitauflösung eine Minute. ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5. SMPS (unten): langer DMA, Flussraten Schleierluft/Aerosol 15/1.5, y-Achse zeigt Mobilitätsdurchmesser  $D_{p,\text{mob}}$ , Zeitauflösung 5 Minuten.

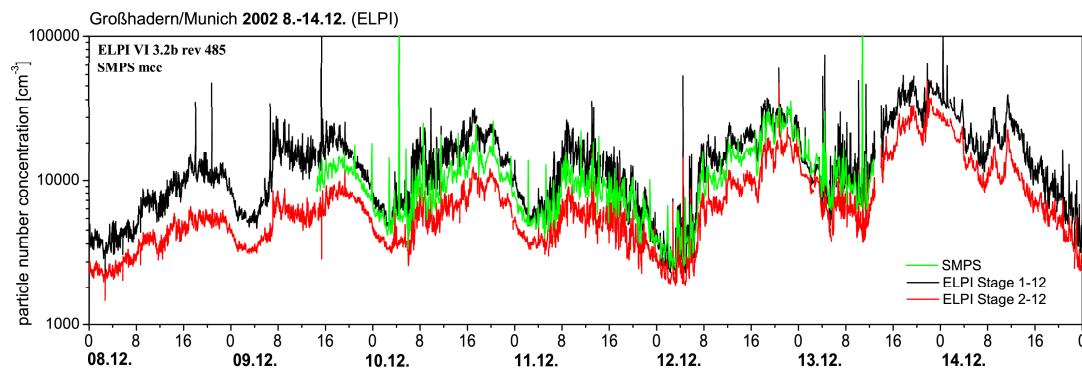


Abbildung 5.5: Zeitreihe einer Partikelanzahlkonzentration eines städtischen Aerosols gemessen in Großhadern (München), 8.-14.12.2002. Die x-Achse zeigt die lokale Zeit in Tagen und Stunden; Farbkodierung zeigt die Gerätekonfiguration (schwarz ELPI summiert über alle 12 Stufen, rot ELPI summiert ohne die Filterstufe, grün SMPS). Die y-Achse zeigt Gesamtpartikelanzahlkonzentration. Zeitaufösung ELPI eine Minute und SMPS 5 Minuten. ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5. SMPS mit langem DMA, Flussraten Schleierluft/Aerosol 15/1.5.

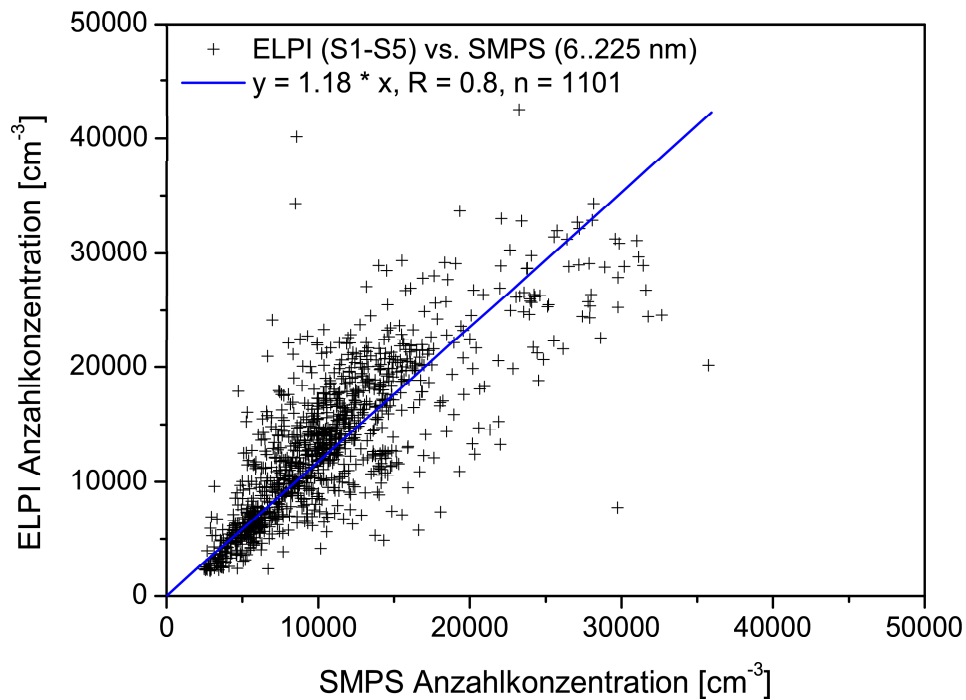


Abbildung 5.6: Korrelation zwischen den Zeitreihen einer Partikelanzahlkonzentration eines städtischen Aerosols gemessen in Großhadern (München), 8.-14.12.2002, gemessen mit einem ELPI und einem SMPS. Die x-Achse zeigt die SMPS-Anzahlkonzentration im Bereich 6 bis 225 nm, die y-Achse die ELPI-Daten summiert über die Stufen 1-5 (7 bis 264 nm) mit dem adäquaten Größenbereich zum SMPS. Die ELPI-Daten wurden in 5 Minuten Intervallen synchron zu den SMPS-Werten gemittelt. ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5. SMPS mit langem DMA, Flussraten Schleierluft/Aerosol 15/1.5. Die blaue Linie ist die berechnete lineare Regressionsgerade.



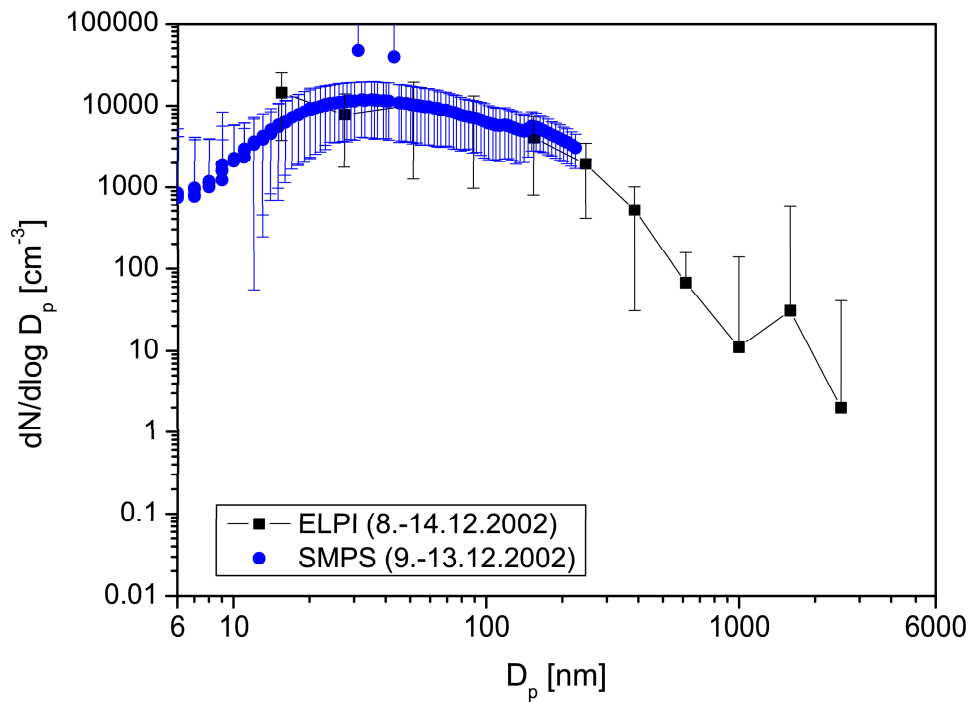


Abbildung 5.7: Mittelung der Zeitreihen der Partikelanzahlgrößenverteilung eines städtischen Aerosols gemessen in Großhadern (München), 8.-14.12.2002, gemessen mit einem ELPI und einem SMPS. ELPI: schwarz, x-Achse zeigt geometrische Mittel der D50% Abscheidewerte der Impaktorstufen. SMPS: blau, x-Achse zeigt Mobilitätsdurchmesser in Nanometer. Datenpunkte und Fehlerbalken zeigen die Mittelung über den gesamten Messzeitraum.

### 5.3 Ländlich beeinflusste Aerosole (Hohenpeißenberg)

Die Messungen von ländlich bestimmten Aerosol wurden, wie beschrieben, auf dem Meteorologischen Observatorium auf dem Hohenpeißenberg durchgeführt. Der Deutsche Wetterdienst zeichnet dort breitgefächerte Informationen der Troposphäre auf, wie Partikelanzahl- und Spurengaskonzentration. Eigene Messungen wurden dort mit dem ELPI und dem Sammeln von Filterproben durchgeführt. Die Abbildung 5.8 zeigt einen Ausschnitt aus den Datensätzen zur Partikelgrößenverteilung vom Juni 2002. Die ELPI-Daten werden dabei einem optischen Partikelgrößenklassierer (LAS-X) vom DWD gegenübergestellt. Letzterer hat einen Größenbereich ab  $0.1 \mu\text{m}$ , der sich mit dem ELPI ab Impaktorstufe 4 deckt. Beim Vergleich der Daten ist wieder darauf zu achten, dass hier unterschiedliche physikalische Verfahren zugrunde liegen, die optische Streuung von Licht und die aerodynamische Abscheidung. Insgesamt zeigt das LAS-X etwas weniger Partikel je Größenklasse an, als der ELPI. Die Struktur der Größenverteilung, bedingt zum Beispiel durch Tages- und Nachtverläufe sowie Wettereinflüsse, ist sehr ähnlich. Ab  $0.6 \mu\text{m}$  sind, wie erwartet, nur noch extrem wenig Partikel nachweisbar. Die vom ELPI registrierten Ereignisse mit sehr hohen ultrafeinen und feinen Partikeln vom 5. und 6. Juni, die sich bis zu Durchmessern von  $0.4 \mu\text{m}$  erstrecken, sind auch im LAS-X erfasst worden.

Die Abbildung 5.9 zeigt die Partikelanzahlkonzentration von ELPI in- und exklusive Filterstufe im Vergleich zu den Kondensations-Partikelzählern (CPCs) des DWD. Die CPCs unterscheiden sich in der Untergrenze der erfassbaren Partikelgröße. Das Modell 3025 zählt Aerosole ab  $3 \text{ nm}$ , das Modell 7610 ab  $10 \text{ nm}$ . Dementsprechend liegen die Werte des CPC 3025 bei Auftreten ultrafeiner Partikel näher an den Werten des ELPI mit Filterstufe. Bei der dargestellten Zeitreihe sind, wie auch der Abbildung 5.8 zu entnehmen, durchgehend entsprechende ultrafeine Aerosole vorhanden. Die Summation der LAS-X-Kanäle wurde nicht durchgeführt, da dieses Instrument Partikelgrößen ab  $100 \text{ nm}$  erfasst und damit einen signifikanten Anteil an der Anzahlkonzentration ausschließt.

Die Daten der Partikelanzahlkonzentration aus der 6-tägigen Zeitreihe in Abbildung 5.9 korrelieren in ihrem Verlauf sehr gut. Nimmt man die ELPI- und die CPC 3025-Messwerte heraus und zeichnet diese gegeneinander auf (Abbildung 5.10), so zeigt sich, dass diese eine lineare Abhängigkeit aufweisen.

Die Mittelung der Anzahlgrößenverteilung aus Abbildung 5.8 führt zur Abbildung 5.11. Innerhalb der Fehlerbalken, die die Standardabweichungen durch die Änderungen der Größenverteilungen während der Zeitreihe darstellen, decken sich die Kurven sehr gut. Dabei ist wieder zu beachten, dass unterschiedliche Äquivalenzdurchmesser, resultierend aus den physikalischen Messprinzipien, übereinander gelegt wurden.

Mit Abbildung 5.12 wird beispielhaft die Massengrößenverteilung, die aus den ELPI-Daten mittels einer angenommenen mittleren Aerosoldichte gewonnen werden kann, aufgezeigt. Sicherlich ist diese Art der Umrechnung von Anzahl auf Masse entsprechender

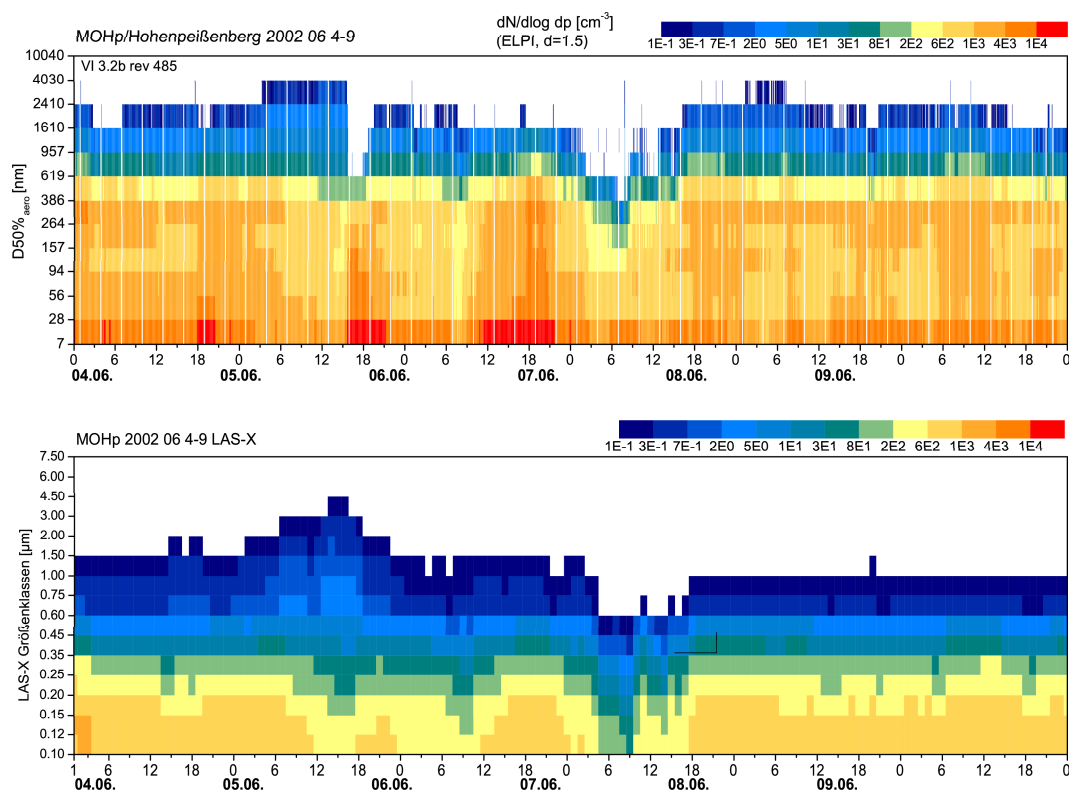


Abbildung 5.8: Zeitreihe einer Partikelanzahlgrößenverteilung eines ländlichen Aerosols gemessen auf dem Hohenpeißenberg, 4.-9.6.2002. Die x-Achse zeigt die lokale Zeit in Tagen und Stunden; Farbkodierung zeigt die Größenverteilungsfunktion  $dN/d\log D_p$  (weiß  $<10^{-1} \text{ cm}^{-3}$ , rot  $>10^4 \text{ cm}^{-3}$ ). ELPI (oben): Die y-Achse zeigt aerodynamische 50% Abscheidewerte der 12 Impaktorstufen. Zeitauflösung eine Minute. ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5. LAS-X (unten): optischer Partikelzähler vom DWD, Zeitauflösung 1 Stunde.

Kritik unterworfen, da sowohl die Aerosoldichte material- und größenabhängig ist, als auch die elektrische Aufladung im ELPI von der Aerosoloberfläche abhängt, sind solche Rechnungen bei sich ständig ändernder Aerosolzusammensetzung mit Vorsicht zu betrachten. Ziel war es in diesem Fall, die daraus resultierende Gesamtmassenkonzentration mit Daten einer Aerosolwägung mittels einer TEOM-Messung des DWD zu vergleichen (siehe Abbildung 5.13). Man kann sehen, wie sich die Verläufe der Massenkonzentration qualitativ zu vielen Zeitpunkten gleichen, teilweise sogar quantitativ decken. Obwohl am 7.6. um circa 3 Uhr sowohl CPCs, als auch ELPI und LAS-X ein Minimum der Partikelgesamtanzahlen und nur Partikel kleiner 600 nm anzeigen, folgt das TEOM diesem Verlauf nicht. Tatsächlich findet der Wegfall der großen Partikel bereits um Mitter-

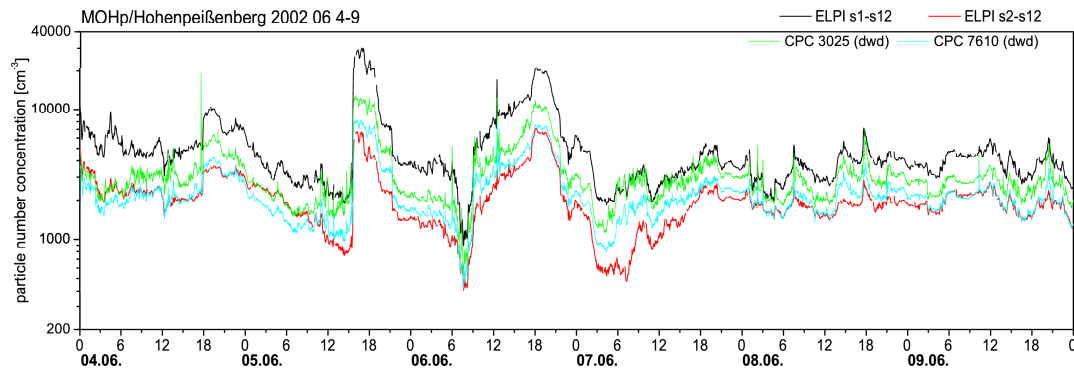


Abbildung 5.9: Zeitreihe einer Partikelanzahlkonzentration eines ländlichen Aerosols gemessen auf dem Hohenpeißenberg, 4.-9.6.2002. Die x-Achse zeigt die lokale Zeit in Tagen und Stunden; Farbkodierung zeigt die Gerätekonfiguration (schwarz ELPI summiert über alle 12 Stufen, rot ELPI summiert ohne die Filterstufe, grün CPC 3025, blau CPC 7610). Die y-Achse zeigt Gesamtpartikelanzahlkonzentration. ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5. CPC Daten sind vom DWD.

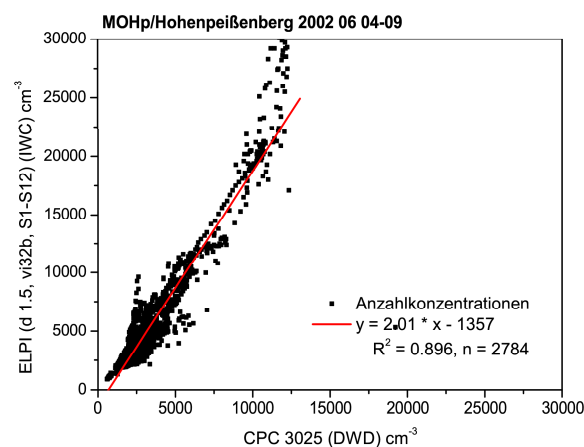


Abbildung 5.10: Korrelation der Zeitreihe einer Partikelanzahlkonzentration eines ländlichen Aerosols gemessen auf dem Hohenpeißenberg, 4.-9.6.2002. Die x-Achse zeigt die Werte gemessen mit einem TSI CPC 3025 (DWD); die y-Achse zeigt die Messwerte des ELPI (Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5).

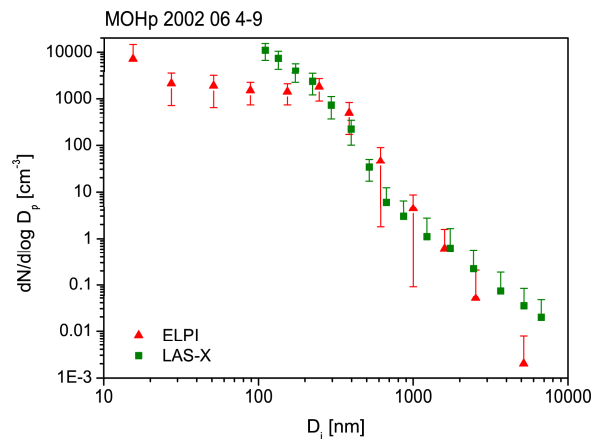


Abbildung 5.11: Mittelung der Zeitreihe einer Partikelanzahlgrößenverteilung eines ländlichen Aerosols gemessen auf dem Hohenpeißenberg, 4.-9.6.2002. Die x-Achse zeigt geometrische Mittel der Größenklassen; Farbkodierung zeigt die Gerätekonfiguration (rot ELPI, grün LAS-X). Die y-Achse zeigt Größenverteilungsfunktion  $dN/d\log D_p$ . ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5. LAS-X Daten vom DWD.

nacht statt. Der Beitrag der kleineren Partikeln zur Aerosolmasse ist sehr gering. Der Abfall der Massekonzentration um einen weiteren Faktor 10, der vom ELPI in diesem Zeitfenster angezeigt wird, kann zum Beispiel daraus resultieren, dass Anzahl-Signale einzelner Partikel bei der Massenberechnung durch die Gewichtung mit der dritten Potenz des Durchmessers überproportionale Schwankungen auslösen. Die Daten der Partikelmassenkonzentration aus der 6-tägigen Zeitreihe in Abbildung 5.13 korrelieren in ihrem Verlauf nicht so gut wie die Anzahlkonzentration. Nimmt man die ELPI- und die TEOM-Messwerte heraus und zeichnet diese gegeneinander auf (Abbildung 5.14) zeigt sich, dass diese breiter streuen. So ergänzen sich die Techniken der Masse- und Anzahlbestimmung bei der Beobachtung von Aerosolen. Beide Werte sind für Klimamodelle und gesundheitliche Untersuchungen wichtige Parameter.

Im Frühjahr 2003 wurde noch ein Experiment gestartet, bei dem der Korona-Auflader des ELPI ausgeschaltet wurde. Mit dieser Variante könnten Partikelverluste des Aufladers in einem Labor charakterisiert werden. Hier wurde versuchsweise die Nettoladung des atmosphärischen Aerosols aufgenommen. Bei Aerosolen, die längere Transportwege bzw. Verweilzeiten in der Atmosphäre zurücklegen, wird angenommen, dass sich diese, durch den permanenten Austausch mit Gasmolekülen, im Ladungsgleichgewicht befinden. Für Aerosole, die in Neutralisatoren in dieses Ladungsgleichgewicht geführt werden, sind Tabellen bekannt, die die Ladungsverteilung in Abhängigkeit des Partikeldurchmessers beschreiben. Der ELPI benutzt den Auflader, um eine Sättigungsladung der Partikel

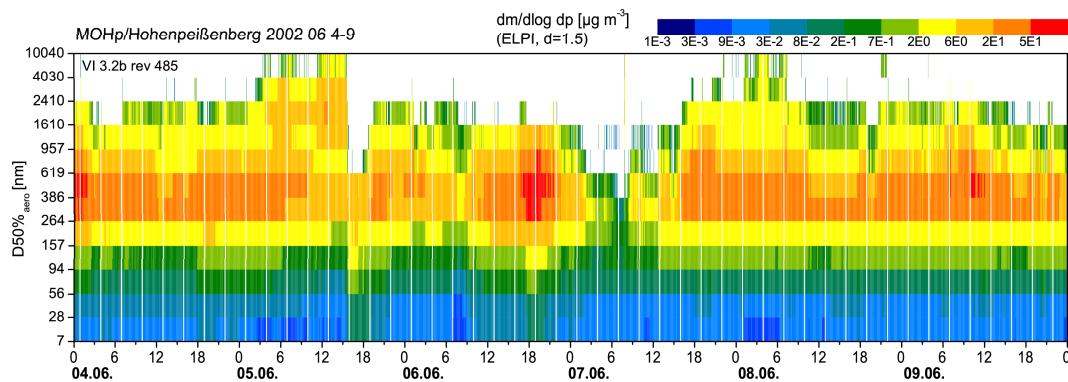


Abbildung 5.12: Zeitreihe einer Partikelmassengrößenverteilung eines ländlichen Aerosols gemessen auf dem Hohenpeißenberg, 4.-9.6.2002. Die x-Achse zeigt die lokale Zeit in Tagen und Stunden; Farbkodierung zeigt die Größenverteilungsfunktion  $dm/d\log D_p$  (weiß  $<10^{-3} \mu\text{g m}^{-3}$ , rot  $>50 \mu\text{g m}^{-3}$ ). Die y-Achse zeigt aerodynamische 50% Abscheidewerte der 12 Impaktorstufen. Zeitauflösung eine Minute. ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5.

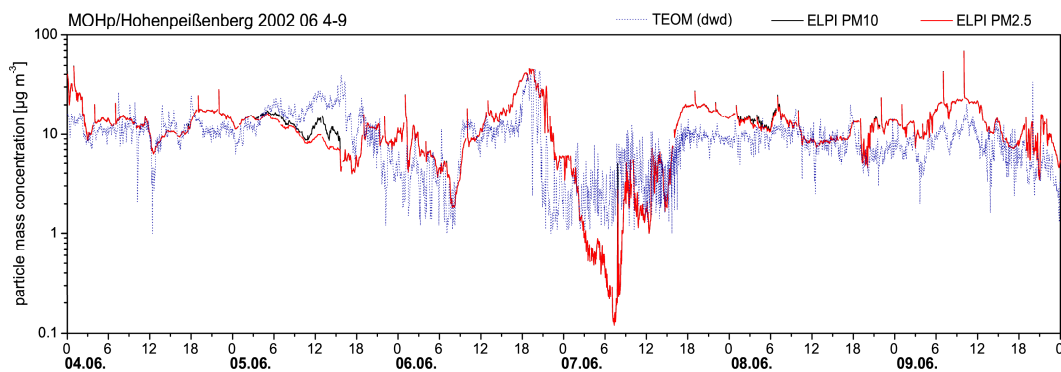


Abbildung 5.13: Zeitreihe einer Partikelmassenkonzentration eines ländlichen Aerosols gemessen auf dem Hohenpeißenberg, 4.-9.6.2002. Die x-Achse zeigt die lokale Zeit in Tagen und Stunden; Farbkodierung zeigt die Gerätekonfiguration (rot ELPI PM10, schwarz ELPI PM2.5, blau TEOM). Die y-Achse zeigt Gesamtmassenkonzentration in  $\mu\text{g m}^{-3}$ . ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5. TEOM Daten vom DWD.

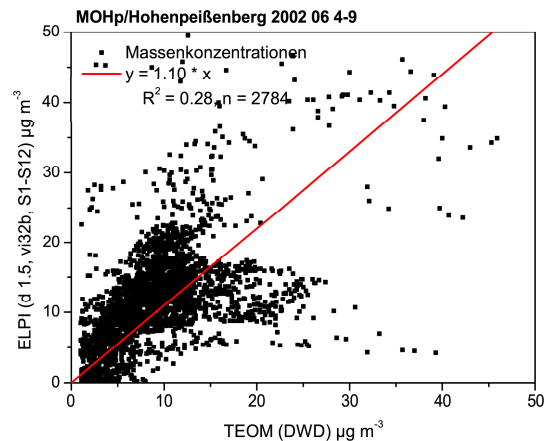


Abbildung 5.14: Korrelation der Zeitreihe einer Partikelmassenkonzentration eines ländlichen Aerosols gemessen auf dem Hohenpeißenberg, 4.-9.6.2002. Die x-Achse zeigt die Werte gemessen mit einem TEOM (DWD); die y-Achse zeigt die Messwerte des ELPI (Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5).

zu erreichen. Schaltet man den Auflader aus, erfaßt man die Nettoladung der Größenklassen des Aerosols, da sich sowohl positiv als auch negativ geladene Partikel auf den Prallplatten abscheiden. Für atmosphärisches Aerosol wird im Zeitverlauf eine stabile Nettoladungsverteilung erwartet. Bei lokalen Aerosolquellen und kurzen Transportwegen kann sich diese Nettoladungsverteilung ändern, wenn die Verweilzeit des Aerosols nicht ausreicht, um dieses in das Ladungsgleichgewicht zu bringen. Eine signifikante Änderung in der Nettoladungsverteilung konnte am 31.3.2003 zwischen 16 und 24 Uhr beobachtet werden. Dabei ergab sich ein zeitlich langandauernder Überschuß positiver Ladungen auf zwei Impaktorstufen (siehe Abbildung 5.15). Um Aussagen zum Aerosol ableiten zu können, müsste zeitgleich ein zweiter elektrischer Kaskadenimpaktor am gleichen Aerosoleinlaß sammeln. Dies kann Ausgangspunkt für weitere Studien sein, und wird zum Beispiel auch bei Dekati verfolgt.

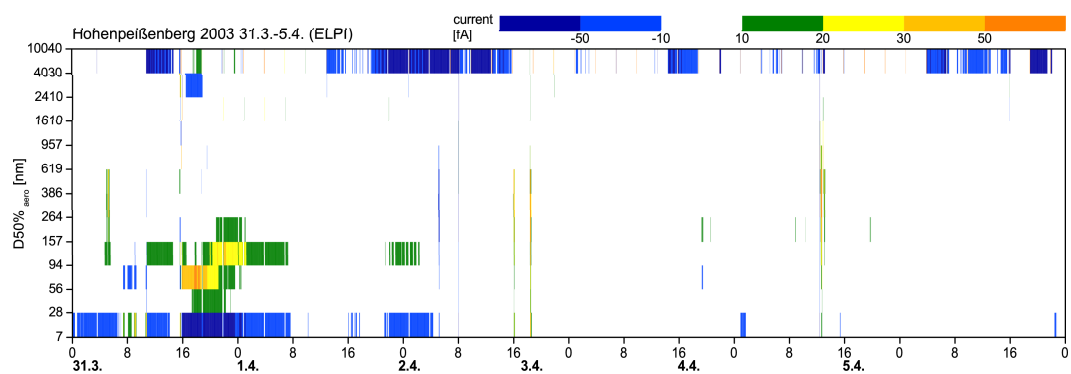


Abbildung 5.15: Zeitreihe einer Nettoladungsverteilung eines ländlichen Aerosols gemessen auf dem Hohenpeißenberg, 31.3.-5.4.2003, mit dem Outdoor-Air-ELPI. Die x-Achse zeigt die lokale Zeit in Tagen und Stunden; Farbkodierung zeigt die gemessenen Ströme auf den Impaktorstufen in fA (dunkelblau  $<-50$  fA, orange  $>+50$  fA). Die y-Achse zeigt aerodynamische 50% Abscheidewerte der 12 Impaktorstufen. Zeitauflösung eine Minute.



## 5.4 Alpine Aerosole (Zugspitze)

Die Messungen alpinen Aerosols wurden auf der Zugspitze in der Umweltforschungsstation (UFS) im Schneefernerhaus durchgeführt. Im Winter 2002 wurden ELPI- und SMPS-Messungen zeitgleich vorgenommen. Einen Ausschnitt der Ergebnisse ist in den folgenden Abbildungen zu sehen. Abbildung 5.16 zeigt die aufgenommene Aerosolgrößenverteilung eines Tages. Der Messbereich des SMPS deckt dabei die unteren sechs Stufen des ELPI ab. Die SMPS-Daten wurden auf acht Größenkanäle pro Dekade reduziert um eine einfachere Vergleichbarkeit mit dem ELPI zu erzielen. Im Vergleich zu den Messdaten, die auf dem Hohenpeißenberg aufgezeichnet wurden, sieht man auf der Filterstufe des ELPI nur sehr wenig Partikel. Dies war auch zu erwarten, da auf der Höhe der Zugspitze im Wesentlichen nur gealtertes Aerosol zu erwarten ist. Die Filterstufe zeigt keine Artefakte, sondern kann, konsistent dem Verlauf beim SMPS, auch bis auf Null in der Partikelanzahlkonzentration zurückgehen. Das Signal auf den ELPI-Stufen kann man als Funktion der Oberflächenladung der Partikel nach dem Auflader betrachten. Die Filterstufe umspannt den größten Partikelgrößenbereich von 8 bis 30 nm. Damit unterscheiden sich die Oberflächen der Partikel bis um Faktor 14. Das elektrisch aufgezeichnete Signal der abfließenden Oberflächenladung wird damit auf einen sehr großen Ladungsbereich gemittelt gewertet. Der Berechnungsalgorithmus der ELPI-Software scheint bei den Messungen auf der Zugspitze gut angepasste Ergebnisse zu ergeben. Die gemittelte Anzahlgrößenverteilung des Tages je Größenklasse ist in Abbildung 5.17 dargestellt. Hier wird der bereits qualitativ diskutierte Vergleich quantitativ dargestellt. Die Fehlerbalken zeigen keine Messfehler, sondern die Spannweite der natürlichen Schwankung der Aerosolkonzentration in der jeweiligen Größenklasse. Es gilt zu beachten, dass elektromobile mit aerodynamischen Durchmessern verglichen werden. Dies wirkt sich in einer leichten Verschiebung der Kurven auf der Größenachse aus. Die Ergebnisse der beiden Techniken decken sich sehr im dargestellten Diagramm sehr gut. Abbildung 5.18 zeigt die Überlagerung der Gesamtpartikelanzahlkonzentration im Tagesverlauf der beiden Geräte an.

Die Abbildungen 5.19 und 5.20 zeigen eine Zeitreihe aus der Messkampagne im Winter 2002 auf der Zugspitze. Diese Zeitreihe enthält Wechsel in der Partikelanzahlkonzentration der Filterstufe. Zu dieser Messkampagne befand sich ebenfalls ein Team der Deutschen Luft- und Raumfahrt (DLR) im UFS. Daten dieser Messreihe der DLR sind in Abbildung 5.20 zu sehen. Entsprechend dem Auftreten der ultrafeinen Partikel folgt der CPC 3025 der DLR dem Verlauf der Anzahlkonzentration des ELPI inklusive Filterstufe.

Für die aufgenommene Zeitreihe im November wird wieder die Massenkonzentration aus den ELPI-Daten berechnet. Abbildung 5.21 zeigt die Massengrößenverteilung, Abbildung 5.22 die Gesamtmassenkonzentration. Aus der Massengrößenverteilung kann man erkennen, dass die ersten beiden und die letzten drei Tage jeweils ähnliche Strukturen aufweisen. Mittelt man die Massenkonzentration des 15. und 16. November, sowie des 17.-19. November errechnet sich  $2.46 \pm 4.88 \mu\text{g m}^{-3}$  und  $0.67 \pm 0.68 \mu\text{g m}^{-3}$ . Eine

Wägung von Filterproben aus diesem Zeitraum ergab für den 14.-16.11.  $2.2 \mu\text{g m}^{-3}$  und für den 16.-21.11.  $0.8 \mu\text{g m}^{-3}$  (siehe Tabelle 5.1). In Tabelle 5.2 sind weitere Vergleiche zwischen der Massenbestimmung mit ELPI und Filterproben gezeigt.

Im Anhang 8.3 sind aus dieser Winter-Feldmesskampagne auf der Zugspitze weitere Zeitreihen und Mittelungen der Anzahl-Größenverteilungen abgebildet.

Tabelle 5.1: Ergebnisse von der Zugspitze aus dem Jahr 2002. Die Filterproben wurden vor und nach der Beladung nach entsprechender Konditionierung gewogen. Die ELPI-Daten wurden aufgrund der Muster der Größenverteilung nicht deckungsgleich mit den Filterproben-Zeiträumen gemittelt. HVFS = High-Volume-Filter Sammler.

	HVFS	ELPI
Masse $\mu\text{g m}^{-3}$	2.2	2.46
Zeitraum	14.-16.11.	15.-16.11.
Masse $\mu\text{g m}^{-3}$	0.8	0.67
Zeitraum	16.-21.11.	17.-19.11.

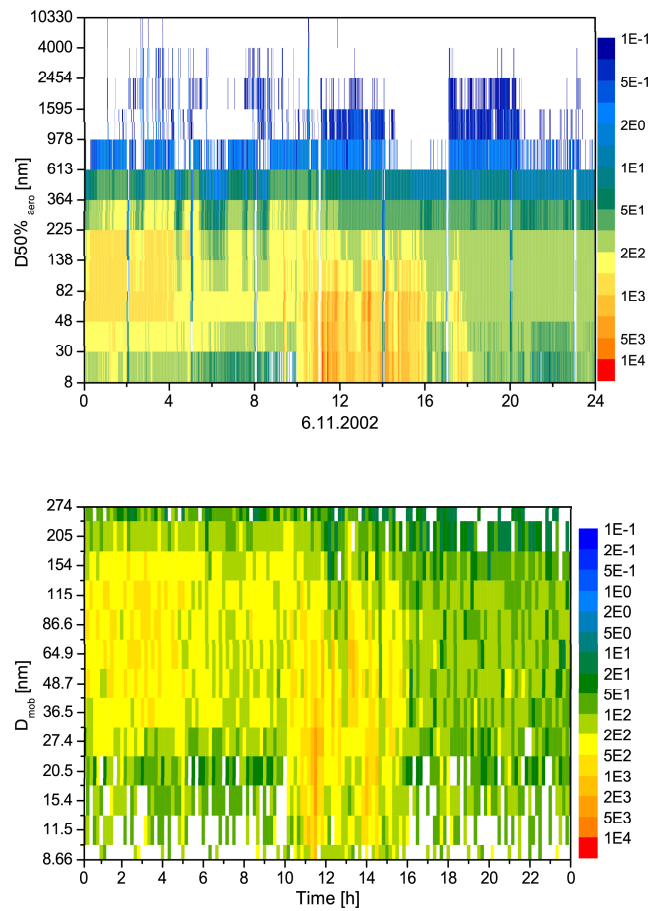


Abbildung 5.16: Tagesmessung einer Partikelanzahlgrößenverteilung alpinen Aerosols gemessen auf der Zugspitze, 6.11.2002. Die x-Achse zeigt die lokale Zeit; Farbkodierung zeigt die Größenverteilungsfunktion  $dN/d\log D_p$  (weiß  $<10^{-1} \text{ cm}^{-3}$ , rot  $>10^4 \text{ cm}^{-3}$ ). ELPI (oben): Die y-Achse zeigt aerodynamische 50% Abscheidewerte der 12 Impaktorstufen. Zeitauflösung eine Minute. ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5. SMPS (unten): Langer DMA, Aerosol zu Schleierluft 1:10, CPC 3025, Größenauflösung auf 8 Kanäle pro Dekade gesetzt.

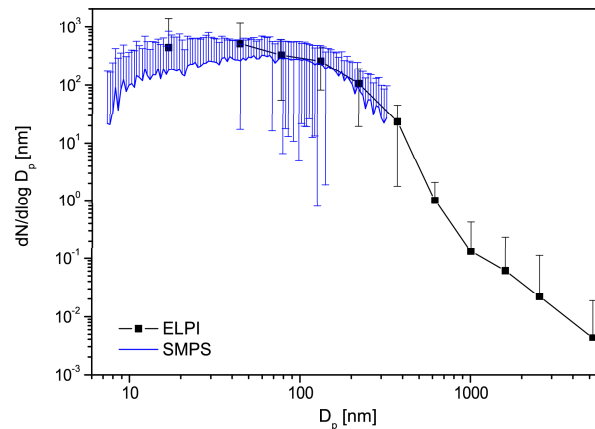


Abbildung 5.17: Mittelung der Tagesmessung einer Partikelanzahlgrößenverteilung alpinen Aerosols gemessen auf der Zugspitze am 6.11.2002. Die x-Achse zeigt das geometrische Mittel der Größenklassen für den ELPI bzw. Mobilitätswert für das SMPS; Farbkodierung zeigt die Gerätekonfiguration (schwarz ELPI, blau SMPS). Die y-Achse zeigt Größenverteilungsfunktion  $dN/d\log D_p$ . ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5. SMPS: Langer DMA, Aerosol zu Schleierluft 1:10, CPC 3025.

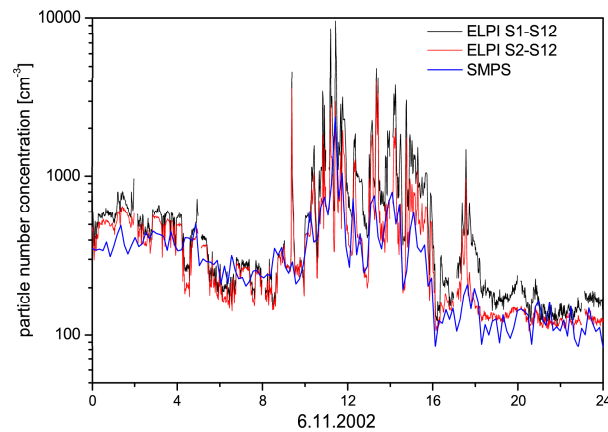


Abbildung 5.18: Tagesmessung einer Partikelanzahlkonzentration alpinen Aerosols gemessen auf der Zugspitze am 6.11.2002. Die x-Achse zeigt die lokale Zeit; Farbkodierung zeigt die Gerätekonfiguration (schwarz ELPI summiert über alle 12 Stufen, rot ELPI summiert ohne die Filterstufe, blau SMPS 3071L25). Die y-Achse zeigt Gesamtpartikelanzahlkonzentration. ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5.

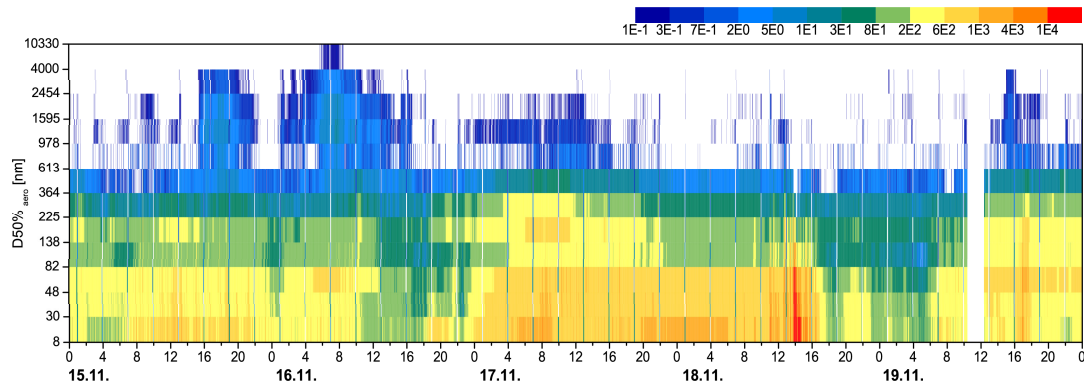


Abbildung 5.19: Zeitreihe einer Partikelanzahlgrößenverteilung alpinen Aerosols gemessen auf der Zugspitze, 15.-19.11.2002. Die x-Achse zeigt die lokale Zeit; Farbkodierung zeigt die Größenverteilungsfunktion  $dN/d\log D_p$  (weiß  $<10^{-1} \text{ cm}^{-3}$ , rot  $>10^4 \text{ cm}^{-3}$ ). ELPI (oben): Die y-Achse zeigt aerodynamische 50% Abscheidewerte der 12 Impaktorstufen. Zeitauflösung eine Minute. ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5.

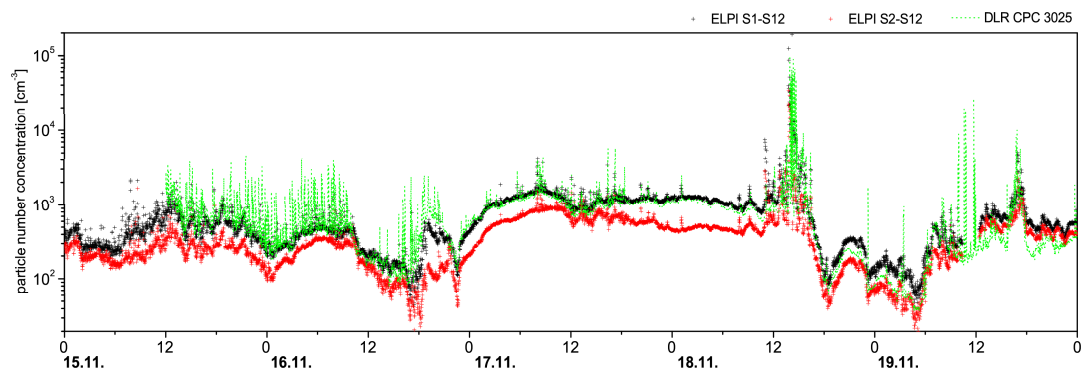


Abbildung 5.20: Zeitreihe einer Partikelanzahlkonzentration alpinen Aerosols gemessen auf der Zugspitze, 15.-19.11.2002. Die x-Achse zeigt die lokale Zeit in Tagen und Stunden; Farbkodierung zeigt die Gerätekonfiguration (schwarz ELPI summiert über alle 12 Stufen, rot ELPI summiert ohne die Filterstufe, grün CPC 3025 von der DLR). Die y-Achse zeigt Gesamtpartikelanzahlkonzentration. ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5.

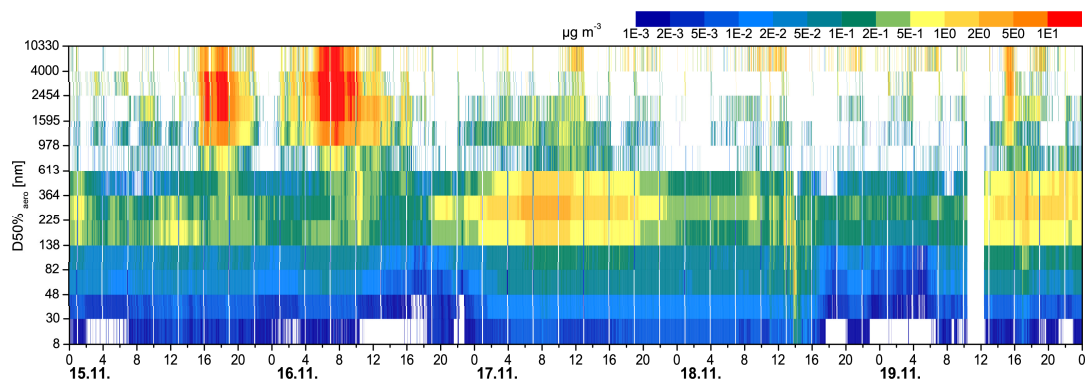


Abbildung 5.21: Zeitreihe einer Partikelmassengrößenverteilung alpinen Aerosols gemessen auf der Zugspitze, 15.-19.11.2002. Die x-Achse zeigt die lokale Zeit in Tagen und Stunden; Farbkodierung zeigt die Größenverteilungsfunktion  $dm/d\log D_p$  (weiß  $<10^{-3} \mu\text{g m}^{-3}$ , rot  $>50 \mu\text{g m}^{-3}$ ). Die y-Achse zeigt aerodynamische 50% Abscheidewerte der 12 Impaktorstufen. Zeitauflösung eine Minute. ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5.

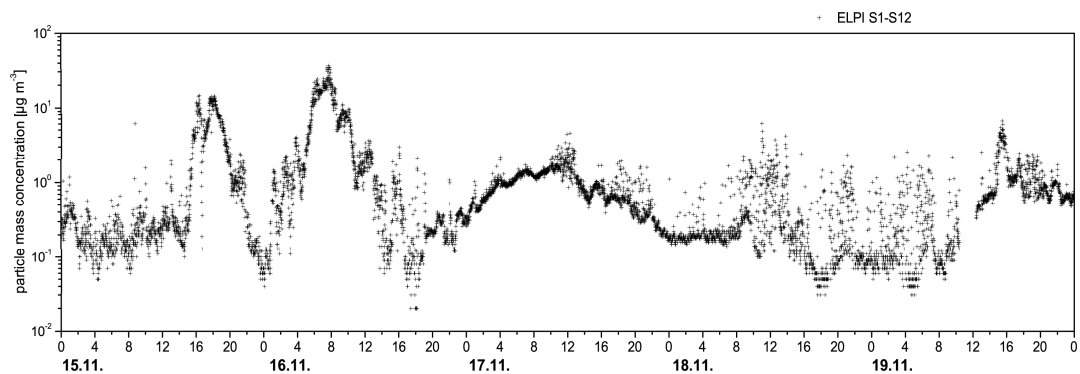


Abbildung 5.22: Zeitreihe einer Partikelmassenkonzentration alpinen Aerosols gemessen auf der Zugspitze 15.-19.11.2002. Die x-Achse zeigt die lokale Zeit in Tagen und Stunden. Die y-Achse zeigt Gesamtmassenkonzentration in  $\mu\text{g m}^{-3}$  als PM10. ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5.

## 5.5 Gravimetrie versus Elektrometrie

Für Applikationen, wie zum Beispiel Abgasuntersuchungen, aber auch Modellierung von Aerosoltransporten, ist die Massenkonzentration oder der Massenfluss gasgetragener Partikel von Bedeutung. Die Massenkonzentration von Partikeln wurde in Zusammenhang mit anderen Größen oder mit beobachtbaren Effekten gesetzt, wie zum Beispiel gesundheitlichen Störungen. Durch das zunehmende Bewußtsein der Menschen für Umwelt und Gesundheit wurde eine starke Reduzierung des Masseausstoßes von Schadstoffen und Partikeln erreicht. In der Folge wird die Bestimmung der Masse von Aerosolen schwieriger. Zudem zeigen Untersuchungen, dass nicht die Partikelmassenkonzentration vorherrschender Parameter bezüglich gesundheitlicher Effekte ist. Daher wird der Fokus der Untersuchungen zu atmosphärischen Aerosolen auf andere Charakteristika, wie Durchmesser und Anzahlkonzentration sowie Größenverteilungen erweitert.

Bisher kann die Aerosolmasse fast ausschließlich durch Impaktor- oder Filterproben bestimmt werden. Die zur Abscheidung der Partikel verwendeten Substrate müssen für die exakte Wägung konditioniert werden. Dies kann zum Beispiel durch kontrollierte Befeuchtung geschehen. Für die Wägung sehr geringer Filterbelegungen im Bereich weniger Mikrogramm sind zusätzlich teure und zeitaufwendige Vorbereitungen und Geräte nötig. Dabei können schon bei der Beprobung flüchtige oder semivolatile Aerosolkomponenten verloren gehen. Ist die Massenkonzentration im Luftstrom sehr gering, muss die Sammelzeit entsprechend erhöht werden, um über die Nachweisgrenze des gewählten Verfahrens zu kommen. Damit verbunden ist jedoch ein Verlust in der Zeitauflösung bei der Massenbestimmung. Es ist bekannt, dass sich selbst atmosphärisches Aerosol innerhalb weniger Stunden verändert. Diese Änderungen können durch integrale Filterproben oftmals nicht erfasst werden. Auf der anderen Seite ändert sich die Betrachtungsweise der Wirkung von Aerosolen, zum Beispiel auf die menschliche Lunge, im Zusammenhang mit den Aerosolparametern, wie zum Beispiel deren Durchmesser.

Im Laufe der Experimente und Messkampagnen wurde untersucht, wie und ob sich die Messdaten des ELPI mit anderen Daten, wie zum Beispiel der Beladung gleichzeitig beprobter Filter, korrelieren lassen. Prinzipiell ist ein Messsystem wie der ELPI, der mit einem unipolaren Auflader arbeitet, nicht unbedingt zur Berechnung der Aerosolmasse geeignet. Die unipolare elektrische Aufladung der Partikel ist oberflächenabhängig. Für fraktale Geometrien von Partikeln ist selbst unter der Annahme einer bestimmten Dichte die Berechnung der Masse wenig erfolgreich. Hinzu kommt, dass sich gerade atmosphärische Partikel aus einer Vielzahl unterschiedlicher Materialien unterschiedlicher Dichte und Form zusammensetzen.

Für verschiedene Messungen am Hohenpeißenberg im Jahr 2002 wurde der Vergleich der ELPI-Daten mit den Daten aus Filterproben zusammengestellt. Die Tabelle 5.2 zeigt einmal die PM<sub>2.5</sub> Werte, sowie die Ergebnisse der thermochemischen Gesamtkohlenstoffanalyse. Mit 10 - 40% Abweichung ist die Übereinstimmung akzeptabel. Es zeigt sich,

dass die Zeiträume der Filter- und Impaktorprobennahme nicht immer auf einen Tag genau übereinstimmen. Es zeigt sich ebenfalls kein Trend, zum Beispiel dass die kalkulierten Werte des ELPI immer unterhalb der Filterwägung liegen würden. Auch wurde für einen Zeitraum, hier nicht dargestellt, der Auflader im ELPI entfernt, um Partikelverluste in der Koronaentladung zu vermeiden. Dies erbrachte auch keine verbesserte Übereinstimmung. Insgesamt ist die Korrelation zwischen den verschiedenen Techniken wie erwartet mit Vorsicht zu betrachten. Der prozentuale Kohlenstoffanteil an PM2.5 sowie die Kohlenstoff-Analysen der Einzelsubstrate des Impaktors zeigen, dass die Aerosolzusammensetzung häufig wechselt, so dass eine Übereinstimmung vielleicht nur im Labor bei einem definierten Aerosol erbracht werden könnte.

Tabelle 5.2: Ergebnisse vom Hohenpeißenberg aus dem Jahr 2002. Die Filterproben wurden vor und nach der Beladung nach entsprechender Konditionierung gewogen. HVFS = High-Volume-Filter Sammler, TC = Gesamtkohlenstoff, PM2.5 = Particulate Matter bis 2.5  $\mu\text{m}$ .

Zeitraum	PM2.5 $\mu\text{g m}^{-3}$		TC in PM2.5 $\mu\text{g C m}^{-3}$	
	ELPI	HVFS	ELPI	HVFS
21.5. - 23.5.	14.6	15.5	2.3	2.5
24.5. - 27.5.	2.5	8.7	0.8	0.8
27.5. - 3.6.	11.3	12.2	1.1	1.5
3.6. - 10.6.	12.1	7.0	0.9	1.4
10.6. - 17.6.	15.1	9.8	1.2	2.2



## 5.6 Partikelverluste in einem Thermodenuder

Für den Einsatz eines Thermodenuders bei Emissionsmessungen in einem Schwellenwerk der Deutschen Bahn wurden die Partikelverluste in einem Thermodenuder (Topas, TDD-590) bei 52 °C und verschiedenen Strömungsgeschwindigkeiten bestimmt. Zur Erfassung des verwendeten Funken-Rußaerosols wurde ein SMPS-System mit einem Messbereich von 7 bis 311 nm verwendet. Es wurde jeweils mindestens dreimal vor und nach dem Thermodenuder gemessen.

Die Messungen ergeben Verluste in der Partikelanzahlkonzentration beim Durchströmen des Thermodenuders von 33% bis 36%. Auffällig ist, dass sich das geometrische Mittel der Partikelgrößenverteilung um 2 - 3 nm am Denuderausgang vergrößert darstellt. Das bedeutet, dass wesentlich mehr Partikel im ultrafeinen Größenbereich verlorengehen. Dies ist in Abbildung 5.23) grafisch gezeigt und unter Zusammenfassung der Partikel in Größenbereichsgruppen, tabellarisch in Tabelle 5.4 zusammengestellt.

Während die Werte des Partikelverlusts für Partikel größer 30 nm eher statistisch schwanken, so nimmt der Verlust der Partikel kleiner 30 nm mit schneller werdendem Durchfluss wie erwartet ab.

Tabelle 5.3: Überblick über die Partikelverluste im Thermodenuder TDD590 bei verschiedenen Durchflüssen.

Durchfluss lpm	Partikel am Denuder		Verlust %
	Eingang cm <sup>-3</sup>	Ausgang cm <sup>-3</sup>	
3.4	3.5e6 ± 1.9e5	2.3e6 ± 9.8e4	33
4.7	4.1e6 ± 9.5e4	2.6e6 ± 8.3e4	36
5.7	3.5e6 ± 2.1e4	2.3e6 ± 3.8e4	36

Tabelle 5.4: Partikelverluste im Thermodenuder TDD590 bei 52°C nach Größenbereichen zusammengefasst.

Durchfluss lpm	Partikelverluste in %			
	7..30 nm	31..60 nm	61..120 nm	121..311 nm
3.4	63	43	30	13
4.7	57	44	35	26
5.7	51	40	34	28

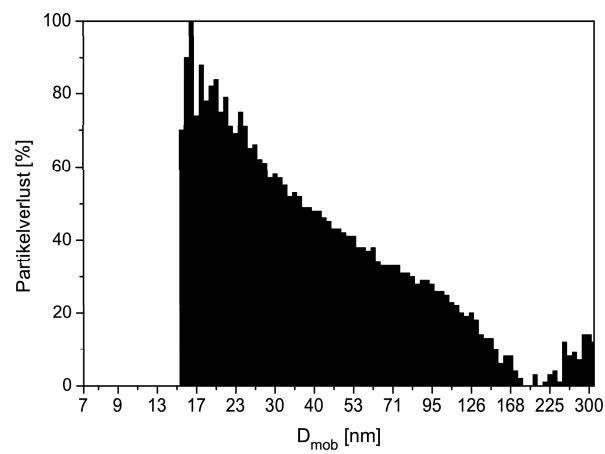


Abbildung 5.23: Partikelverlust in einem Rußaerosolstrom durch einen Thermodenuder in Abhängigkeit von der Partikelgröße. Messung bei 52°C und 3.4 lpm Durchfluss mit einem SMPS.

# 6 Besondere Anwendungen der Aerosolmesstechnik

## 6.1 Aufnahme von Filterkennlinien

Wie unter 2.9 beschrieben sind Filterkennlinien eine wichtige charakteristische Größe für Applikationen, in denen Filter, zum Beispiel für das Sammeln von Filterproben, eingesetzt werden. Für zwei Filtermaterialien, die für Luftprobenahmen eingesetzt werden sollen, ist es notwendig, die Filterkennlinie aufzunehmen. In dieser Arbeit diente als experimenteller Aufbau ein Querflussvernebler, der mit 4 lpm Stickstoff betrieben, Aerosole aus einer 2%igen Glucoselösung erzeugte. Diese wurden durch einen Diffusionstrockner geleitet und mit gefilterter Druckluft gemischt. Mit zwei zusätzlichen Pumpen wurde ein Volumenstrom von 3 m<sup>3</sup>/h erzeugt, mit dem Filtermaterialien getestet werden sollten. Die Partikelgrößenverteilung im Aerosolfluss wurde jeweils mit und ohne Filter mit einem APS (Aerodynamic Particle Sizer, TSI Modell 3310) gemessen. Als Filtermaterialien standen ein Polycarbonatfilter (Millipore) und ein Cellulosenitratfilter (Sartorius) zur Verfügung. Die Aerosolgrößenverteilung durch Zerstäuben von 2% Glucoselösung zeigt Abbildung 6.1.

Aus dem Verhältnis der Differenz der Messungen mit und ohne Filter zur Aerosolkonzentration vor dem Filter berechnet sich die Filtereffizienz. Diese ist in Abbildung 6.2 für die beiden Filtermaterialien Cellulosenitrat und Polycarbonat dargestellt. Für Partikel unter 1  $\mu\text{m}$  sinkt die Filtereffizienz unter 99% ab. Ein Filterloch deutet sich bei 0.7  $\mu\text{m}$  an. Der Filter sollte auf einen Partikelgrößenbereich über 1  $\mu\text{m}$  getestet werden. Hier zeigt sich eine Effizienz von größer 99.6%.

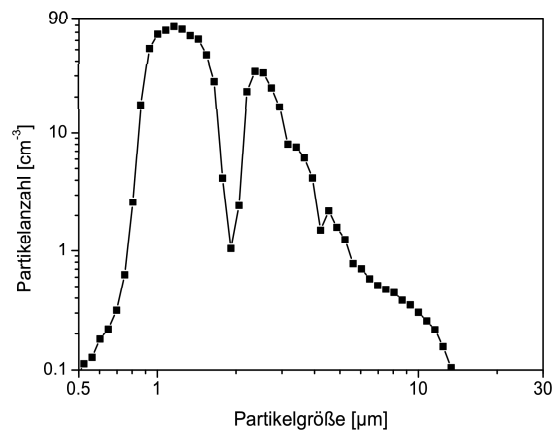


Abbildung 6.1: Partikelgrößenverteilung erhalten aus Zerstäuben von 2% Glucose-Lösung, gemessen mit einem APS 3310. Die verwendete Glucose-Lösung ist für Größenbereiche bis 10  $\mu\text{m}$  einsetzbar.

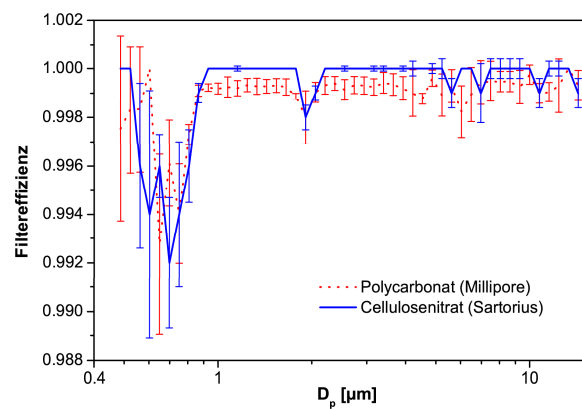


Abbildung 6.2: Filtereffizienzen von Cellulosenitrat und Polycarbonat Filtern (Porengröße 2  $\mu\text{m}$ ) gemessen mit einer Aerosolgrößenverteilung wie in Abbildung 6.1 mit einem APS 3310.

## 6.2 Messungen von Meerwasseraerosol

Wie im experimentellen Teil (3.7.3) beschrieben, wurde zusammen mit der Universität Bayreuth der Aerosolaustrag bei bewegtem Meerwasser im Modellreaktor mit dem Outdoor-ELPI und einem optischen Partikelzähler (OPC) untersucht. Ein Bild vom Gesamtaufbau befindet sich im Anhang 8.8.

Die Meeresbewegung wurde mittels einer porösen Membran, die unter Wasser von Druckluft durchströmt wurde, simuliert. Auch beim Ineinanderschlagen von Wellen entstehen Luftbläschen, die zur Wasseroberfläche durchdringen und dort platzen. Dabei werden Tröpfchen oder Partikel in die Atmosphäre freigesetzt. Meerwasser enthält eine Vielzahl von gelösten und suspendierten Komponenten. Ziel dieser Untersuchungen war es, den Einfluss auf die Aerosolverteilungen von Tensidzusatz in das Wasser zu bestimmen.

Zuerst wurde der Reaktor mit Leitungswasser betrieben, um den Grundlevel des Partikelanstosses bei verschiedenen Eintragsraten von Druckluft zu untersuchen. Die Grafik der Partikelanzahlkonzentration (Abbildung 6.3) zeigt einen entsprechenden Anstieg der gemessenen Partikel mit der Belüftungsrate. Es deutet sich dabei auch an, dass es für die Aerosolerzeugung im gegebenen Modellreaktor eine maximale Belüftungsrate gibt. Die Begrenzung ist vermutlich von den geometrischen Dimensionen des Reaktors sowie der Eintauchtiefe und Größe der Belüftungsmembran abhängig.

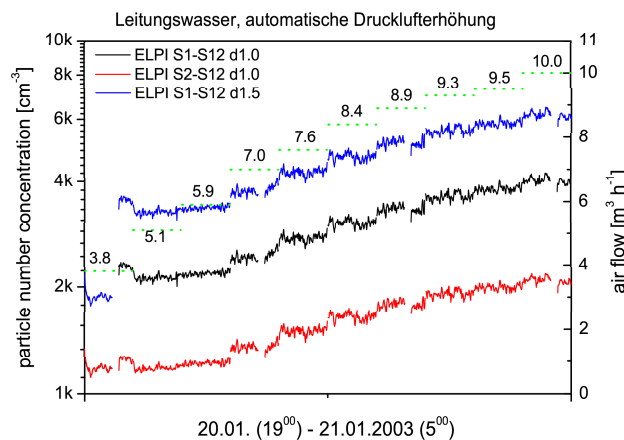


Abbildung 6.3: Die Grafik zeigt die Abhängigkeit der Gesamtpartikelanzahlkonzentration von der Belüftungsrate des Meersimulators bei Befüllung mit Leitungswasser. Die Daten wurden mit dem Outdoor-ELPI aufgezeichnet.

Die Größenverteilung des Aerosols zeigt die Abbildung 6.4 für den ELPI und Abbildung 6.5 für den optischen Partikelzähler.

Beide Messgeräte zeigen einen leichten Anstieg der Partikelkonzentration auf allen

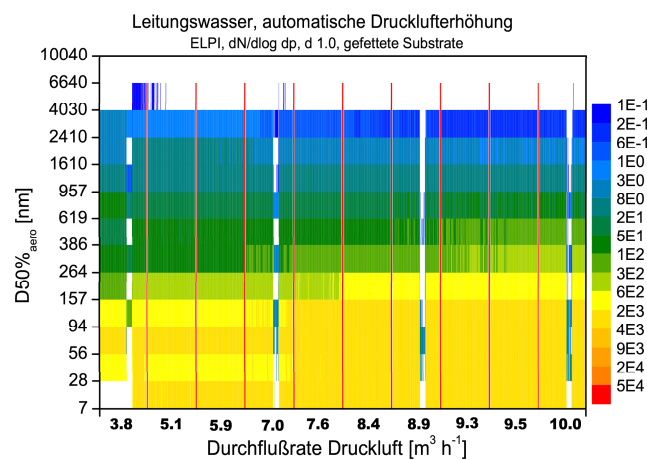


Abbildung 6.4: Die Grafik zeigt die Abhängigkeit der Partikelgrößenverteilung von der Belüftungsrate des Meersimulators bei Befüllung mit Leitungswasser. Die Daten wurden mit dem Outdoor-ELPI aufgezeichnet.

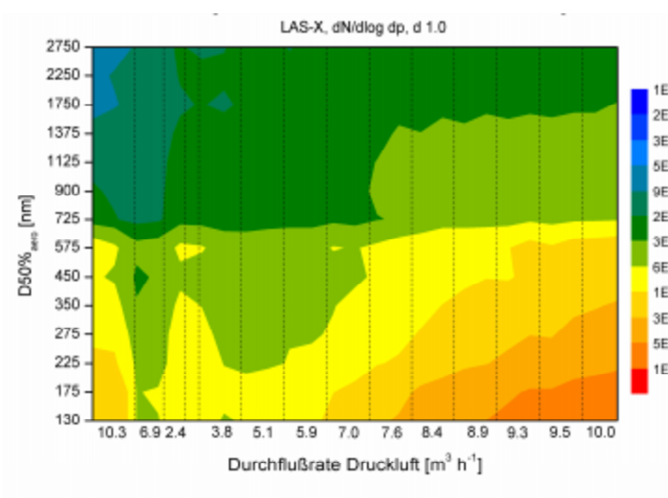


Abbildung 6.5: Die Grafik zeigt die Abhängigkeit der Partikelgrößenverteilung von der Belüftungsrate des Meersimulators bei Befüllung mit Leitungswasser. Die Daten wurden mit dem LAS-X aufgezeichnet.

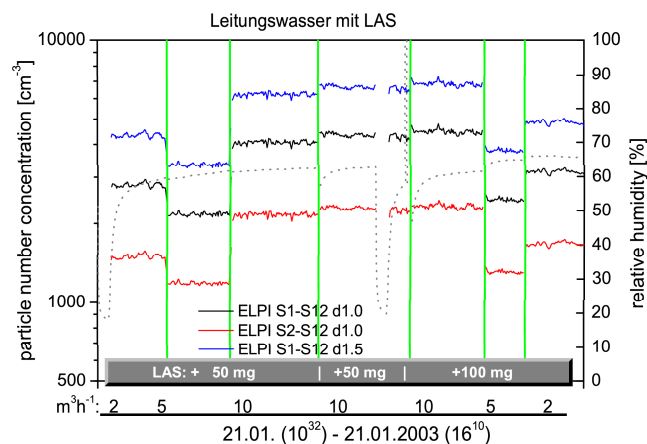


Abbildung 6.6: Die Grafik zeigt die Abhängigkeit der Partikelanzahlkonzentration von der Belüftungsrate des Meersimulators bei Befüllung mit Leitungswasser und unterschiedlichen LAS-Dosen. Die Daten wurden mit dem Outdoor-ELPI aufgezeichnet.

Größenkanälen mit steigender Belüftungsrate. Die absoluten Anzahlkonzentrationen stimmen nicht überein, wobei das LAS-X nicht vor den Experimenten kalibriert wurde und die Messbereiche der Geräte nicht angeglichen wurden. Der Messbereich des ELPI schließt den des LAS-X vollständig ein. Somit ist die Partikelanzahlkonzentration im ELPI wesentlich höher als die, die vom LAS-X erfasst wird. Auch wenn sich die absoluten Zahlen unterscheiden, zeigen beide Geräte einen konsistenten Verlauf der Größenverteilung.

Anschließend wurde schrittweise zum mit Leitungswasser gefüllten Reaktor das Tensid LAS zudosiert und die Belüftungsrate variiert. Die Änderungen der Gesamtpartikelkonzentration zeigt Abbildung 6.6. Aus der Grafik kann man erkennen, dass die minimalen Mengen des zugesetzten Tensids die Partikelanzahlkonzentration nicht wesentlich beeinflusst. Dies resultiert aus der geringen Menge des Tensids im Vergleich zu den Ionenkonzentrationen, die im Leitungswasser um ein Vielfaches die Konzentration von LAS übersteigen. Gut zu erkennen ist die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Im Bereich der Belüftungsrate von  $5 \text{ m}^3/\text{h}$  wurde ein Minimum an Aerosolproduktion gemessen.

Abbildung 6.7 zeigt die Partikelgrößenverteilung der mit LAS zudosierten Proben in Vergleich zu Leitungswasser. Diese unterscheidet sich nicht auffällig von der Verteilung aus reinem Leitungswasser. Auch die Messung mit dem LAS-X zeigt die Reproduzierbarkeit der Werte (Abbildung 6.8).

Schließlich wurde der Reaktor mit Meerwasser neu befüllt und ebenfalls der Einfluss der Belüftungsrate gemessen. Die Gesamtpartikelanzahlkonzentration liegt im Vergleich zum Leitungswasser durch die erhöhte Ionenkonzentration deutlich höher (Abbildung 6.9). Dies spiegelt sich auch in der Darstellung der gemessenen Partikelgrößenverteilung.

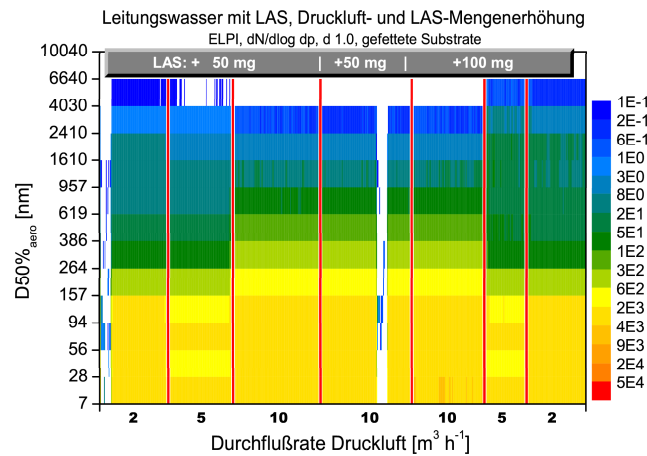


Abbildung 6.7: Die Grafik zeigt die Abhängigkeit der Partikelgrößenverteilung von der Belüftungsrate des Meersimulators bei Befüllung mit Leitungswasser und unterschiedlichen LAS-Dosen. Die Daten wurden mit dem Outdoor-ELPI aufgezeichnet.

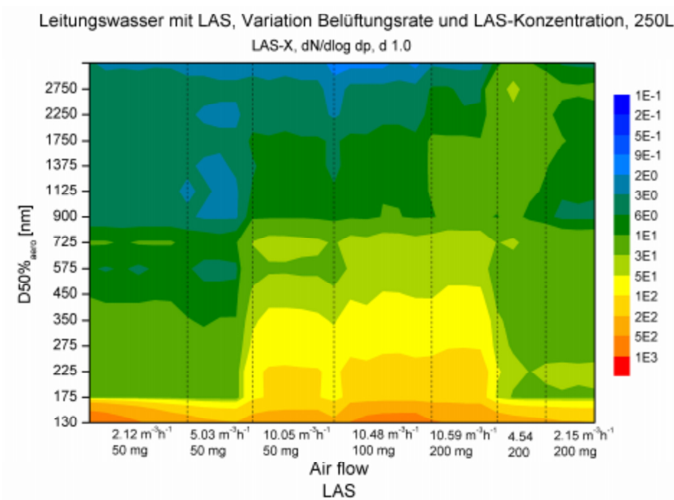


Abbildung 6.8: Die Grafik zeigt die Abhängigkeit der Partikelgrößenverteilung von der Belüftungsrate des Meersimulators bei Befüllung mit Leitungswasser und unterschiedlichen LAS-Dosen. Die Daten wurden mit dem LAS-X aufgezeichnet.



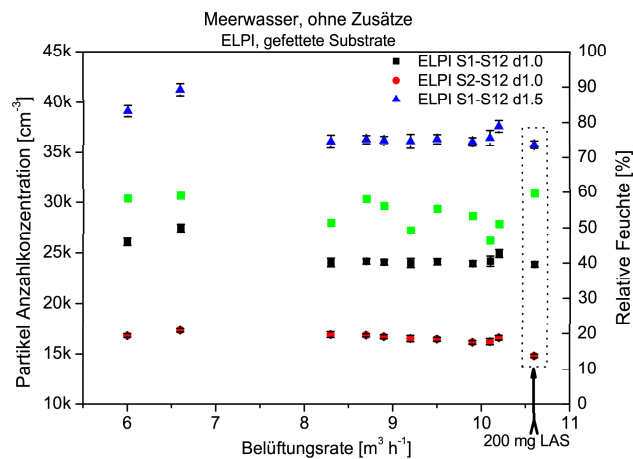


Abbildung 6.9: Die Grafik zeigt die Partikelanzahlkonzentration bei verschiedenen Belüftungsraten des Meersimulators bei Befüllung mit Meersalzwasser. Die Daten wurden mit dem Outdoor-ELPI aufgezeichnet.

gen wider (Abbildung 6.10). Bei gleichbleibender Farbskalierung zeigt sich eine starke Zunahme im Größenbereich 7 nm bis  $2.4 \mu\text{m}$ . Die Belüftungsrate zeigt keinen wesentlichen Einfluss mehr auf die Aerosolbildung.

Nach der Zudosierung von Zusätzen wie polyzyklischen, aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) oder Styrol, die für die chemische Analyse zugegeben wurden, zeigt sich eine Änderung in der Größenverteilung (Abbildung 6.12). Es bilden sich Maxima der Größenverteilung bei  $<30 \text{ nm}$  und 94 bis  $264 \text{ nm}$  heraus. Setzt man zu dieser Lösung dann noch das Tensid LAS hinzu, wird das zweite Maximum deutlich schmaler, 157 bis  $264 \text{ nm}$  (Abbildung 6.13). Voruntersuchungen von Herrn Radke (Universität Bayreuth) ließen dieses Ergebnis vermuten und konnte durch die Experimente bestätigt werden. Bei Zusätzen von organischen Substanzen in das Meerwasser bilden sich Moden in der Aerosolgrößenverteilung. Unter dem Einfluss von Tensiden als oberflächenaktive Substanzen im Wasser verschmälern sich diese. Der Eintrag von den anthropogenen Stoffen in das Meerwasser verändert folglich die Aerosolbildung.

Die thermochemische Analyse der Substrate ergab die in Abbildung 6.11 dargestellten Ergebnisse.

Die Ergebnisse zeigen, dass sich die organischen Komponenten auf zwei Größenbereiche, 56 bis  $264 \text{ nm}$  und 1.6 bis  $4 \mu\text{m}$ , verteilen. Da aber der größte Anteil der Partikel schließlich aus dem anorganischen Meersalz besteht, stimmt die dargestellte Kohlenstoffverteilung nicht mit der aus den ELPI-Messdaten berechneten Partikelmassenverteilung überein.

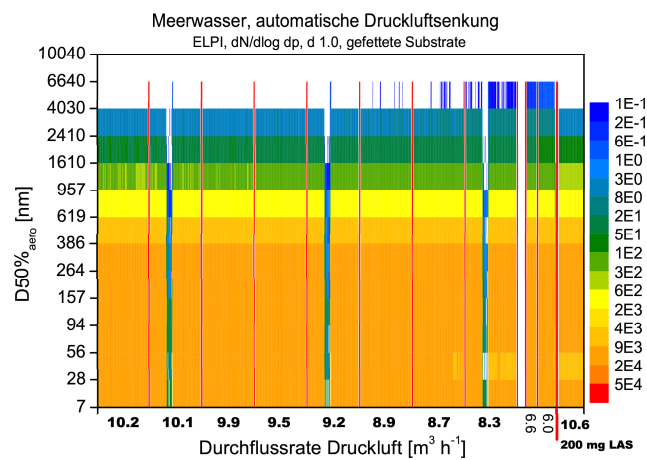


Abbildung 6.10: Die Grafik zeigt die Partikelgrößenverteilung bei verschiedenen Belüftungsrate des Meersimulators bei Befüllung mit Meersalzwater. Die Daten wurden mit dem Outdoor-ELPI aufgezeichnet.

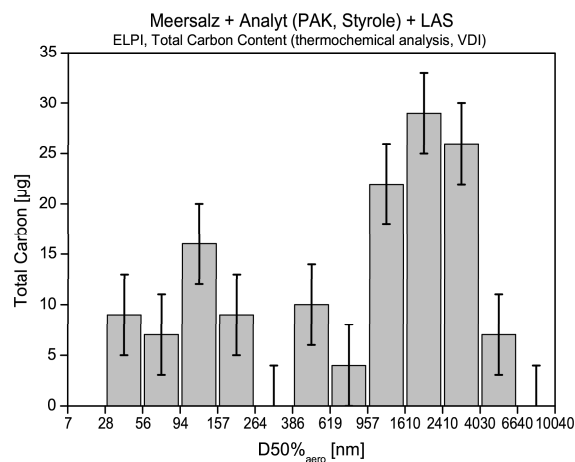


Abbildung 6.11: Die Grafik zeigt die Analyse der ELPI-Impaktorsubstrate mittels thermochemischer Analyse. Das beprobte Aerosol wurde in einem Meersalzwater-Reaktor unter Zusätzen von PAK, Styrol und LAS erzeugt.

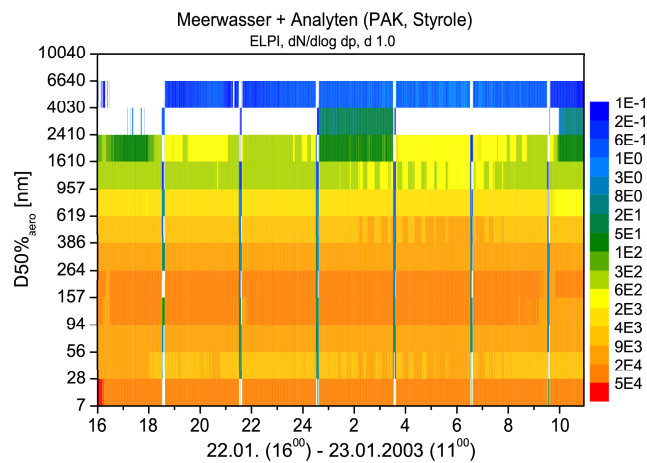


Abbildung 6.12: Die Grafik zeigt die Partikelgrößenverteilung bei verschiedenen Belüftungsrate des Meersimulators bei Befüllung mit Meersalzwasser und analytischen Zusätzen (PAK, Styrol). Die Daten wurden mit dem Outdoor-ELPI aufgezeichnet.

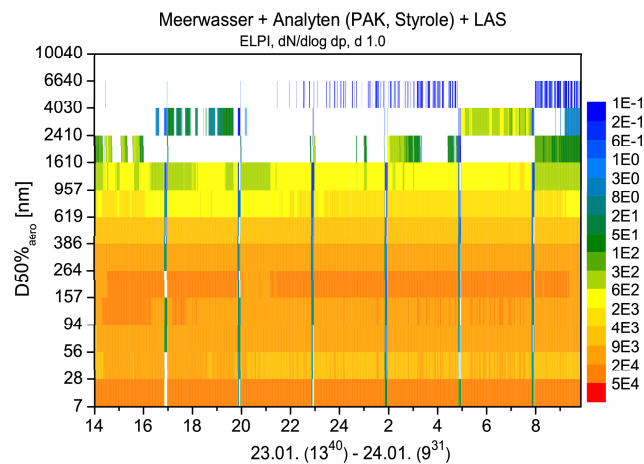


Abbildung 6.13: Die Grafik zeigt die Partikelgrößenverteilung bei verschiedenen Belüftungsrate des Meersimulators bei Befüllung mit Meersalzwasser und analytischen Zusätzen (PAK, Styrol) sowie Tensid (LAS). Die Daten wurden mit dem Outdoor-ELPI aufgezeichnet.

### 6.3 Staub-Emissionsmessung in einem Schwellenwerk der Bahn

Eine interessante Auftragsmessung ergab sich bei der Deutschen Bahn in einem Schwellenwerk. Dort werden im Jahr circa 100000 laufende Meter Holzschwellen mit Teeröl imprägniert und bearbeitet.

Die Aufgabe lautete, die Emission von Partikelstaub während des Tränkungs Vorganges quantitativ zu erfassen. Dazu wurden im Aussenbereich an einem neun Meter hohen Kamin des Emissionskessels Messungen mit Partikelgrößenmesstechniken (APS, SMPS), der Gesamtpartikelkonzentration (CPC) sowie der Feuchte- und Temperaturmessungen des Aerosolstroms im Kamin durchgeführt. Zur Messung des Partikelmasseausstoßes wurden Filterproben gezogen. Alle Partikelmesstechniken sind einem Thermodenuder, der bei 52°C betrieben wird, nachgeschaltet (siehe Abbildung 6.14).

Die Holzschwellen werden in Abhängigkeit der Holzart nach Varianten des Rüping-Verfahrens imprägniert. Nach dem Einfahren des Holzes in den Tränkkessel wird ein Luftvordruck bereitgestellt. Dieser wird circa 30 Minuten gehalten. Unter Beibehaltung des Luftvordruckes wird der Kessel mit 110 - 120 °C heißem Steinkohlenteeröl geflutet. Der Druck wird auf 9 bar erhöht. Temperatur und Druck werden, in Abhängigkeit der Holzart, circa zwei Stunden gehalten. Nach der Druckphase folgt eine Vakuumphase über 2 Stunden. Das abgepumpte Gas wird über Abscheidekühler geleitet. Über Nacht kühlt dann das Holz auf circa 50 °C unter Normaldruck ab. Danach werden die Wagen mit dem Holz zum Abtropfen aus den Tränkkesseln in den Aussenbereich des Werks gezogen.

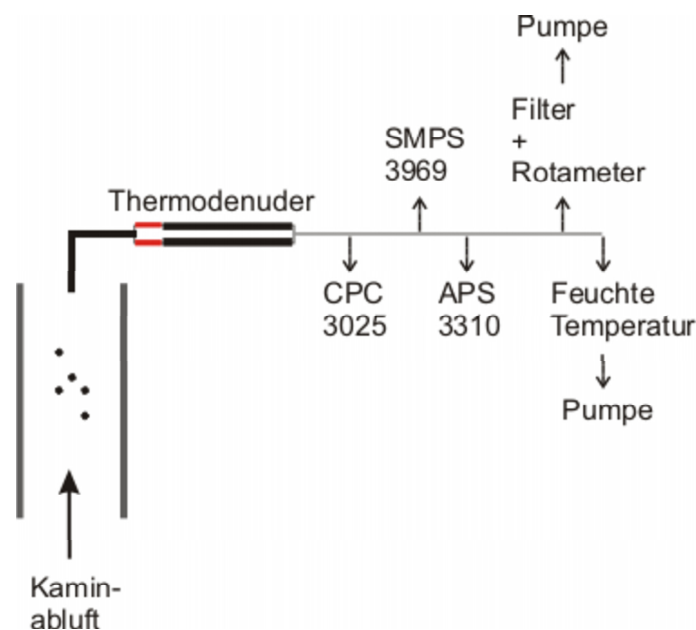


Abbildung 6.14: Grundlegender Aufbau der Emissionsmessung in einem Schwellenwerk der Deutschen Bahn.

Tabelle 6.1: Filterproben der Emissionsmessung im Schwellenwerk Schwandorf.

Probe	Beprobungsvolumen m <sup>3</sup>	Gewicht mg	Massenkonzentration mg m <sup>-3</sup>
1	424	0.70	1.2
2	1454	0.73	0.38
3	872	9.95	11
4	0	0.18	

Von dem Bereich der Tränkkessel ist circa 15 m entfernt der Emissionskessel mit 45 m<sup>3</sup> Volumen. In diesem befinden sich Prallplatten zur Tröpfchenabscheidung. Da der Tank schwarz ist und im Freien steht, ist die Temperatur des Abgases im Wesentlichen von der Sonneneinstrahlung und der Außentemperatur abhängig. Der Durchfluss durch den Tank ist nicht geregelt.

Die Probenahme erfolgt aus der Mitte des Kaminrohres. Die Messgeräte APS und SMPS und CPC ziehen zusammen 2.3 lpm Aerosol durch interne Pumpen an. Der Filterhalter, aus Aluminium mit einem Durchmesser von 47 mm, wird mit Quarzfaserfiltern der Firma Schleicher & Schuell bestückt. Den Durchfluss durch die Filter erzeugt eine externe Pumpe und wird mit einem Rotameter auf 1 lpm eingestellt.

Die Filterproben wurden ausgewogen und die abgeschiedene Masse in Abhängigkeit des Durchflusses bestimmt.

Aus den Filterwerten wurde der Massestrom berechnet und mit den Grenzwerten laut TA Luft abgeglichen. In der TA Luft (Pkt 3.1.3 Gesamtstaub) sind folgende Grenzwerte genannt. Die im Abgas enthaltenen staubförmigen Emissionen dürfen bei einem Massenstrom von mehr als 0.5 kg/h die Massenkonzentration von 50 mg/m<sup>3</sup> und bei einem Massenstrom bis einschließlich 0.5 kg/h die Massenkonzentration 0.15 g/m<sup>3</sup> nicht überschreiten. Aus den Filterdaten ergibt sich, dass die Emissionsbeschränkungen eingehalten wurden.

Die aufgezeichneten Partikeldata konnten den Tränkvorgängen laut Tränkdigramm gut zugeordnet werden. Die Abbildung 6.15 zeigt die vom CPC aufgezeichnete Partikelkonzentration. In die Graphik sind die Tränkdigramme eingebettet. Da zwei Kessel mit kurzem Zeitversatz simultan bearbeitet wurden, ergibt sich die Partikelanzahlkurve aus der Überlagerung zweier Vorgänge.

Das SMPS zeigt in der Abbildung 6.16 bei der Partikelgrößenverteilung einen Aerosolbereich von 30 bis 200 nm. Zum Zeitpunkt der Entspannungsphase in den Kesseln erfolgt, wie auch hier deutlich ersichtlich, der entscheidende Partikelaustritt, ebenfalls in diesem Größenbereich.

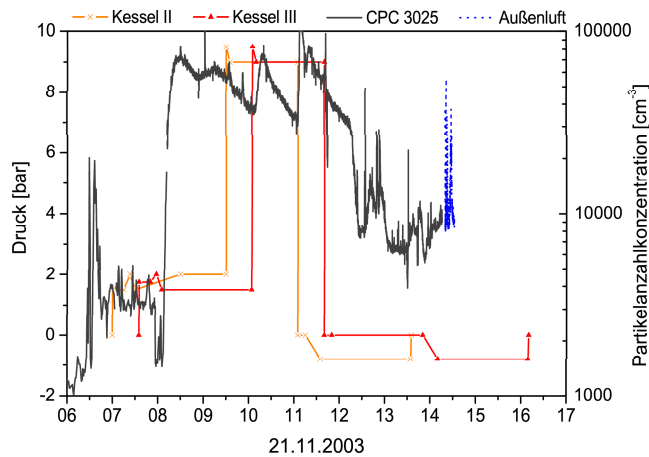


Abbildung 6.15: Der Partikelausstoss am Emissionstank während der Tränkung in zwei Tränkkesseln. Die grüne und die rote Kurve zeigen die Tränkdigramme als Druck/Zeit-Kurven. Die schwarze Linie ergibt die Partikelanzahlkonzentration, die am Kamin des Emissionstanks erfasst wurde. Die blaue Kurve zeigt zum Vergleich die Partikelanzahlkonzentration in der Aussenluft.

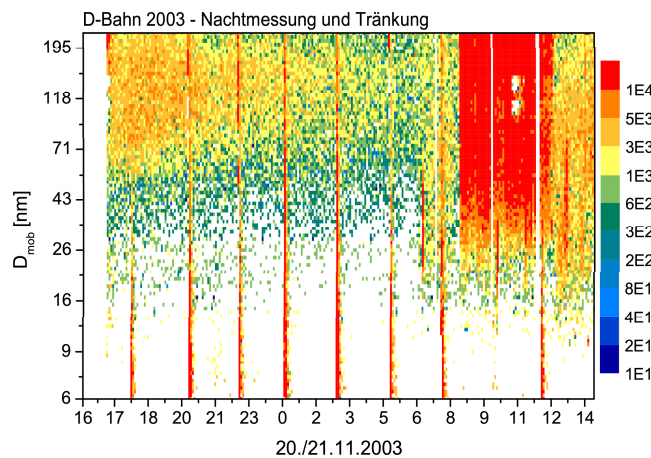


Abbildung 6.16: Der Partikelausstoss am Emissionstank während der Tränkung in zwei Tränkkesseln. Die grüne und die rote Kurve zeigen die Tränkdigramme als Druck/Zeit-Kurven. Die schwarze Linie ergibt die Partikelanzahlkonzentration, die am Kamin des Emissionstanks erfasst wurde. Die blaue Kurve zeigt zum Vergleich die Partikelanzahlkonzentration in der Aussenluft.

## 7 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene Messmethoden der Kohlenhydratspurenanalytik hinsichtlich ihrer Einsatzfähigkeit bei der Aerosolbestimmung/-analytik untersucht. Es wurden die als Glucose-Enzymtest, BioLC und enzymatische Hydrolyse bezeichneten Verfahren eingesetzt. Dabei wurden zunächst in Laborversuchen die Arbeitsparameter der ersten beiden Verfahren anhand von bekannten Glucose-Standards bestimmt. Anschließend wurden die Verfahren auf Realproben angewendet.

Als Ergebnis der Untersuchungen mit dem Glucose-Enzymtest ist festzustellen, dass dieser relativ unempfindlich gegenüber Störungen ist. Die regelmäßig durchgeführten Kalibrierungen der Testmethode waren über einen Zeitraum von drei Jahren hinweg stabil. Die der Testmethode zugeordneten Konzentrationsbereiche konnten voll ausgeschöpft und die Nachweisgrenze konnte reproduzierbar angefahren werden. Hinsichtlich der Abhängigkeit der Kalibrierung der Testmethode wurde festgestellt, dass selbst durch Beimischen von Maleinsäure die Kalibrierung nicht wesentlich beeinflusst wurde, obwohl in der Anleitung zur Durchführung des Tests ein optimaler pH-Wert der Proben vorgegeben ist. Einen deutlicheren Einfluss auf die Messergebnisse hat jedoch die Anwesenheit von chromophoren Gruppen in den zu analysierenden Proben. So zeigte sich, dass die aufgearbeiteten Proben mit chromophoren Gruppen eine starke Färbung aufweisen, die einen Einfluss auf die Lichtabsorption bei 340 nm hat. Beim Glucose-Enzymtest werden zur Auswertung Absorptionsdifferenzen, nicht Absolutwerte, verwendet. Als Ergebnis dieser Untersuchungen kann festgehalten werden, dass solange eine Absorption und damit auch eine Absorptionsdifferenz im sichtbaren Bereich messbar ist, sich Anwesenheit von chromophoren Gruppen nur gering auf das Messergebnis auswirkt. Ergänzend ist zu bemerken, dass die Art des Enzymtests auch bei weiteren Kohlenhydraten anwendbar ist.

Als weiteres Verfahren zur Glucosebestimmung kam das BioLC zum Einsatz. Dieses Verfahren erwies sich jedoch als äußerst kostenintensive und zeitaufwendige Methode und führte nur zu einem geringen Erfolg. Im Gegensatz zum Glucose-Enzymtest wurde festgestellt, dass eine Langzeitkalibrierung nicht möglich war. Die Kalibrierkurven variierten von Tag zu Tag in Steigung, Empfindlichkeit und Offset. Grund für die gravierenden Variationen bei der Kalibrierung war die Instabilität der Säule und ein kontinuierlicher Verschleiß der Messelektrode. Daneben wurde auch eine starke Abhängigkeit der Messergebnisse von anderen Substanzen und pH-Wert festgestellt. Als Folge hiervon musste zum Beispiel für den Betrieb der Kohlenhydratanalytik eine spezielle Vorsäule

zur Abtrennung von Aminosäuren vorgesehen werden. Als Vorteil dieses Verfahrens ist zu nennen, dass es in der Lage ist verschiedene chemische Substanzen mit ähnlichen Oxidationspotentialen zu detektieren. Für die simultane Erfassung mehrerer Komponenten aus einer Probe kann dies von Vorteil sein. Jedoch ist es nicht möglich verschiedene Zucker zu erfassen, deren Signale so eng aufeinander folgen, dass eine Basislinientrennung nicht möglich ist. Beispielsweise sind Galaktose und Glucose nicht separat messbar. In den verwendeten Konfigurationen des BioLC ergab sich für beide Substanzen ein gemeinsames Signal.

Fazit der Untersuchungen zu den verschiedenen Analyseverfahren: Der Glucose-Enzymtest erwies sich als die geeignetste Methode zur Bestimmung des Glucoseanteils einer Probe.

Die beiden beschriebenen Verfahren sind Basis für die Bewertung der Cellulosehydrolyse. Die enzymatische Hydrolyse lieferte bei Modellproben, wie zum Beispiel reiner Cellulose auf Glasfaser- oder Aluminiumsubstraten durchaus brauchbare Ergebnisse. Bei diesem Verfahren ist allerdings zu beachten, dass nicht nur die Enzymeigenschaften von Hersteller zu Hersteller variieren, sondern deren Eigenschaften auch chargenabhängig sind. Weiterhin ist bei enzymatisch katalysierten Reaktionen das Verhältnis von Enzym- und Substratmenge zu beachten. So kann beispielsweise durch einen Überschuss an Substrat oder einen Überschuss des Reaktionsprodukts eine Hemmung der Enzymreaktion auftreten. Im Gegenzug führt eine zu geringe Enzymmenge zu einer unvollständig ablaufenden Reaktion. Diese Aspekte sind insbesondere bei der Cellulosehydrolyse von Cellulase und Cellobiohydrolase zu beachten. In Modelltestreihen wurde das Verhältnis von Enzymmenge zu Substrat bei jeweiliger Verdoppelung der Enzymmenge untersucht und festgestellt, dass der Wert der Hydrolyseeffizienz gleich blieb, während sich der Blindwert verdoppelte. Der Blindwert stellt den berechneten Cellulosegehalt einer Probelösung ohne Cellulose nach der Inkubation dar. Eine Erhöhung der Blindwerte bedeutete folglich eine starke Verunreinigung der Enzymlösung mit Glucose. Daher war es nötig, alle kommerziell erworbenen Enzyme durch eine Größenausschlusschromatographie aufzuarbeiten. In der Größenausschlusschromatographie werden alle Moleküle mit einem niedrigen Molekulgewicht in einem Säulenmaterial zurückgehalten, während die Makromoleküle die Säule durchlaufen. Hiermit ist es möglich, die Enzyme zu reinigen. Als Ergebnis dieser Untersuchungen wurde festgestellt, dass der Blindwert um mehr als einen Faktor 10 abgesenkt werden konnte. In Folge dessen konnte auch die Nachweisgrenze auf wenige Mikrogramm Cellulose abgesenkt werden. Weitere Untersuchungen richteten sich auf die Einflussparameter der Wiederfindung. Dazu wurden definierte Cellulosemengen zu vermessenden Realproben addiert. Es musste festgestellt werden, dass die Standardadditionen nicht immer im anteilmäßigen Prozentsatz wiederzufinden waren. Die Ergebnisse legten die Vermutung nahe, dass die Matrix in einer atmosphärischen Filterprobe die Hydrolyseeffizienz beeinflusst. So zeigten die Ergebnisse der Filterproben eines atmosphärischen Aerosols jeweils andere Zusammensetzungen



und eine Variation in der Wiederfindung von Cellulose. Daher konnten, entgegen der ursprünglichen Annahme, die Modellsubstrate mit den Cellulosestandards nicht zur Bestimmung des Umsatzes der Gesamtaufarbeitung herangezogen werden. Sie dienten ausschließlich der Kontrolle des Zustands der Enzyme. Weiterhin senkte die Aufarbeitung der Filterproben durch Extraktionsschritte die Wiederfindung bei den Modellsubstraten so stark ab, dass letztendlich auf die Extraktion verzichtet werden musste. Insgesamt konnte bei einer Hydrolyseeffizienz von 50 - 80% bei sehr niedrigen Nachweisgrenzen von wenigen Nanogramm pro Kubikmeter beprobtem Volumen nur vereinzelt Cellulose in den PM2.5-Proben nachgewiesen werden.

Im weiteren wurden Feldmessungen an drei verschiedenen Standorten durchgeführt. Dabei wurden Filterproben im Stadtgebiet von München (Großhadern), auf dem Hohenpeißenberg und der Zugspitze gewonnen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 7.1 dargestellt. Dabei zeigte sich eine kontinuierliche Abnahme des Celluloseanteils in den Filterproben ausgehend von Großhadern mit 1.5% an PM2.5, entsprechend  $0.18 \mu\text{g m}^{-3}$  Cellulose, Hohenpeißenberg mit gemittelt 0.47% an PM2.5, entsprechend  $0.042 \mu\text{g m}^{-3}$  Cellulose, und der Zugspitze mit 0.6% PM2.5, entsprechend  $0.023 \mu\text{g m}^{-3}$  Cellulose.

Tabelle 7.1: Cellulose in PM2.5-Filterproben der drei Messstellen Großhadern, Hohenpeißenberg und Zugspitze.

Probe	Cellulose	
	%PM2.5	$\mu\text{g m}^{-3}$
Großhadern		
GH 2001-8	1.5	0.180
Hohenpeißenberg		
MOHp 2003-23	0.7	0.020
MOHp 2003-26	0.3	0.031
MOHp 2003-27	0.2	0.025
MOHp 2003-29	0.7	0.072
MOHp 2003-30	0.5	0.062
MOHp 2003-31	0.2	0.020
MOHp 2003-34	0.7	0.065
Zugspitze		
SCAVEX 2001-10	0.9	0.039
SCAVEX 2001-11	0.4	0.008

Bei den Feldversuchen kamen auch Messgeräte zur Bestimmung der Partikelverteilungen zum Einsatz. Zu diesen gehörte ein elektrischer Niederdruckimpaktor für atmosphäri-

ches Aerosol (Outdoor-ELPI). Dieses erwies sich als robustes und leicht einsetzbares Instrument. Die Ergebnisse der Partikelverteilungen zeigten vergleichbare Ergebnisse mit bekannten Standardmesstechniken wie dem SMPS und dem CPC. Bei der Auswertung der Daten müssen jedoch die den verschiedenen Messtechniken zugrundeliegenden physikalischen Prinzipien berücksichtigt werden. Das Messprinzip des neu zum Einsatz gekommenen ELPI basiert auf dem aerodynamischen Verhalten eines Partikels beim Durchfliegen einer Düsenanordnung im Impaktorturm. Es wird ein aerodynamischer Durchmesser errechnet. Das SMPS hingegen liefert einen Elektromobilitätsdurchmesser anhand der Bewegung eines geladenen Partikels in einem elektrischen Feld. Ein Vergleich der beiden Messtechniken in Laborversuchen sowie an troposphärischem Aerosol zeigte eine gute Übereinstimmung der Messergebnisse sowohl in der gemessenen Partikelanzahl als auch in der Größenverteilung. Beim Einsatz der Geräte auf dem Hohenpeißenberg zeigten sich jedoch deutliche Abweichungen zwischen dem ELPI und den Standardmesstechniken. Als Grund hierfür konnte die hohe Partikelanzahl in der Filterstufe (7 - 30 nm) festgestellt werden. Es ist bekannt, dass bestimmte organische Verbindungen, wie sie auch in der Umgebung des Messorts vorkommen, unter Anregung mit Licht und/oder Ozon Cluster und Nanopartikel bilden können. Kurzwellige UV-Strahlung und Ozon können jedoch in einer Korona-Entladung entstehen, wie sie im elektrischen Entlader des ELPI benutzt wird. Da dieser Effekt ausschließlich an der Messstelle am Hohenpeißenberg auftrat, liegt die Vermutung nahe, dass es hier zu einer zusätzlichen Partikelbildung in der Entladerstufe des ELPI kam, der die Abweichung zu anderen Standardmesstechniken erklärt.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden Methoden für den Standardbetrieb des ELPI entwickelt. So eignet sich zum Beispiel die Fettung der Substrate, um bounce-off Effekte und Phantomsignale zu vermeiden. Aber auch ohne die Fettung der Substrate konnten mit einer eigens konstruierten, dem ELPI vorgeschalteten Befeuchterkammer die Nebeneffekte bereits deutlich reduziert und stabile Messwerte erhalten werden. Mit dieser Methode war es möglich, die im Impaktor abgeschiedenen Partikel auch für die Spurenanalytik, zum Beispiel zur Analyse von Kohlenstoff oder PAK's (Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe), zu verwenden. Damit wurde es möglich sowohl Partikelverteilungsfunktionen zu bestimmen als auch chemische Analysen durchzuführen.

Abschließend ist festzustellen, dass der ELPI ein erfolgversprechendes Gerät zur Langzeitbeobachtung atmosphärischen Aerosols ist. Die Nachweisgrenzen sowie die Größen- und Zeitauflösung sind ausreichend niedrig, um kurzfristige Ereignisse wie Partikelwachstum und Durchdringen von Grenzschichten zu erfassen. Im Hinblick auf die immer wichtiger werdende Klasse der ultrafeinen Partikel unter 100 nm ist der ELPI aber mit nur zwei bis drei Größenstufen vertreten.

# 8 Anhang

## 8.1 Atmosphärische Filterproben

Tabelle 8.1: Realproben gesammelt mit einem High-Volume-Filtersammler Digital DHA80 (500 L/min) auf 150 mm Faserfiltern. Die Massenzunahme der gewogenen Filter entspricht PM2.5. Das beprobte Volumen  $V_N$  ist auf Standardbedingungen 0°C und 1013 mbar normiert.

Probe	Beprobung	$V_N$ $m^3$	PM2.5	
			mg	$\mu g m^{-3}$
Großhadern/München 2001				
1	19.7. 14:09 - 22.7. 14:07	1927.830	24.2	12.6
2	22.7. 14:07 - 25.7. 14:07	1902.827	14.1	7.4
3	26.7. 09:09 - 28.7. 14:07	1898.538	25.0	13.2
4	28.7. 14:07 - 31.7. 09:20	1780.319	32.0	18.0
5	31.7. 09:22 - 01.8. 09:22	632.521	13.5	21.3
6	01.8. 09:22 - 02.8. 09:22	634.907	15.0	23.6
7	02.8. 09:22 - 03.8. 09:22	629.141	16.3	25.9
8	03.8. 09:22 - 04.8. 09:22	636.347	7.8	12.3
Hohenpeißenberg 2003				
23	18.-23.5. (13:04)	3148.862	9.5	3.0
24	23.-28.5. (13:04)	3113.841	26.4	8.5
25	28.5.-2.6. (13:04)	3099.442	29.9	9.6
26	2.-7.6. (13:04)	3085.041	37.4	12.1
27	7.-12.6. (13:04)	3082.684	34.5	11.2
28	12.-17.6. (13:04)	3102.697	30.5	9.8
29	17.-22.6. (13:04)	3116.746	33.2	10.7
30	22.-27.6. (13:04)	3095.254	39.8	12.9
31	27.6.-2.7. (13:04)	3099.442	29.4	9.5
32	2.-7.7. (13:04)	3139.040	17.6	5.6
33	7.-12.7. (13:04)	3110.241	39.6	12.7
34	12.-17.7. (13:04)	3083.492	29.8	9.7

Tabelle 8.2: Realproben gesammelt mit einem High-Volume-Filtersammler Digital DHA80 (500 L/min) auf 150 mm Faserfiltern. Die Massenzunahme der gewogenen Filter entspricht PM2.5. Das beprobte Volumen  $V_N$  ist auf Standardbedingungen 0°C und 1013 mbar normiert. Fortsetzung der Tabelle 8.1

Probe	Beprobung	$V_N$ m <sup>3</sup>	PM2.5	
			mg	$\mu\text{g m}^{-3}$
Hohenpeißenberg 2003 - Fortsetzung				
36	22.-27.7. (13:04)	3106.649	24.4	7.9
37	27.7. (13:04) - 1.8. (8:00)	3000.435	21.1	7.0
BF13	20.5.-12.6. (13:04)		1.0	
BF15	12.-30.6. (13:04)		0.4	
BF17	30.6.-14.7. (13:04)		0.4	
BF19	14.-31.7.		0.68	
BF20	14.-31.7.		0.85	
Zugspitze 2001				
2	12.8. 11:55 - 15.8. 11:55	1682.516	8.1	4.8
3	15.8. 11:55 - 18.8. 11:55	1676.037	16.9	10.1
4	18.8. 11:55 - 21.8. 11:55	1680.356	10.0	6.0
5	21.8. 11:55 - 24.8. 11:55	1686.836	8.3	4.9
6	24.8. 11:55 - 27.8. 11:55	1673.877	15.5	9.3
7	27.8. 11:55 - 30.8. 11:55	1682.516	15.0	8.9
8	30.8. 11:55 - 04.9. 11:55	2832.275	7.6	2.7
9	04.9. 11:55 - 09.9. 11:55	2843.875	10.1	3.6
10	09.9. 11:55 - 14.9. 11:55	2865.467	12.5	4.4
11	14.9. 11:55 - 19.9. 11:55	2858.274	6.1	2.1
15	04.10. 11:55 - 14.10. 11:55	5608.677	22.4	4.0

## 8.2 Messdaten und -kampagnen Outdoor Air ELPI

Tabelle 8.3: Mit dem Outdoor-Air-ELPI durchgeführte Messkampagnen von 2001 - 2003.

Ort und Datum	Befeuchtung des Aerosolstroms	Fettung der Substrate
Großhadern / München		
2002 29.11. - 02.12.	-	X
2002 02.12. - 06.12.	X	X
2002 06.12. - 17.12.	X	X
Hohenpeißenberg		
2002 17.05. - 23.05.	-	X
2002 25.05. - 06.06.	X	-
2003 13.02. - 20.05.	X	-
Zugspitze		
2001 19.04. - 01.06.	-	X
2001 19.11. - 13.12.	-	X
2002 17.01. - 31.03.	-	X
2002 04.11. - 26.11.	-	X

## 8.3 ELPI-Feldmessdaten Zugspitze November 2002

Die Messdaten dieser Kampagne wurden im November 2002 auf der Zugspitze in der Umweltforschungsstation Schneefernerhaus aufgenommen. Die Tage des 6. und 15.-19. November sind bereits in den Abbildungen des Kapitels 5.4 gezeigt und diskutiert worden.

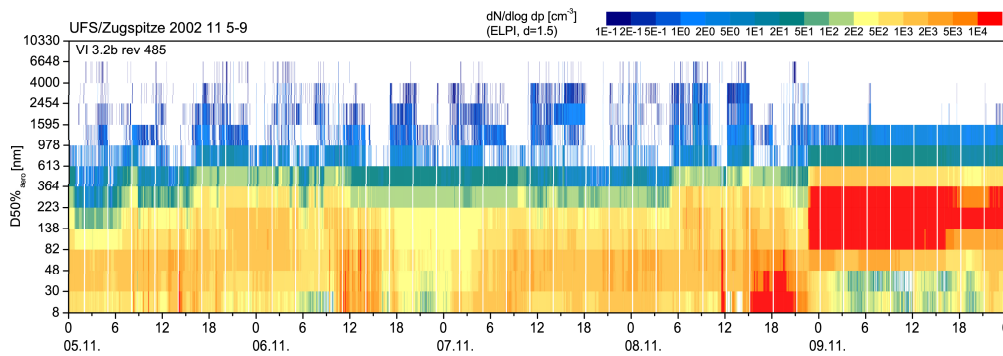


Abbildung 8.1: Zeitreihe einer Partikelanzahlgrößenverteilung eines alpinen Aerosols gemessen auf der Zugspitze, 5.-9.11.2002. Die x-Achse zeigt lokale Zeit; Farbkodierung zeigt die Größenverteilungsfunktion  $dN/d\log D_p$  (weiß  $<10^{-1} \text{ cm}^{-3}$ , rot  $>10^4 \text{ cm}^{-3}$ ). Die y-Achse zeigt aerodynamische 50% Abscheidewerte der 12 Impaktorstufen. Zeitauflösung eine Minute. ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5.

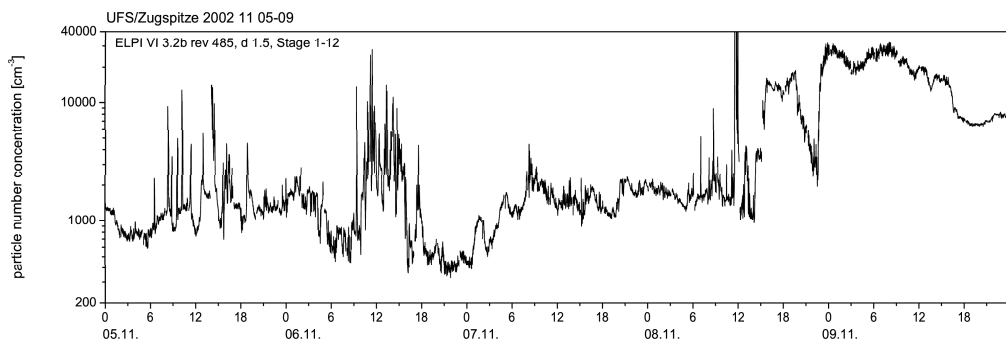


Abbildung 8.2: Zeitreihe einer Partikelanzahlkonzentration eines alpinen Aerosols gemessen auf der Zugspitze, 5.-9.11.2002. Die x-Achse zeigt lokale Zeit und Tage; Die schwarze Kurve zeigt die ELPI-Daten summiert über alle 12 Stufen. Die y-Achse zeigt Gesamtpartikelanzahlkonzentration. ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5.

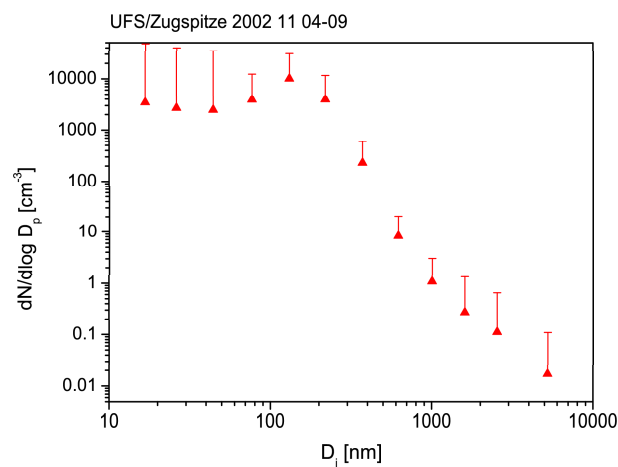


Abbildung 8.3: Mittelung der Zeitreihe einer Partikelanzahlgrößenverteilung alpinen Aerosols gemessen auf der Zugspitze, 5.-9.11.2002. Die x-Achse zeigt lokale Zeit; die y-Achse zeigt die Summe der Partikelanzahlkonzentration aus der Summe der 12 Impaktorstufen. Zeitauflösung eine Minute. ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5.

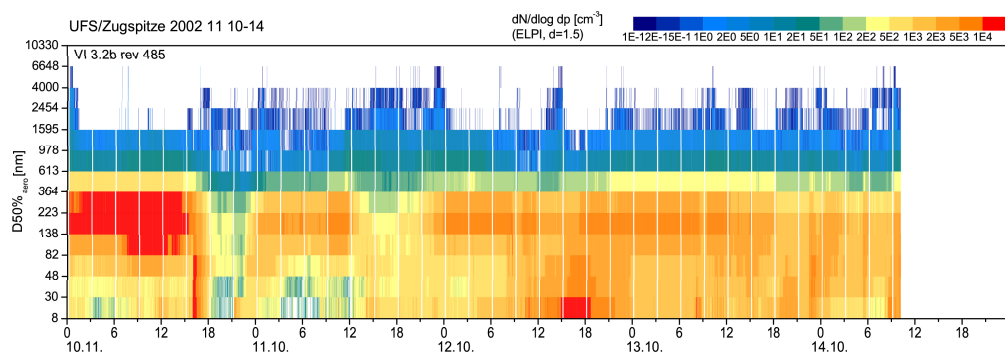


Abbildung 8.4: Zeitreihe einer Partikelanzahlgrößenverteilung eines alpinen Aerosols gemessen auf der Zugspitze, 10.-14.11.2002. Die x-Achse zeigt lokale Zeit; die Farbkodierung zeigt die Größenverteilungsfunktion  $dN/d\log D_p$  (weiß  $< 10^{-1} \text{ cm}^{-3}$ , rot  $> 10^4 \text{ cm}^{-3}$ ). Die y-Achse zeigt aerodynamische 50% Abscheidewerte der 12 Impaktorstufen. Zeitauflösung eine Minute. ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5.

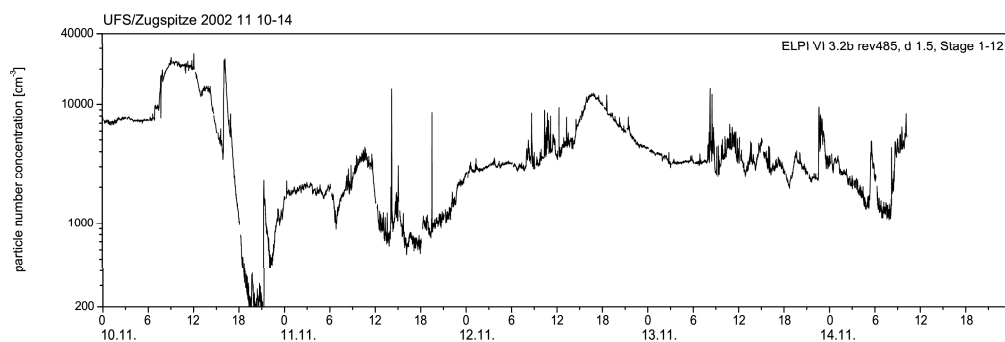


Abbildung 8.5: Zeitreihe einer Partikelanzahlkonzentration eines alpinen Aerosols gemessen auf der Zugspitze 10.-14.11.2002. Die x-Achse zeigt lokale Zeit in Tagen und Stunden; die schwarze Kurve zeigt die ELPI-Daten summiert über alle 12 Stufen. Die y-Achse zeigt Gesamtpartikelanzahlkonzentration. ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5.



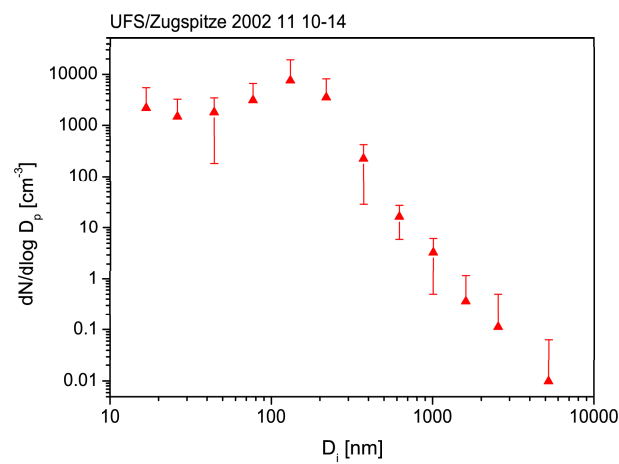


Abbildung 8.6: Mittelung der Zeitreihe einer Partikelanzahlgrößenverteilung eines alpinen Aerosols gemessen auf der Zugspitze, 10.-14.11.2002. Die x-Achse zeigt lokale Zeit; die y-Achse zeigt die Summe der Partikelanzahlkonzentration aus der Summe der 12 Impaktorstufen. Zeitauflösung eine Minute. ELPI-Software VI3.2b rev485, Dichte 1.5.

## 8.4 Initialisierungsparameter Outdoor-ELPI

Die Initialisierungsdateien für die Outdoor-ELPI Software enthalten die Kalibrierdaten des Impaktorturms sowie die Aufladerfunktion bzw. die Funktionsparameter. Die Daten sind damit abhängig von der aktuellen Kalibrierung des ELPI-Systems und hier beispielhaft angegeben. Für aktuelle Parameter ist in den Kalibrierzertifikaten des jeweiligen Zeitraums nachzusehen.

### ELPI-Initialisierungsdaten aus initGH2002.bin (VI Version 3.2b rev485)

[ELPI-DATA FILE]

Date=13/12/2002

Time=13:28:40

Location=Großhadern

Description=Munich

Operator/run=AZ

Cleaned=13/12/2002 13:28

Sampled=greased al-foils

[Impactor Data]

UnitNo=6159

FlowRate(lpm)=29.260

D50values(um)=0.028,0.056,0.094,0.157,0.264,0.386,0.619,0.957,1.610,2.410,4.030,6.640,10.040

Pressure(kPa)=10.000,22.000,38.560,68.400,89.060,97.130,99.620,100.500,101.000,101.160,101.240,101.280,101.320,10.000,38.510,68.190,89.170,97.290,99.730,100.520,101.030,101.200,101.260,101.310,101.330,101.330

ResTime=0.006,0.010,0.018,0.023,0.025,0.026,0.026,0.033,0.033,0.037,0.040,0.047,0.000

FilterStage=TRUE

FilterLow(um)=0.0070

FilterCal=1.0000

[Charger Data]

UnitNo=default

ChargerSetup=Trap low

ChargerI(uA)=1.00

ChargerU(kV)=5.00

TrapU(V)=50.00

Efficiency(Dp/mult/exp)=0.0130,3.0920,1.3915,10.0000,2.0000,1.2902,2.0000,1.2902

[Data Format]

VersionNo=3.2 rev. 485  
DelimiterChar=,  
RawData=Current (fA)  
CalculatedMoment=Number (1/cm<sup>3</sup>)  
CalculatedType=dW  
Density(g/cm<sup>3</sup>)=1.50  
StokesDp=FALSE  
CalculatedDi(um)=0.0154,0.0274,0.0514,0.0888,0.1538,0.2474,0.3855,0.6145,0.9990,  
1.5937,2.5294,5.1774  
Correction=TRUE  
Dilution=1.00

**ELPI-Initialisierungsdaten aus initmohp2003.bin (VI Version 3.2b rev485)**

[ELPI-DATA FILE]

Date=21/05/2002  
Time=10:13:41  
Location=IWC  
Description=Hohenpeißenberg  
Operator/run=Axel  
Cleaned=21/05/2002 10:13  
Sampled=al-foils

[Impactor Data]

UnitNo=6159  
FlowRate(lpm)=29.290  
D50values(um)=0.029,0.059,0.103,0.166,0.255,0.393,0.639,1.000,1.610,2.460,3.990,  
6.610,10.220  
Pressure(kPa)=10.000,21.880,38.480,68.200,89.100,97.150,99.600,100.490,101.000,  
101.160,101.240,101.270,101.320,10.000,38.510,68.190,89.170,97.290,99.730,100.520,  
101.030,101.200, 101.260,101.310,101.330,101.330  
ResTime=0.006,0.010,0.018,0.023,0.025,0.026,0.026,0.033,0.033,0.037,0.040,0.047,0.000  
FilterStage=TRUE  
FilterLow(um)=0.0070  
FilterCal=1.0000

[Charger Data]

UnitNo=Default  
ChargerSetup=Filter stage (trap off)  
ChargerI(uA)=1.00  
ChargerU(kV)=5.00

TrapU(V)=50.00  
Efficiency(Dp/mult/exp)=0.0135,3.0924,1.3915,10.0000,2.0000,1.2902,2.0000,1.2902

[Data Format]

VersionNo=3.2 rev. 485  
DelimiterChar=,  
RawData=Current (fA)  
CalculatedMoment=Number (1/cm<sup>3</sup>)  
CalculatedType=dW/dlogDp  
Density(g/cm<sup>3</sup>)=1.00  
StokesDp=FALSE  
CalculatedDi(um)=0.0142,0.0414,0.0780,0.1308,0.2057,0.3166,0.5011,0.7994,1.2689,  
1.9901,3.1330,6.3857  
Correction=TRUE  
Dilution=1.00

**ELPI-Initialisierungsdaten aus initufs2002.bin (VI Version 3.2b rev485)**

[ELPI-DATA FILE]

Date=19/11/2002  
Time=12:23:27  
Location=Schneefernerhaus  
Description=SCAVEX 2002  
Operator/run=AZ  
Cleaned=14/11/2002 11:56  
Sampled=greased al-foils

[Impactor Data]

UnitNo=6159  
FlowRate(lpm)=29.260  
D50values(um)=0.028,0.056,0.094,0.157,0.264,0.386,0.619,0.957,1.610,2.410,4.030,  
6.640,10.040  
Pressure(kPa)=10.000,22.000,38.560,68.400,89.060,97.130,99.620,100.500,101.000,  
101.160,101.240,101.280,101.320,10.000,38.510,68.190,89.170,97.290,99.730,  
100.520,101.030,101.200,101.260,101.310,101.330,101.330  
ResTime=0.006,0.010,0.018,0.023,0.025,0.026,0.026,0.033,0.033,0.037,0.040,0.047,0.000  
FilterStage=TRUE  
FilterLow(um)=0.0070  
FilterCal=1.0000

[Charger Data]

UnitNo=Default  
ChargerSetup=Trap low  
ChargerI( $\mu\text{A}$ )=1,00  
ChargerU(kV)=5,00  
TrapU(V)=50,00  
Efficiency(Dp/mult/exp)=0.0135,3.0924,1.3915,10.0000,2.0000,1.2902,2.0000,1.2902

[Data Format]

VersionNo=3.2 rev. 485  
DelimiterChar=,  
RawData=Current (fA)  
CalculatedMoment=Number (1/cm<sup>3</sup>)  
CalculatedType=dW/dlogDp  
Density(g/cm<sup>3</sup>)=1.00  
StokesDp=FALSE  
CalculatedDi( $\mu\text{m}$ )=0.0140,0.0397,0.0726,0.1217,0.2036,0.3192,0.4888,0.7697,1.2413,  
1.9698,3.1165,6.3609  
Correction=TRUE  
Dilution=1.00

## 8.5 Aerosol-Befeuchterkammer

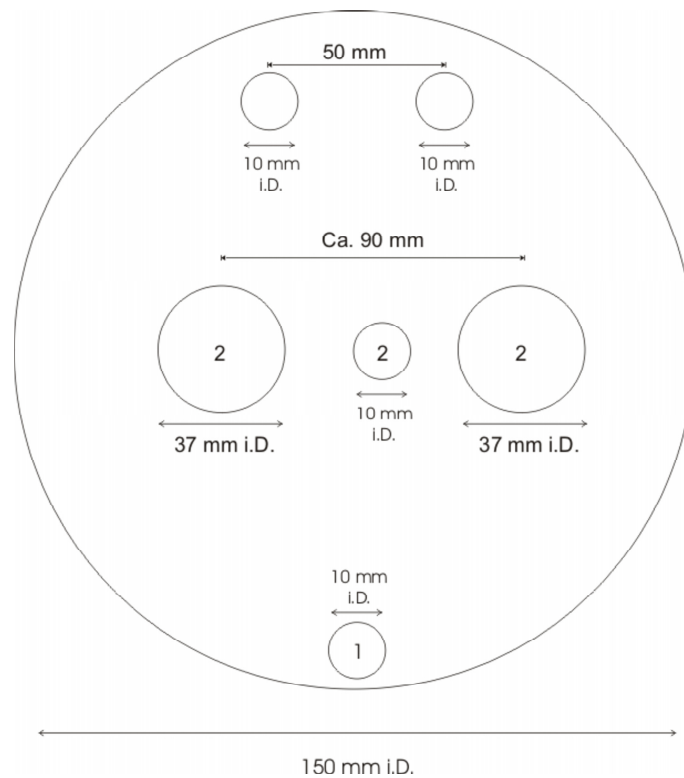


Abbildung 8.7: Konstruktion der Deckplatte der Aerosol-Befeuchterkammer für den Outdoor-ELPI. Der Stahlzylinder, auf dem die Deckplatte gesetzt wird, hat eine Höhe von 450 mm und einen Rauminhalt von circa 7 Litern. An der Seite des Stahlzylinders ist ein Steigrohr angebracht. Gegenüberliegend befindet sich ein absperrender Anschluss für ein Thermometer.

## 8.6 REM-Bilder aus Staubmessung auf der Zugspitze

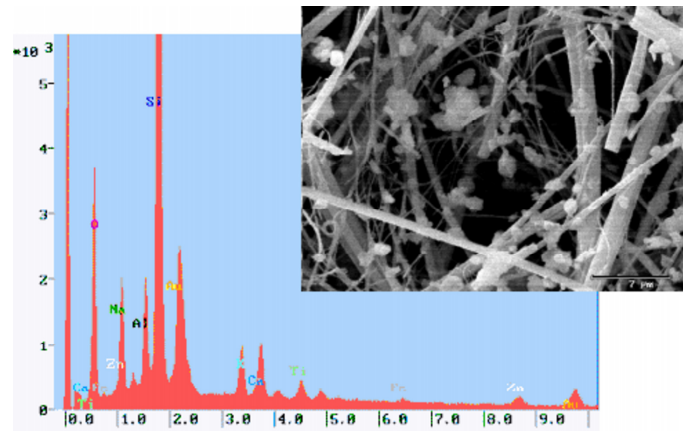


Abbildung 8.8: REM-Aufnahme der Reste einer Filterprobe der Zugspitze (Nr. 15 von 2001). Nach der thermochemischen Analyse schimmerte die Oberfläche des Filters bräunlich-kristallin. Diese Reste könnten Wüstensand darstellen. Die Signale der Elektronenanregung von Silikatsand sind wie zu erwarten vom Glasfasermaterial des Filters nicht zu unterscheiden.

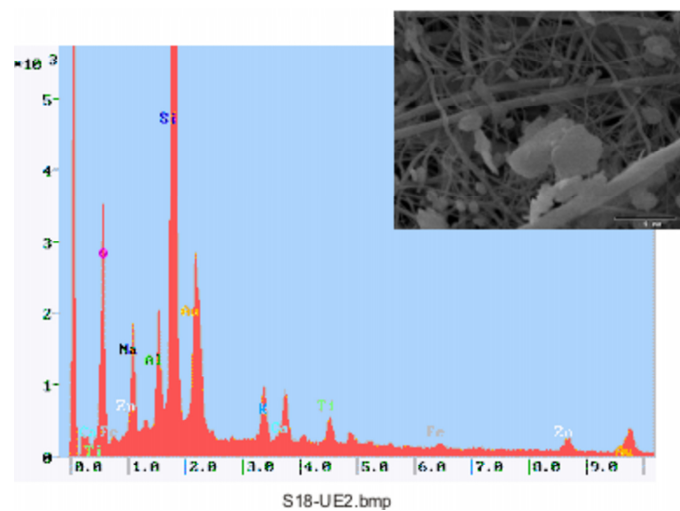


Abbildung 8.9: REM-Aufnahme der Reste einer Filterprobe der Zugspitze (Nr. 18 von 2001). Nach der thermochemischen Analyse schimmerte die Oberfläche des Filters bräunlich-kristallin. Diese Reste könnten Wüstensand darstellen. Die Signale der Elektronenanregung von Silikatsand sind wie zu erwarten vom Glasfasermaterial des Filters nicht zu unterscheiden.



## 8.7 Programmdateien für BioLC

Die Programmierung des BioLC Systems von Dionex erfolgt über Skriptbefehle. Ein Beispiel ist nachfolgend abgedruckt. Für die Anpassung an Messungen sind im Wesentlichen nur die Bereiche der Potentialwerte am elektrochemischen Detektor (ECD), sowie die Zeit- und Konzentrationsänderungen der Laufmittelzusammensetzung neu einzustellen.

### **BioLC-Programm: Run 3Pot AgCl Monomers+dimer #1.pgm**

```
;Date 11.09.2001
;MultiStep-Gradient
; t [min]
; 0 - 16 100 mM NaOH
; 16.1 - 21 100 mM NaOH + 100 mM NaOAc
; 21.1 - 30 100 mM NaOH
;only ECD 3Pot
Pressure.LowerLimit = 50
Pressure.UpperLimit = 3800
%A.Equate = „Wasser“
%B.Equate = „1 M NaOAc“
%C.Equate = „Wasser“
%D.Equate = „250 mM NaOH“
NeedleHeight = 2
CutSegmentVolume = 10
SyringeSpeed = 3
ColumnTemperature = 25
TrayTemperature = 10
Cycle = 0
ECD.Data_Collection_Rate = 1.00
Cell = On
Waveform Time = 0.00, Potential = 0.05
Waveform Time = 0.20, Potential = 0.05, Integration = Begin
Waveform Time = 0.40, Potential = 0.05, Integration = End
Waveform Time = 0.41, Potential = 0.75
Waveform Time = 0.60, Potential = 0.75
Waveform Time = 0.61, Potential = -0.15
Waveform Time = 1.00, Potential = -0.15
WaitForTemperature = False
Wait SamplePrep
0.000 ;ECD.Autozero
Flow = 0.25
```

```
%B = 0.0
%C = 60.0
%D = 40.0
Curve = 5
Load
Inject
Wait InjectState
ECD_1.AcqOn
;register one pressure value in audit trail
Log Pressure.Value
Flow = 0.25
%B = 0.0
%C = 60.0
%D = 40.0
Curve = 5
16.000 Flow = 0.25
%B = 0.0
%C = 60.0
%D = 40.0
Curve = 5
16.100 Flow = 0.25
%B = 10.0
%C = 50.0
%D = 40.0
Curve = 5
21.000 Flow = 0.25
%B = 10.0
%C = 50.0
%D = 40.0
Curve = 5
21.100 Flow = 0.25
%B = 0.0
%C = 60.0
%D = 40.0
Curve = 5
30.000 ECD_1.AcqOff
Flow = 0.25
%B = 0.0
%C = 60.0
%D = 40.0
```

```
Curve = 5  
Flush Volume = 500  
Wait FlushState  
End
```

## 8.8 Aufbau der ELPI-Messung am Meerwasser-Simulations-Reaktor

Das Foto zeigt den Modellreaktor der Universität Bayreuth, der zur Simulation von Aerosolaustrag aus Meerwasser verwendet wird. Links im Bild befindet sich der Outdoor-ELPI. Rechts daneben ist die Befeuchterkammer auf einem Heizer angebracht. Oberhalb der Befeuchterkammer sieht man, aufgestellt auf Aluminiumboxen, um die Zuleitung kurz zu halten, das LAS-X (Universität Bayreuth). Der große Stahlbehälter mit dem trichterförmigen Boden und Deckel ist der Modellreaktor. Er fasst im Betrieb bei einer Füllhöhe von 2/3 circa 250 Liter Wasser.



## 8.9 Meersalz-Inhaltsstoffe

Das Meersalz wurde von der Firma Hw-Wiegandt, Sterkenhofweg 13, D-47807 Krefeld, bezogen. Die Zusammensetzung kann auch im Internet unter <http://hw-wiegandt.de> eingesehen werden.

Element	Konzentration in Lösung	
Cl	19.8	g/l
Na	11.0	g/l
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	2.8	g/l
Mg	1.3	g/l
Ca	431	mg/l
K	410	mg/l
Br	72	mg/l
Sr	8	mg/l
B (H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> )	5	mg/l
Si	3	mg/l
F	1.3	mg/l
Li	174	μg/l
Rb	123	μg/l
Ba	12	μg/l
Mo	10	μg/l
I	5	μg/l
As	2	μg/l
V	1	μg/l
Ti	984	ng/l
Sn	779	ng/l
Al	103	ng/l
Ni	410	ng/l
Cs	308	ng/l
Zn	297	ng/l
Cu	205	ng/l
Cr	185	ng/l
Sb	154	ng/l
Se	113	ng/l
W	92	ng/l
Mn	90	ng/l
Fe	75	ng/l
Zr	28	ng/l
Ga	22	ng/l

---

Pb	19	ng/l
Y	13	ng/l
Hf	7	ng/l
Au	5	ng/l
La	4	ng/l
Ce	3	ng/l
Ta	3	ng/l
Ge	4	ng/l
Co	3	ng/l
Nd	2	ng/l
Ag	2	ng/l
Hg	1	ng/l
Dy	871	pg/l
Er	871	pg/l
Gd	825	pg/l
Yb	769	pg/l
Sc	615	pg/l
Pr	574	pg/l
Sm	564	pg/l
Tm	144	pg/l
Cd	103	pg/l
In	103	pg/l
Bi	27	pg/l

## 8.10 Geräte und Chemikalien

### 8.10.1 Geräte

- Absolutfilter (Blaufilter)  
Headline Filters von Prüss Anlagentechnik ([www.pruess.net](http://www.pruess.net)), DIF-N50 für 10 lpm, DIF-LN50 für 30 lpm.
- BioLC von Dionex, Eluentenset, Gradientenpumpe GS50 bzw. Gradientenpumpe GP50, Autosampler AS50, Elektrochemischer Detektor ECD40, Säule CarboPac PA100 2x250 mm, Vorsäule CarboPac PA100G bzw. AminoTrap. Bezug über Dionex ([www.dionex.de](http://www.dionex.de)).
- Faserfilter
  - a) Macherey-Nagel, 47 mm, MN85/90BF, ArtNr. 4060047, [www.macherey-nagel.de](http://www.macherey-nagel.de)
  - b) Munktell, Quarzfaser, MK360, 150 mm
  - c) Glasfaser 150 mm
- HPLC-UV von Merck, Degaser ERC-3415a, Gradientenpumpe Merck L-6200A Intelligent Pump, UV/Vis-Detektor Merck Hitachi L4250 UV/VIS, Säule Nucleosil 120-3C8, 125x4 mm (Bezug über CS Chromatographie, Nr. 584517), Autosampler PN5200 von postnova.
- Küvetten  
Halbmikro- und Makroküvetten von Brand (Marke ® Plastibrand). Bezug über Wagner-Munz (Wagner & Munz GmbH Deutschland München, In der Rosenau 4, D-81829 München, [www.wagner-munz.de](http://www.wagner-munz.de)) (BestNr. 759115 bzw. 759105). Material: PMMA, Einsatzbereich ab 300 nm, Standardabweichung bei 320 nm  $\pm 0,004$  Extinktionseinheiten.
- pH-Meter
  - a) DrLange, ECM, Pufferlösungen LCX025 (pH 4.00/7.02/10.05 bei 20°C)
  - b) WTW
  - c) Inolab
- Outdoor ELPI von Dekati Ltd., Bezug über TSI Inc., Elektrischer Niederdruckimpaktor (electrical low pressure impactor, ELPI) mit ölfreier Scroll-Pumpe von BoeEdwards (GVSP30).
- Spritzenfilter
  - a) sartorius Minisart (16534), steril, 0.20  $\mu\text{m}$ , Bezug über VWR ([www.vwr.de](http://www.vwr.de))
  - b) CME, 0.2 $\mu\text{m}$ , 13 mm, unsteril, Carl Roth (P818.1)
- Spritzen

- Temperatur geregelter Heizrührer, Carl-Roth Versand, ICA RCT-Serie, Mess- und Steuerthermometer.
- Tygon-Schlauch ST, Roth  
H228.1, 15 m, 6.4/9.6 mm  
H230.1, 15 m, 9.5/12.7 mm
- UV/Vis Photospektrometer, Beckman DU 650.
- UV/Vis Double-Beam Spectrophotometer, Shimadzu UV-190.

### 8.10.2 Chemikalien

- Celluclast 1.5 L, Cellulase, 50 mL, Sigma, C-2730, T.reesei
- Cellulase aus Trichoderma reesei (ATCC26921), lyophilisiert, 2500 units/Pckg., Sigma, nicht älter als 4 Wochen!
- Cellulose, Fichtenholz, 250 g, Fluka, 22182
- D-(-)-Fructose, Sigma, F0127 aus CAR11
- D-(+)-Glucose,  $\geq 99.5\%$ , 100 g, Sigma, G-8270
- Deionisiertes Wasser, Milli Q, UV-behandelt, DOC < 1 ppbv, Millipore, Eschborn
- Essigsäure, Glacial Acedic Acid, 99+% (Fa. Aldrich)
- Glucose-Enzymtest  
Boehringer-Ingelheim (ehemals Boehringer-Mannheim), Nr. E0716251, Bezug über r-Biopharm (R-Biopharm AG, Landwehrstrasse 54, D-64293 Darmstadt, www.r-biopharm.de)
- Levoglucosan, Sigma, 316555, 99%
- Meersalz, synthetisch, Hw-Wiegandt
- Methanol, HPLC Qualität, LiChrosolv, Merck, 1.06018.2500
- Natriumacetat  
a) für Laufmittel (BioLC), Fa. Dionex, 059326  
b) für Pufferlösungen, Sigma, S8750
- Natriumhydroxid Plätzchen, 97%, 500 g, Aldrich, A.C.S. Reagenz, 22146
- Natronlauge-Lösung, 50%, 1 L, baker analyzed, J.T. baker, Id X38048



- 
- Natronlauge, Microprills, 2.5 kg, Riedel de Haen, 06306
  - Novozym 188, Cellobiase, *A.niger*, 50 mL, Sigma, C-6105
  - 1-Phenyl-3-methyl-2-pyrazolin-5-on, Aldrich, 99% (GC, T)
  - Salzsäure, 37%, p.A., 2.5 L, Merck, 1.00317.2500
  - Wasserstoffperoxid, 30%, Merck, 1.07298.0250, 250 mL, Suprapur
  - D-(+)-Xylose, Sigma, X1500 aus CAR11
  - Zitronensäure-Monohydrat, 500 g, p.A., Merck, 1.00244.0500

## 9 Literatur

Alamo, M., Bernal, J.L., & Gómes-Cordovés, C. (2000). Behaviour of Monosaccharides, Phenolic Compounds, and Color of Red Wines Aged in Used Oak Barrels and in the Bottle, *J. Agric. Food Chem.*, 48, 4613-4618.

Biganska, O., & Navard, P. (2003). Phase Diagram of a Cellulose Solvent: N-methylmorpholine-N-oxide-water Mixtures, *Polymer*, 44, 1035-1039.

Biorad Bulletin 1066. Affi-Gel 601 Boronate Affinity Gel to Separate Ribonucleotides, Ribonucleosides, Sugars, Catecholamines, and Coenzymes, *US/EG Bulletin 1066*, Bio-Rad Laboratories.

Boehringer-Mannheim (1997). Testkombination D-Glucose, *Produktbeschreibung*.

Davies, M.J, Smith, K.D., Carruthers, R.A., Chai, W., Lawson, A.M., & Hounsell, E.F. (1993). Use of a Porous Graphitised Carbon Column for the High-Performance Liquid Chromatography of Oligosaccharides, Alditols and Glycopeptides with Subsequent Mass Spectrometry Analysis, *J. Chromatogr.*, 646, 317-326.

Dionex (1993). Analysis of Carbohydrates by High Performance Anion Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection (HPAE-PAD), *Technical Note 20*.

Divne, C., Stahlberg, J., Teeri, T.T., & Jones, T.A. (1998). High-resolution Crystal Structures Reveal How a Cellulose Chain is Bound in the 50 Å Long Tunnel of Cellobiohydrolase I from *Trichoderma reesei*, *J. Mol. Biol.*, 275, 309-325.

Elsäßer, M., Anwendung eines elektrischen Niederdruckimpaktors zur Aerosolcharakterisierung und Untersuchung von Cellulose-Partikeln, Diplomarbeit, Technische Universität München, 2001.

Fuchs, N.A. (1963). On the Stationary Charge Distribution on Aerosol Particles in a Bipolar Ionic Atmosphere, *Geophys. Pura Appl.*, 56, 185-193.

- 
- Havers, N., Burba, P., Klockow, D., & Klockow-Beck, A. (1998a). Characterization of Humic-Like Substances in Airborne Particulate Matter by Capillary Electrophoresis, *Chromatographia*, 47, 619-624.
- Havers, N., Burba, P., Lambert, J., & Klockow, D. (1998b). Spectroscopic Characterization of Humic-Like Substances in Airborne Particulate Matter, *Journal of Atmospheric Chemistry*, 29, 45-54.
- Hinds, W.C. (1999). *Aerosol Technology - Properties, Behaviour and Measurement of Airborne Particles*, 2nd Edition, John Wiley & Sons, New York.
- Kaminski, U., Winkler, P., Fricke, M., Sohmer, S., & Sommerer K. (2001). Qualitätssicherung von Messreihen: Untersuchungen zu Sammelverlusten eines Berner-Niederdruck-Impaktors. *Berichte des Deutschen Wetterdienstes*, 215.
- Kane, D.B., Wang, J., Frost, K., & Johnston, M. V. (2002). Detection of Negative Ions from Individual Ultrafine Particles, *Analytical Chemistry*, 74, 2092-2096.
- Keskinen, J., Pietarinen, K., & Lehtimäki, M. (1992). Electrical Low Pressure Impactor, *Journal of Aerosol Science*, 23, 353-360.
- Kleywegt, G.J., Zou, J.-Y., Divne, C., Davies, G.J., Sinning, I., Stahlberg, J., Reinikainen, T., Srisodsuk, M., Teeri, T.T., & Jones, T.A. (1997). The Crystal Structure of the Catalytic Core Domain of Endoglucanase I from *Trichoderma reesei* at 3.6 Å Resolution, and a Comparison with Related Enzymes, *J. Mol. Biol.*, 272, 383-397.
- Koizumi, K., Okada, Y., & Fukuda, M. (1991). High-Performance Liquid Chromatography of Mono- and Oligosaccharides on Graphitized Carbon Column, *Carbohydr. Res.*, 215, 67-80.
- Kunit, M., & Puxbaum, H. (1996). Enzymatic Determination of the Cellulose Content of Atmospheric Aerosols, *Atmospheric Environment*, 30, 1233-1236.
- Lee, Y.C. (1990). High-Performance Anion-Exchange Chromatography for Carbohydrate Analysis, *Anal. Biochem.*, 189, 151-162.
- Li, K. L., Xia, L. X., Li, J., Pang, J., Cao, G. Y., & Xi, Z. W. (2001). Salt-Assisted Acid Hydrolysis of Starch to D-Glucose Under Microwave Irradiation, *Carbohydrate Research*, 331, 9-12.

- Mészáros, E., Barcza, T., Gelencsér, A., Hlavay, J., Kiss, G., Krivácsy, Z., Molnár, A., & Polyák, K. (1997). Size Distributions of Inorganic and Organic Species in the Atmospheric Aerosol in Hungary, *Journal of Aerosol Science*, 28, 1163-1175.
- Mirmira, S.R., Schreiber, M.A., & Guessford, S.A. (1993). High Performance Ion Chromatographic Analysis of Glucose, Isomaltose and Maltose in Hydroxyethyl Starch, *J. Liquid Chromatography*, 16, 2631-2638.
- Mopper, K., Schultz, C.A., Chevolut, L., Germain, C., Revuelta, R., & Dawson, R. (1992). Determination of Sugars in Unconcentrated Seawater and Other Natural Waters by Liquid Chromatography and Pulsed Amperometric Detection, *Environ. Sci. Technol.*, 26, 133-138.
- Mosier, N.S., Ladisch, C.M., & Ladisch, M.R. (2001). Characterization of Dicarboxylic Acids for Cellulose Hydrolysis, *Biotechnol. Prog.*, 17, 474-480.
- Mosier, N.S., Ladisch, C.M., & Ladisch, M.R. (2002). Characterization of Acid Catalytic Domains for Cellulose Hydrolysis and Glucose Degradation, *Biotechnology and Bioengineering*, 79, 610-618.
- Neuburger, G.G., & Johnson, D.C. (1987). Pulsed Amperometric Detection of Carbohydrates at Gold Electrodes with a Two-Step Potential Waveform, *Anal. Chem.*, 59, 150-154.
- Nifterik, L., Xu, J., Laurent, J.L., Mathieu, J., & Rakoto, C. (1993). Analysis of Cellulose and Kraft Pulp Ozonolysis Products by Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection, *J. Chromatogr.*, 640, 335-343.
- Peelen, G.O.H., de Jong, J.G.N., & Wevers, R.A. (1991). High-Performance Liquid Chromatography of Monosaccharides and Oligosaccharides in a Complex Biological Matrix, *Anal. Biochem.*, 198, 334-341.
- Putaud, J.-P., Raes, F., Van Dingenen, R., Brüggemann, E., Facchini M.C., Decesari, S., Fuzzi, S., Gehrig, R., Hüglin, C., Laj, P., Lorbeer, G., Maenhaut, W., Mihalopoulos, N., Müller, K., Querol, X., Rodriguez, S., Schneider, J., Spindler, G., ten Brink, H., Torseth, K., & Wiedensohler, A. (2004). A European Aerosol Phenomenology-2: Chemical Characteristics of Particulate Matter at Kerbside, Urban, Rural and Background Sites in Europe, *Atmospheric Environment*, 38, 2579-2595.

---

Puxbaum, H., & Tenze-Kunit, M. (2003). Size Distribution and Seasonal Variation of Atmospheric Cellulose, *Atmospheric Environment*, 37, 3693-3699.

Raes, F., Van-Dingenen, R., Vignati, E., Wilson, J., Putaud, J.-P., Seinfeld, J.H., & Adams, P. (2000). Formation and Cycling of Aerosols in the Global Troposphere, *Atmospheric Environment*, 34, 4215-4240.

Rosenau, T., Potthast, A., Sixta, H., & Kosma, P. (2001). The Chemistry of Side Reactions and Byproduct Formation in the System NMMO/Cellulose (Lyocell Process), *Progress in Polymer Science*, 26, 1763-1837.

Shibazaki, H., Kuga, S., Onabe, F., & Brown, R.M. (1995). Acid Hydrolysis Behaviour of Microbial Cellulose II, *Polymer*, 36, 4971-6.

Simoneit, B. R. T. (1999). A Review of Biomarker Compounds as Source Indicators and Tracers for Air Pollution, *Environmental Science and Pollution Research*, 6, 159-169.

Streeter, J. G., & Strimbu, C. E. (1998). Simultaneous Extraction and Derivatization of Carbohydrates from Green Plant Tissues for Analysis by Gas-Liquid Chromatography, *Analytical Biochemistry*, 259, 253-257.

Tang, H.-R., Brun, A., & Hills, B. (2001). A proton NMR Relaxation Study of the Gelatinisation and Acid Hydrolysis of Native Potato Starch, *Carbohydrate Polymers*, 46, 7-18.

Tewari, Y.B., & Goldberg, R.N. (1989). Thermodynamics of Hydrolysis of Disaccharides. Cellobiose, Gentiobiose, Isomaltose, and Maltose, *J. Biol. Chem.*, 264, 3966-3971.

Townsend, R.R., Hardy, M., Olechno, J.D., & Carter, S.R. (1988). Chromatography of Carbohydrates, *Nature*, 335, 379-380.

Townsend, R.R., Manzi, A., Merkle, R.K., Rohde, M.F., Spellman, M., Smith, A., & Carr, S.A. (1997). Quantitative Monosaccharide Analysis: A Multi-Center Study, *Association of Biomolecular Resource Facilities News*, 8, 14-21.

Val, A., Huidobro, J. F., Sanchez, M. P., Muniategui, S., Fernandez-Muino, M. A., & Sancho, M. T. (1998). Enzymatic Determination of Galactose and Lactose in Honey, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 1381-1385.

---

Van Dingenen, R., Raes, F., Putaud, J.-P., Baltensperger, U., Charron, A., Facchini M.C., Decesari, S., Fuzzi, S., Gehrig, R., Hansson, H.-C., Harrison, R.M., Hüglin, C., Jones, A.M., Laj, P., Lorbeer, G., Maenhaut, W., Palmgren, F., Querol, X., Rodriguez, S., Schneider, J., ten Brink, H., Tunved, P., Torseth, K., Wehner, B., Weingartner, E., Wiedensohler, A., & Wahlin, P. (2004). A European Aerosol Phenomenology-1: Physical Characteristics of Particulate Matter at Kerbside, Urban, Rural and Background Sites in Europe, *Atmospheric Environment*, 38, 2561-2577.

Veltkamp, P.R., Hansen, K.J., Barkley, R.M., & Sievers, R.E. (1996). Principal Component Analysis of Summertime Organic Aerosols at Niwot Ridge, Colorado, *Journal of Geophysical Research*, 101, 19495-19504.

Villamiel, M., Martinez-Castro, I., Olano, A., & Corzo, N. (1998). Quantitative Determination of Carbohydrates in Orange Juice by Gas Chromatography, *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A-Food Research and Technology*, 206, 48-51.

Wiedensohler, A., Lütke-meier, E., Feldpausch, M., & Helsper, C. (1986). Investigation of the Bipolar Charge Distribution at Various Gas Conditions, *Journal of Aerosol Science*, 17, 413-416.

Yu, H., Chen, S., Suree, P., Nuansri, R., & Wang, K. (1996). Effect of Microwave Irridation on Acid-Catalyzed Hydrolysis of Starch, *The Journal of Organic Chemistry*, 61, 9608-9609.