

Chemische und Biologische Charakterisierung von Ultrafeinen Partikeln

Ralf Zimmermann, Jürgen Schnelle-Kreis, Jürgen Orasche, Martin Sklorz, Fengxia Li, Johannes Passig, Julian Schade, Thomas Adam

*Gemeinsames Massenspektrometrie-Zentrum,
University of Rostock & Helmholtz Zentrum München (CMA), D*



HICE • Aerosols and Health
Helmholtz Virtual Institute of Complex
Molecular Systems in Environmental Health

aeroHEALTH
HELMHOLTZ
International Lab



Universität
Rostock

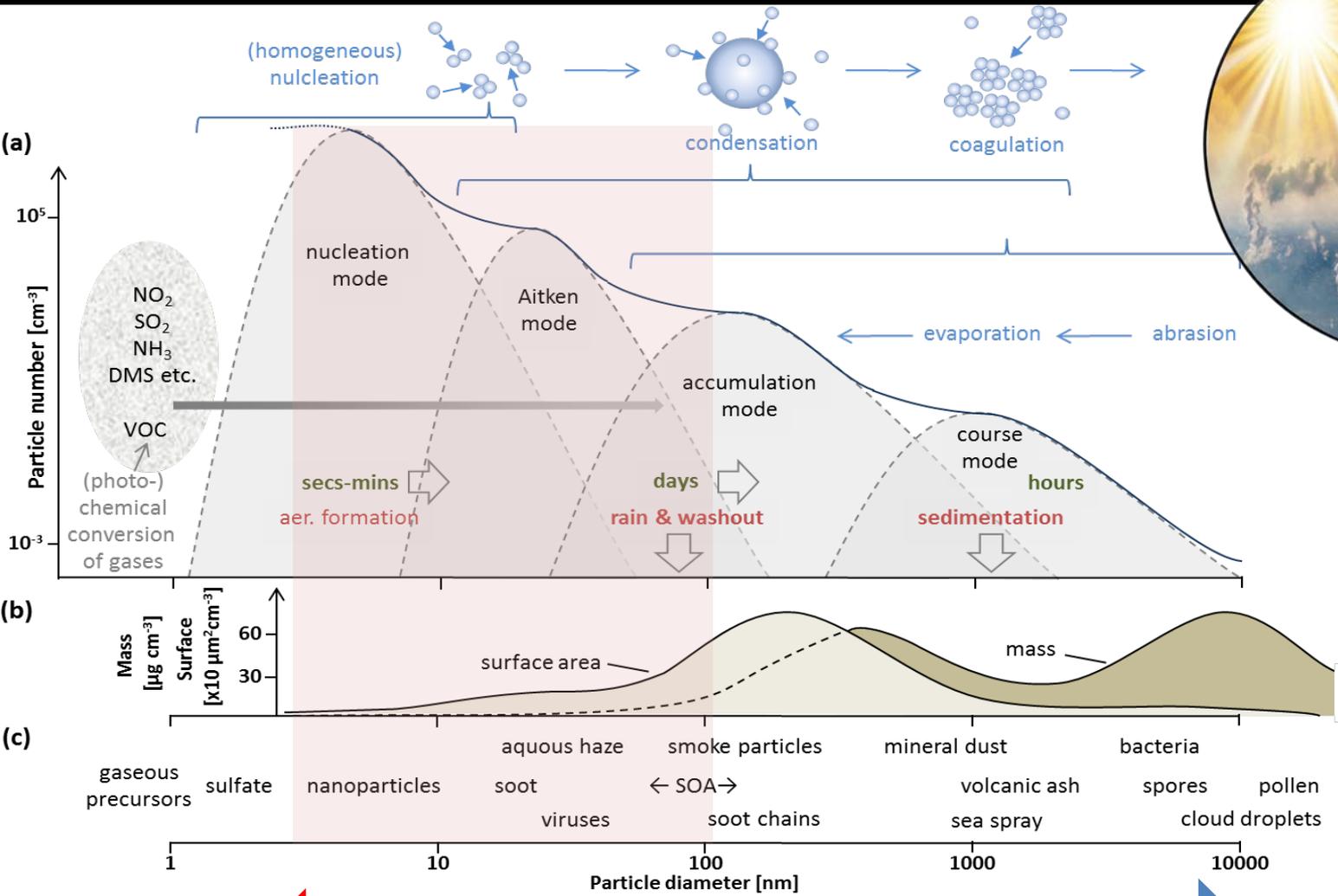
Helmholtz Zentrum
münchen

JOINT MASS SPECTROMETRY CENTRE

dust (red), sea salt (blue), organic/black carbon (green),
sulfates (white) extinction optical thickness. source: NASA (GEOS-5, GOCART)

der Bundeswehr
Universität München

- **Einführung** in die Nanopartikel (NP)-Problematik
- **Off-line** Methoden für die **chemische NP** Analytik
 - Sammlung und Laboranalytik
 - Ergebnisse Ultra III Studie (GC-MS Basiert)
- **On-line** Methoden für die **chemische NP** Analytik
 - Massenspektrometrische Nano-Einzelpartikelanalytik
- **On-line** Expositionsmethoden für die toxikologische Bewertung und **biologischen Wirkung von NP**
 - Air-Liquid-Interface Exposition biologischer Testsysteme mit NP
- **Zusammenfassung** und Ausblick



Anzahl ←

Masse →

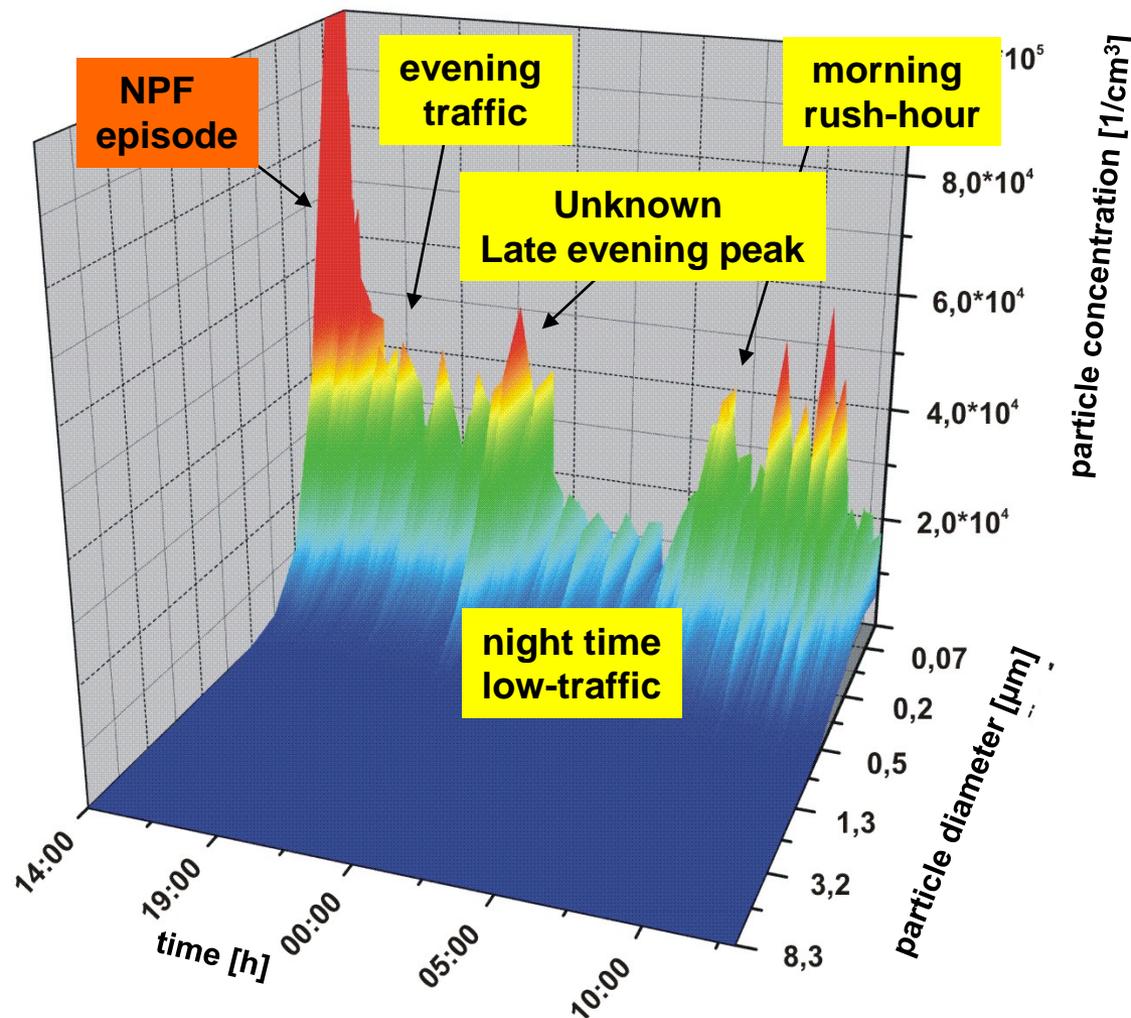
Nanopartikel (NP) oder Ultrafine Particles: Durchmesser ≤ 100 nm

modified from:
Buseck, P. R.; Adachi, K. (2008), *Elements 4* (6), pp. 389–394.

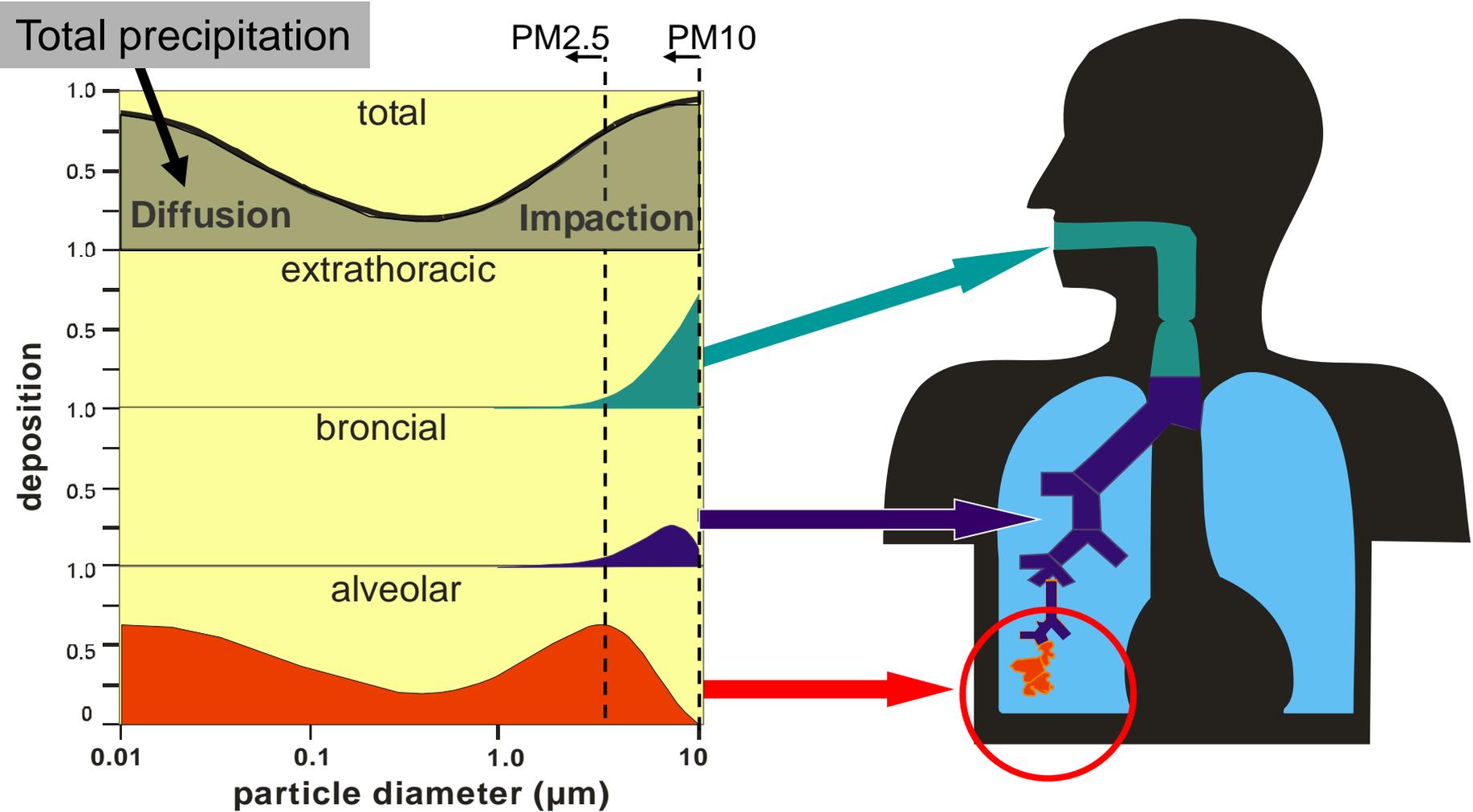
Size-distribution measurement (ELPI-Electrical low pressure impactor)
 → high nanoparticle number concentration: Emission and SOA formation



Sampling site: Augsburg, Königsplatz (downtown, main road)



Deposition of particles in the airways of healthy humans



AIR POLLUTION – THE SILENT KILLER

Every year, around **7 MILLION DEATHS** are due to exposure from both outdoor and household air pollution.

Air pollution is a major environmental risk to health. By reducing air pollution levels, countries can reduce:



Stroke



Heart disease



Lung cancer, and both chronic and acute respiratory diseases, including asthma

REGIONAL ESTIMATES ACCORDING TO WHO REGIONAL GROUPINGS:



- *Helmholtz Zentrum München*
- *Forschungszentrum Jülich*
- *Weizmann Institute*



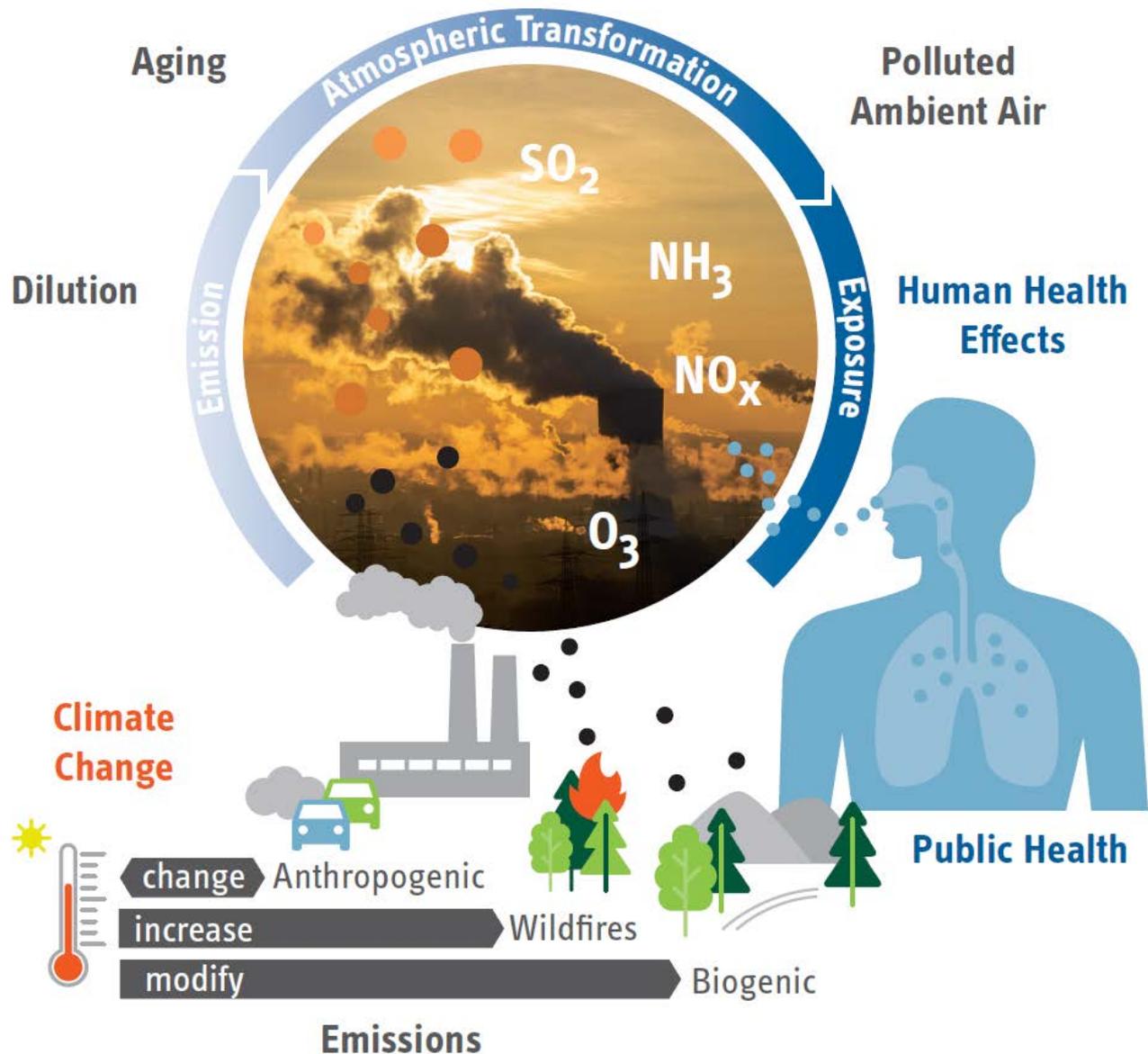
HICE Aerosols and Health
Helmholtz Virtual Institute of Complex Molecular Systems in Environmental Health

- *Helmholtz Zentrum München*
- *Rostock University*
- *University Eastern Finland*
- *Technical Univ. Munich*
- *Karlsruhe Institute of Technol.*

CLEAN AIR FOR HEALTH

#AirPollution



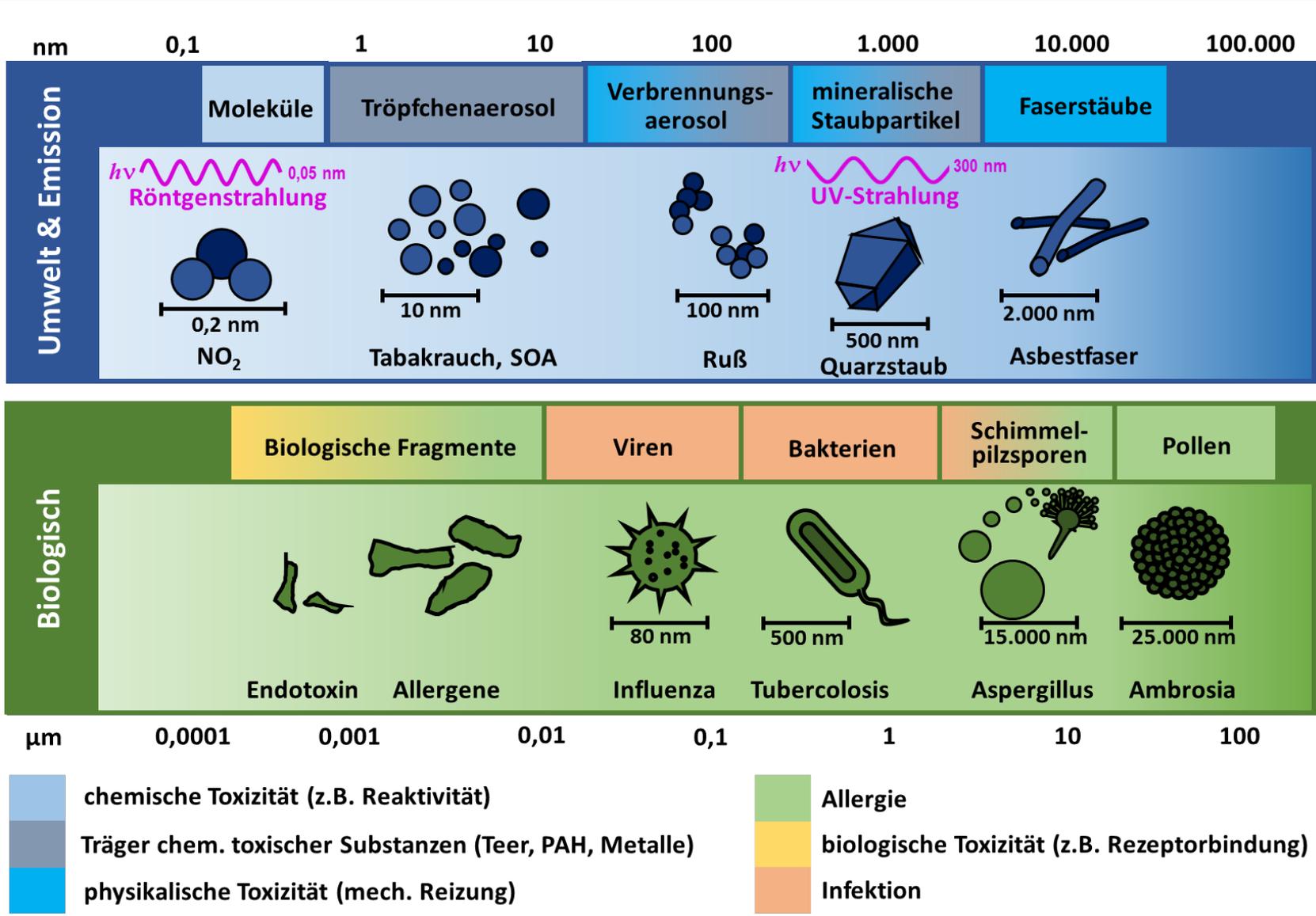


aeroHEALTH
HELMHOLTZ
International Lab

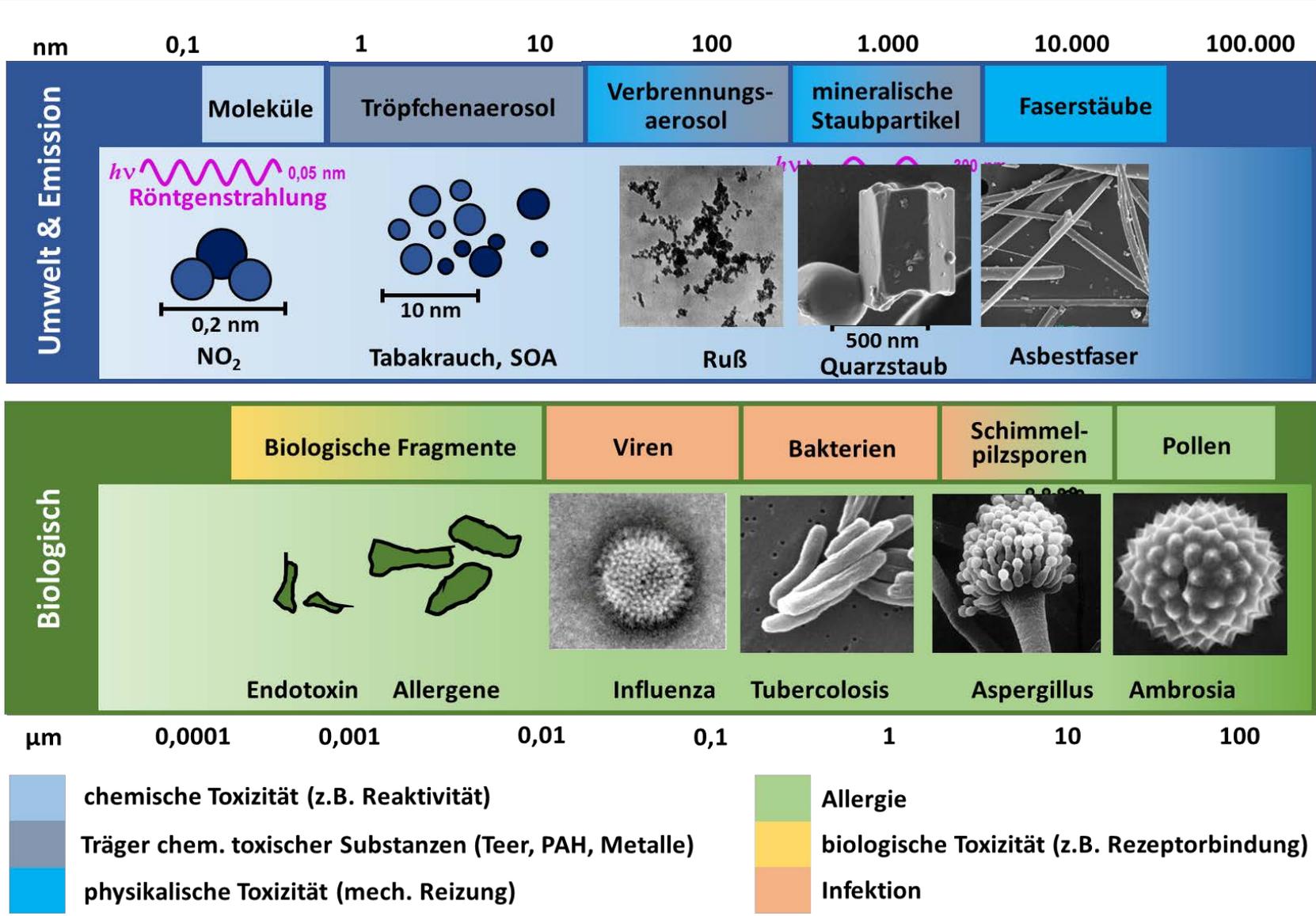
- Helmholtz Zentrum München
- Forschungszentrum Jülich
- Weizmann Institute

HICE Aerosols and Health
Helmholtz Virtual Institute of Complex Molecular Systems in Environmental Health

- Helmholtz Zentrum München
- Rostock University
- University Eastern Finland
- Technical Univ. Munich
- Karlsruhe Institute of Technol.



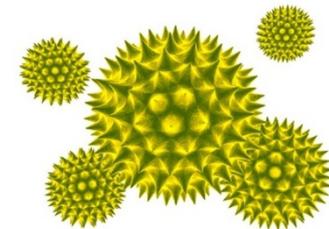
Gesundheitsrelevanz von Feinpartikeln



Particle induced **health effects**: Particle size & relevant **dose metric**

Larger particles 2.5 - 10 μm (e.g. plant pollen)

~ **(allergen) mass** \rightarrow Upper airways, bronchi (*allergic rhinitis, asthma bronchiale* etc.)



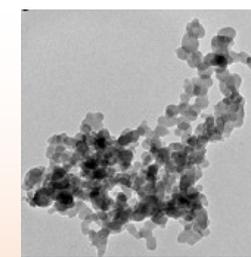
Airborne fibers (WHO: persistent, length $>5\mu\text{m}$, $\emptyset <3\mu\text{m}$,

$l/\emptyset >3:1$) ~ **fiber number** \rightarrow lower airways (e.g. *asbestosis* from asbestos fibers exposure)



Fine particles $\leq 2.5\mu\text{m}$ (e.g. fine, urban dust)

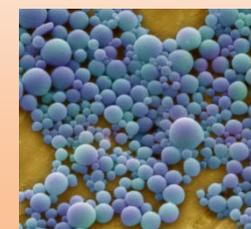
~ **pollutant mass** \rightarrow lower airways (e.g. **cardiovascular diseases** via chronic and acute **inflammatory processes** (e.g. **COPD, asthma**) \rightarrow Important: **High local chemical toxicant dose on cellular level (700-200 nm) important!**



Ultrafine particles ($\leq 100\text{ nm}$) & **toxic gases**

(e.g. cigarettes, traffic) ~ **surface, [c], number ?**

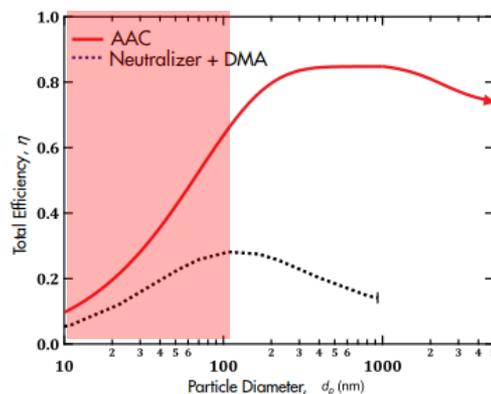
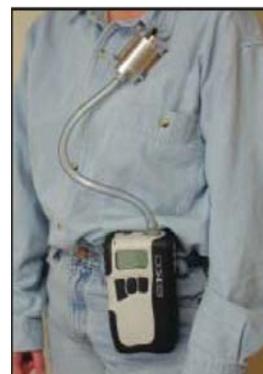
\rightarrow upper airways, bronchi and lower airways (e.g. *COPD, bronchial carcinoma*, potential effects by particle translocation?)



Problematik bei der NP-Effekt Bewertung:

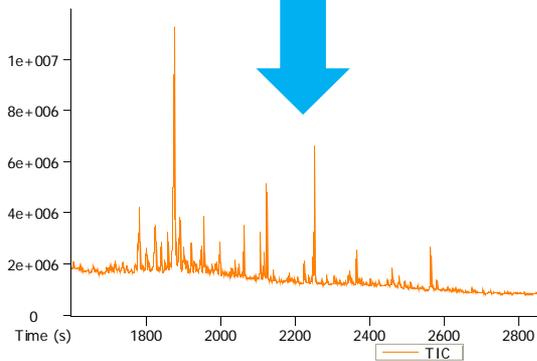
- Erhebliche räumliche und zeitliche Variabilität der NP-Konzentrationen
→ Beurteilung der NP-Exposition komplexer als Beurteilung von PM_{2,5}
- Zeitliche Korrelation zwischen an verschiedenen Messstellen gemessenen NP-Konzentrationen u.U. schlecht (stadtspezifisch) → Möglichkeit lokaler „SOA bursts“
- Die Quellbeiträge zur UFP können von Stadt zu Stadt sehr unterschiedlich sein z.B. (Straßenverkehr, Flughafen, Biomassenverbrennung, SOA Bildung) und sind nur unzureichend bekannt.
- Relative Toxizität unterschiedlicher NP-Quellen ist nicht bekannt
- Die chemische Zusammensetzung der UFP Fraktion ist nur unzureichend erforscht

- Probenahme angepasst an analytische Fragestellung
- Abtrennung von Partikeln > 100 nm
 - Nutzung von Impaktoren zur „Vorabscheidung“ und Sammlung von Nanopartikel auf **Filtern** oder durch Impaktion
 - Einsatz von Kaskadenimpaktoren die PM im Bereich < 100 nm auf **Folien** oder anderen Substraten sammeln
 - Einsatz von ChemVol Sammlern zur Sammlung in **PUF**
 - Ggf. Sammlung von Nanopartikeln „quasi-UFP“ für ortsaufgelöste oder personenbezogene Probenahme (Filter)
 - Einsatz eines Aerodynamischen Aerosol Kassierers: **Selektion der Größenklasse** vor Sammlung oder on-line Messung



Umfassende off-line chemische Analyse für Quellenidentifikation und Quantifizierung:

Organic Molecular Markers:
e.g. Levoglucosan, PAH,
n-alkanes, Hopanes....etc.



Organika

NP-Quarzfaser-
filter Probe

Ionen

Ions: e.g. Na⁺, K⁺, NH₄⁺, Ca⁺⁺,
Mg⁺⁺, Cl⁻, NO₃⁻, SO₄⁼



Elemente

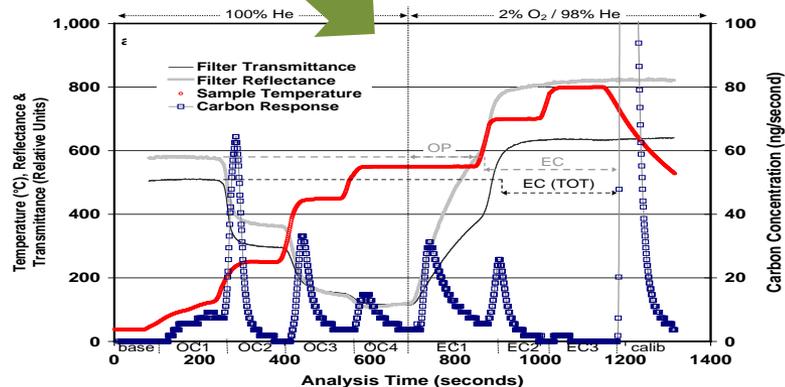
Kohlenstoff
(EC/OC/BrC)

Punches (8 mm)

Carbon fractions: OC/EC
(zum Teil mit chemischer Analyse)



Elements: e.g. Al, As, Ba, Cd, Cr, Cu, Fe,
K, Mn, Mo, Ni, Pb, V, Zn



Thermodesorption GC-MS (IDTD-GC-TOF-MS) für quantitative Bestimmung von Spuren an NP Target-Komponenten

- Quantifizierung einer Vielzahl von Analyten in einem analytischen GC Lauf
- Ausreichend hohe Empfindlichkeit für NP (im Bereich bis zu pg je Analyse)



ISTD / MSTFA Addition



Derivatisation, 1st step



Thermal desorption,



GC-TOFMS

Filter Sample
(1 m³ sample aliquot)

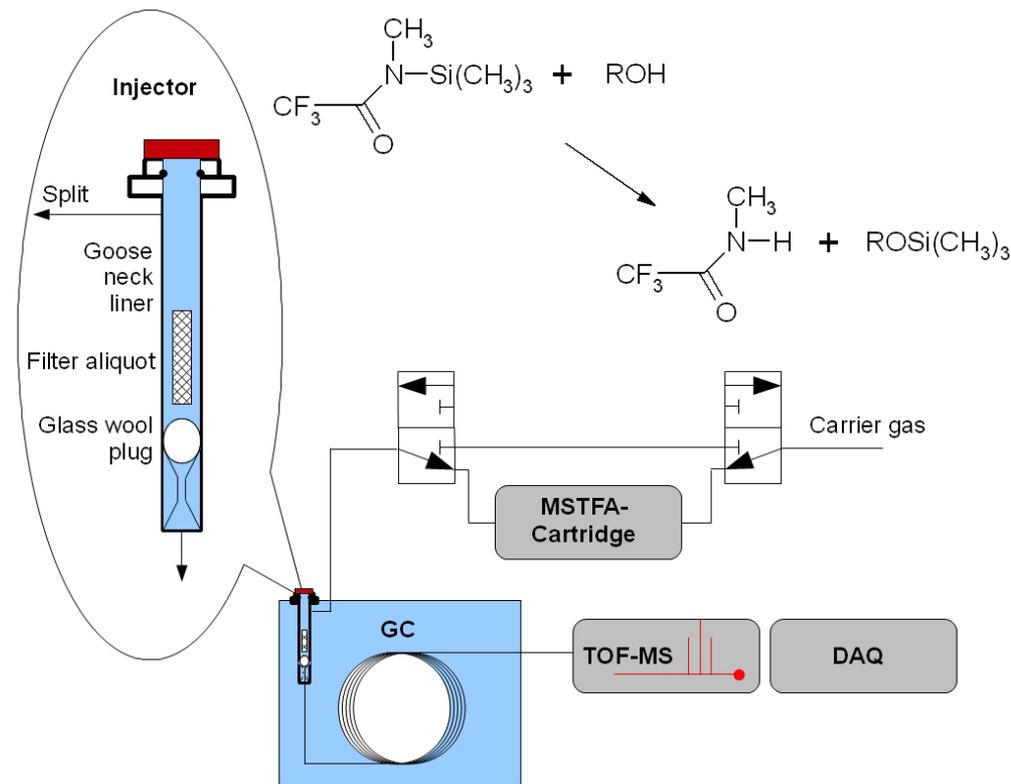


+ Internal Standard

Derivatisation,
1st step
Liq.-MSTFA, 80°C, 60 min

Thermal desorption
Derivatisation, 2nd step
MSTFA in carrier gas
300°C, 20 min

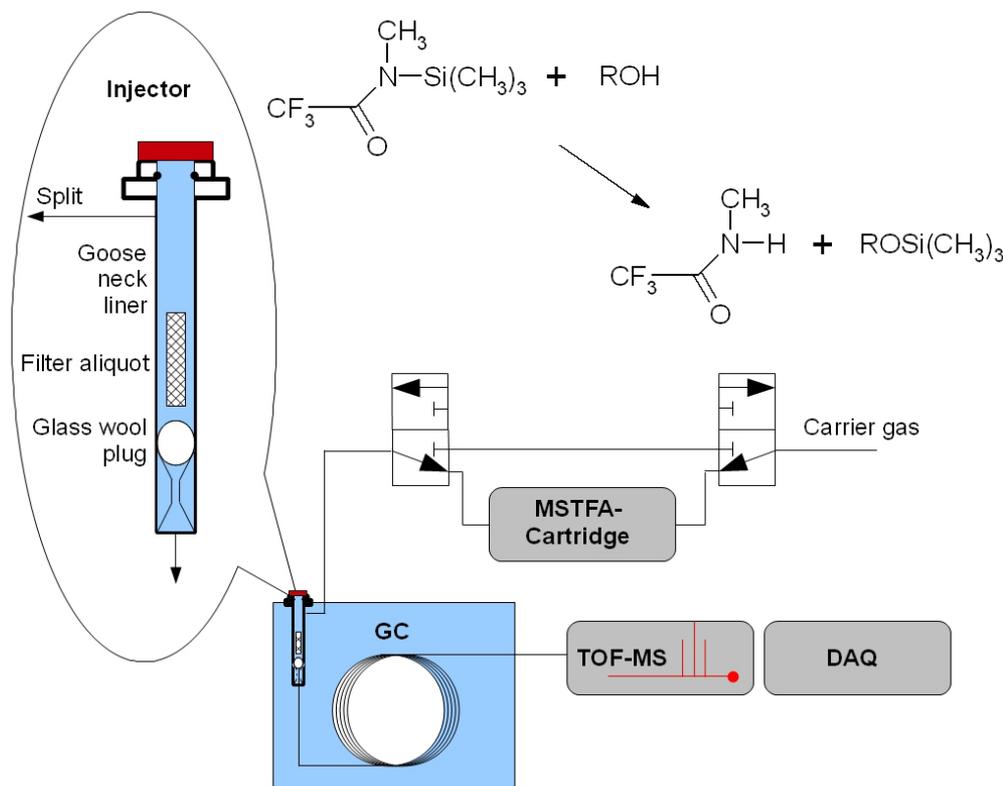
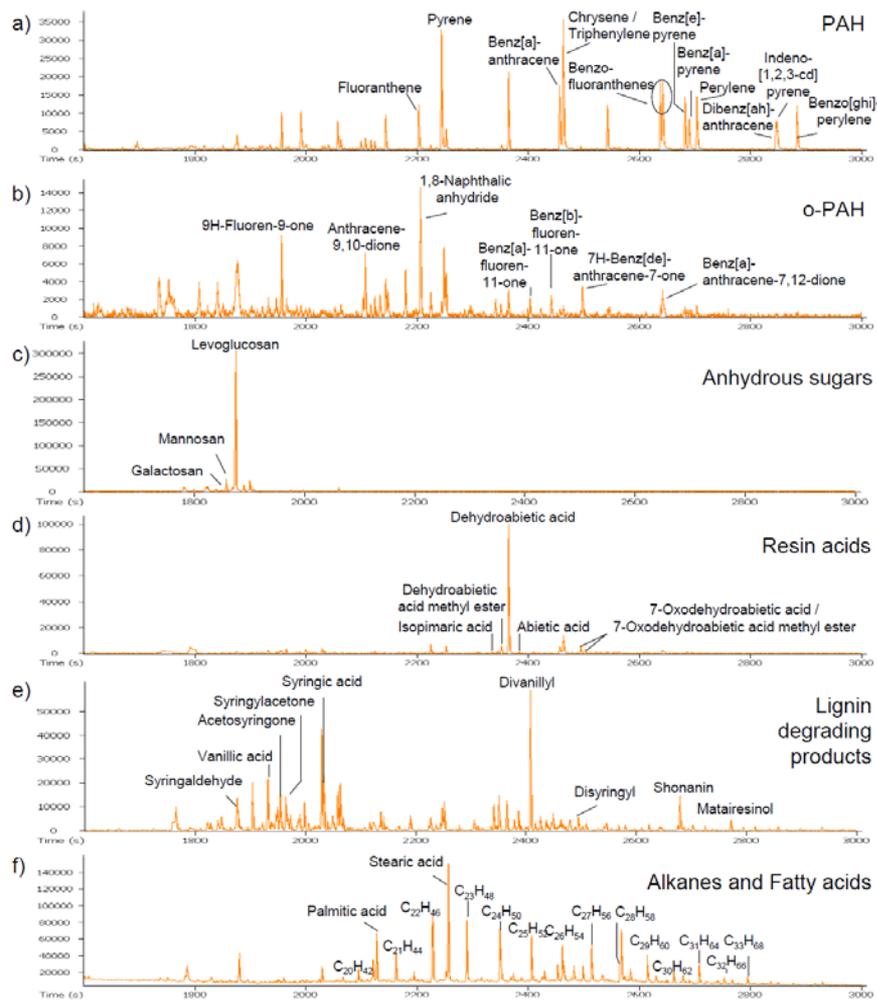
GC/MS Analysis
GC-TOFMS



Umfassende off-line chemische Analyse: Organische Quellenmarker und Schadstoffe

Thermodesorption GC-MS (IDTD-GC-TOF-MS) für quantitative Bestimmung von Spuren an NP Target-Komponenten

- Quantifizierung einer Vielzahl von Analyten in einem analytischen GC Lauf
- Ausreichend hohe Empfindlichkeit für NP (im Bereich bis zu pg je Analyse)



- Wissensbasierte Festlegung relevanter Target-Komponenten für quantitative Analyse
- ➔ Bestimmung relevanter Quellen am Messort unter Verwendung spezifischer Quellen-Marker

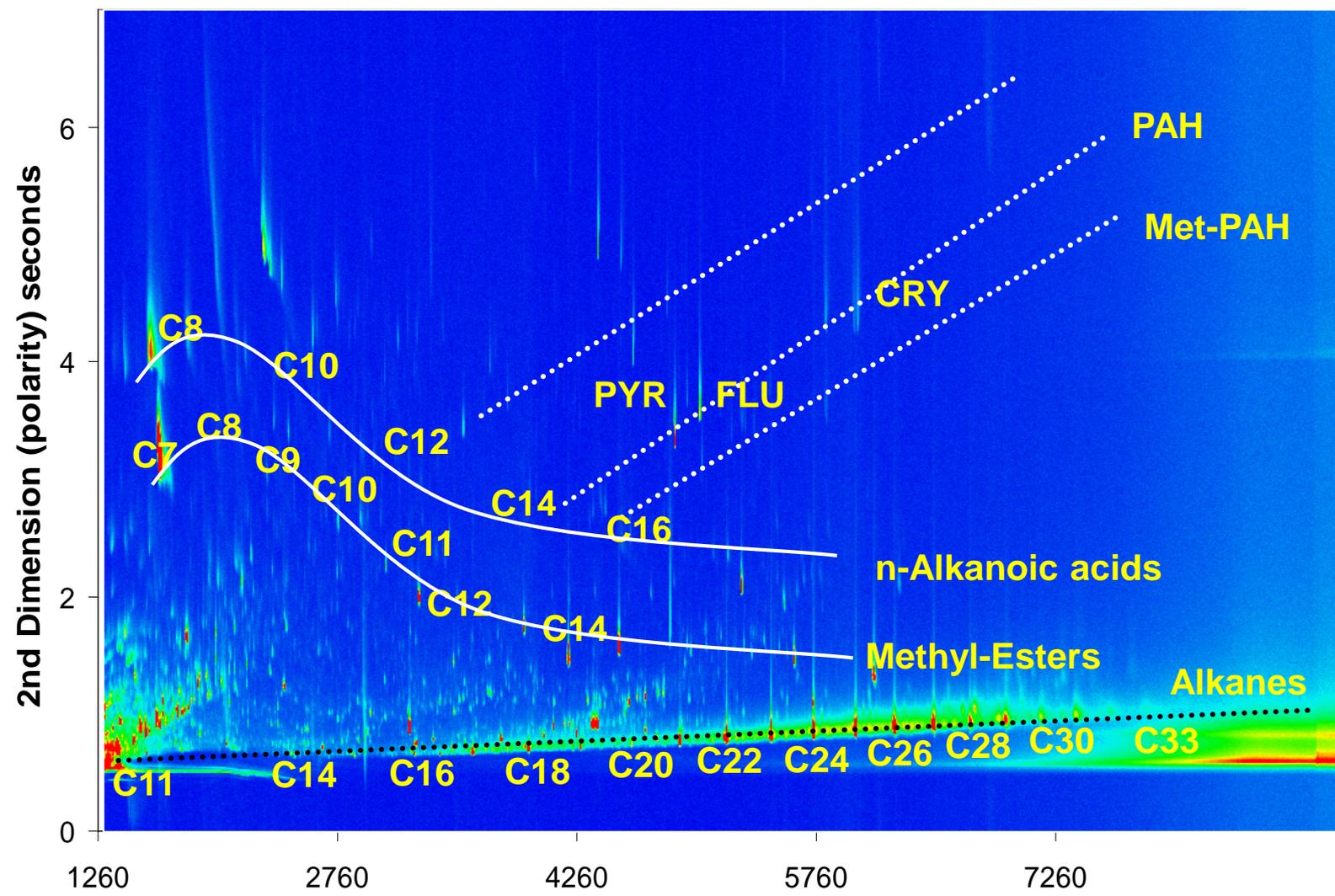
Beispiele:

	PAK (Verbrennung)	Hopane (Schmieröl, Kohleverbrennung)	Anhydrozucker (Biomasseverbrennung)	Phosphorsäureester (Flugzeugturbinen)
POA				
SOA	2-Methylbutantetrole (Biogen, Isopren)	cis-Pinonsäure, MBTCA (Biogen, Terpene)	Aromatische Karbonsäuren (Verbrennung, PAK, Aromaten)	
POA und SOA	Dikarbonsäuren (C2 - C6)	Nitro-Monoaromaten		

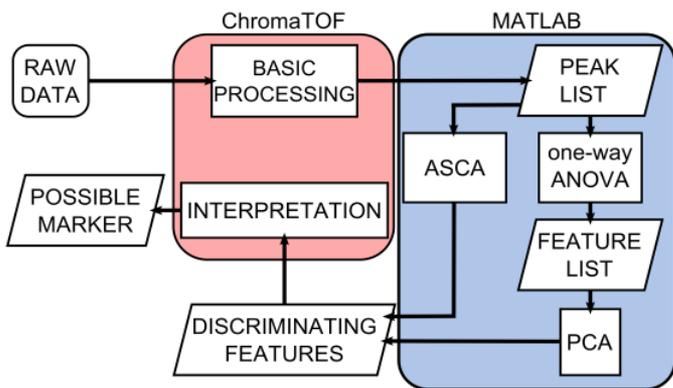
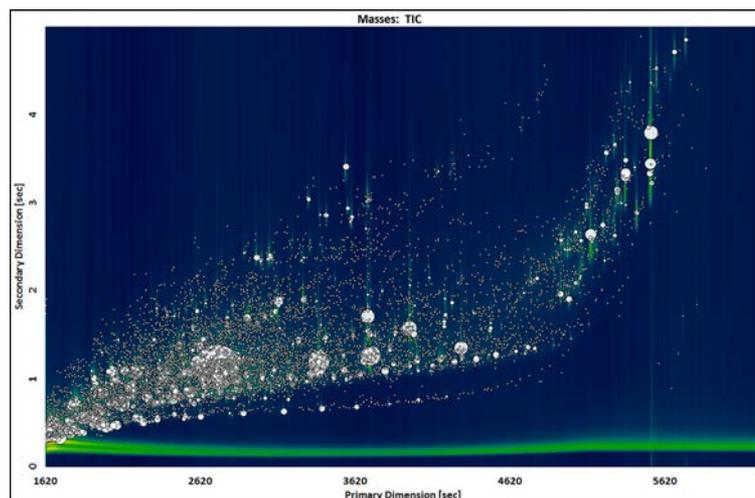
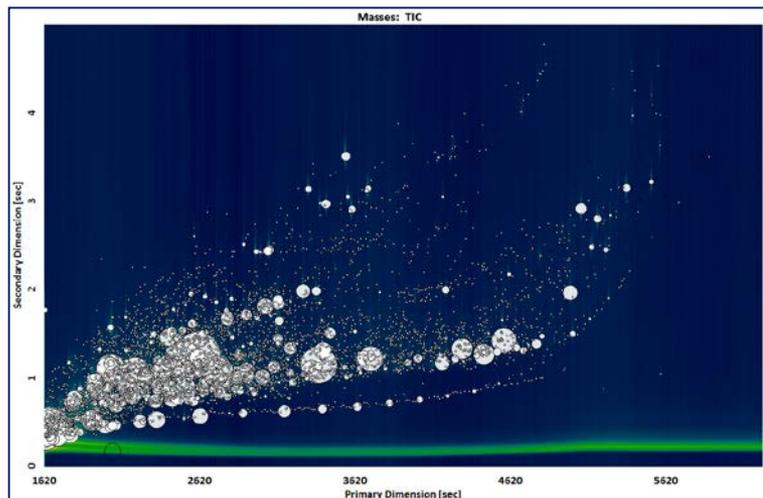
MBTCA: 3-Methyl-1,2,3-butanetricarbonsäure

Multidimensionale Chromatographie (GCxGC-TOF-MS) für die **Non-Target Analytik**

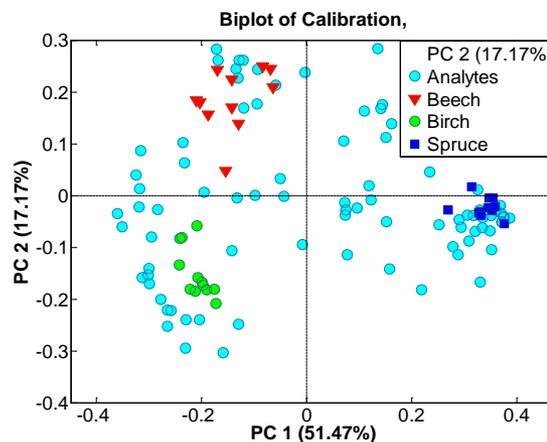
➔ Identifikation weiterer Marker-Verbindungen



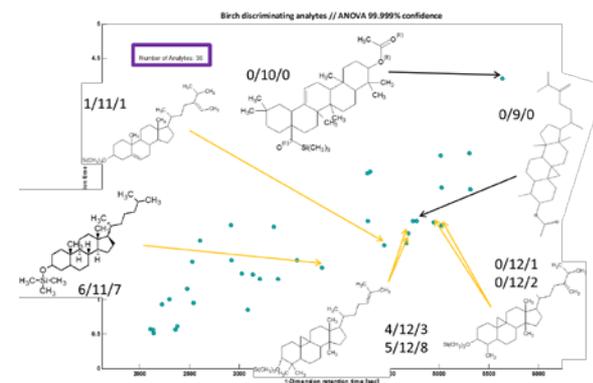
Multidimensionale Chromatographie (GCxGC-TOF-MS) für die **Non-Target Analytik**:
→ Einsatz moderner **Datenanalyse/KI Verfahren** zur Auswertung/Marker-Identifikation



Established Workflow for a comprehensive and untargeted data analysis



Identification of marker compounds from highly

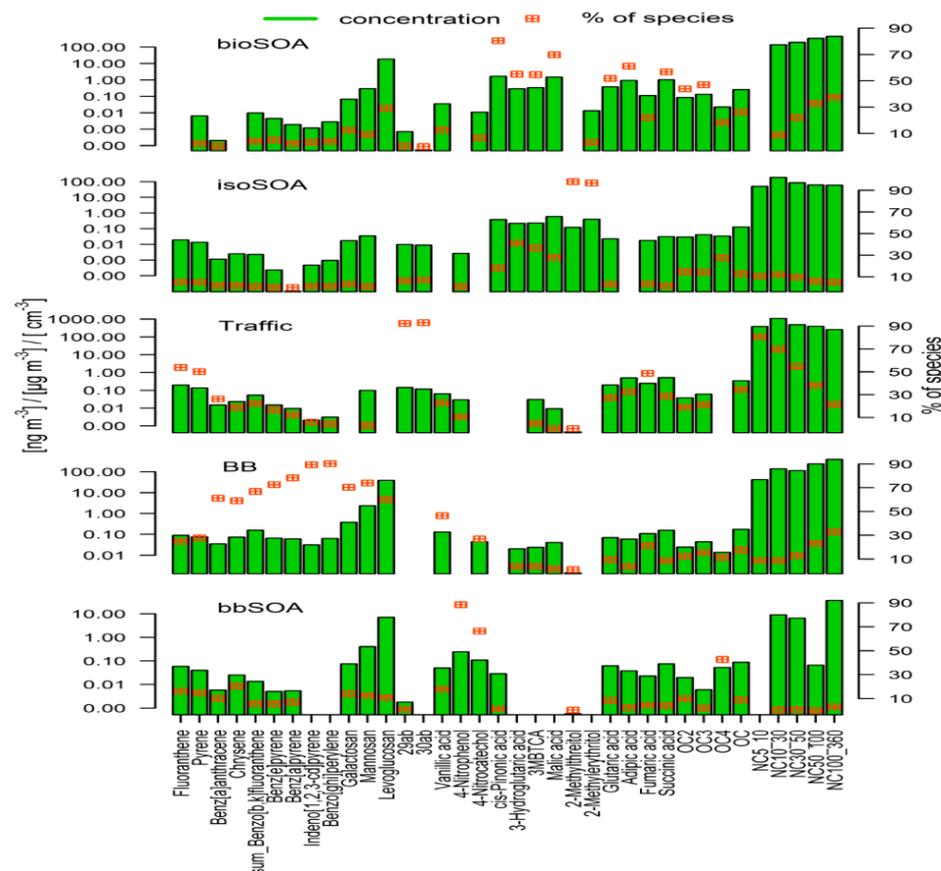


Ergebnisse der Ultra III Studie, Augsburg: Quellenzuordnung

Sammlung von Quasi-UFP mit RDI-Impaktoren (von PSI) für GC-MS/TOCA + SMPS

- Identifizierung von Quellen mittels positive Matrix Faktorisierung (PMF)
- 5 Faktoren: Differenzierung von zwei Quellen für POA und drei SOA Quellen
- Identische Faktorprofile an allen Standorten

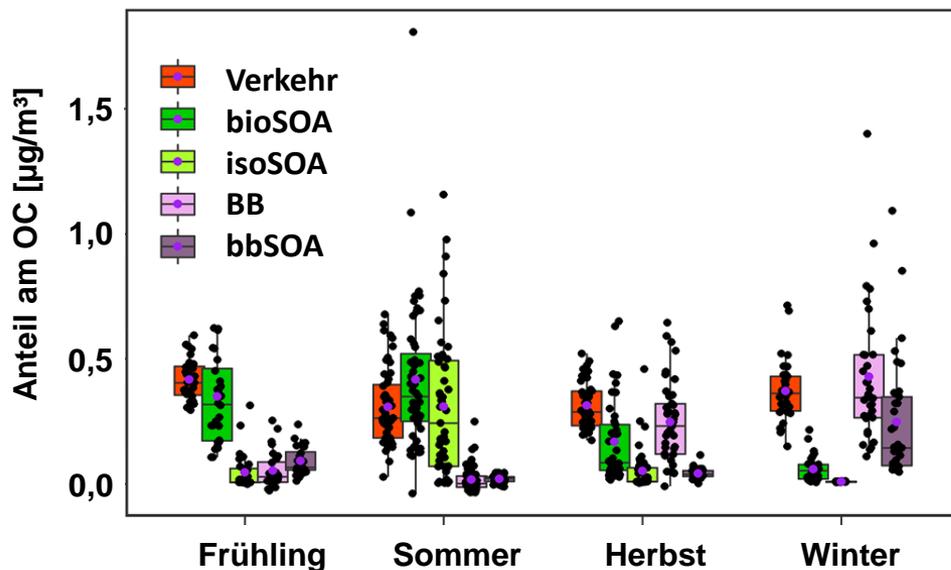
- **bioSOA: biogenes SOA**
 - Pinonsäure, 3-Hydroxy glutarsäure, 3-MBTCA, 2-Hydroxybutandisäure, und Dicarbonsäuren
- **isoSOA: Isopren SOA**
 - 2-Methyltetrole
- **Verkehr**
 - Hopane
- **BB: Biomasse Verbrennung**
 - Levoglucosan, Mannosan, Galactosan, Vanillinsäure, HMW PAKs
- **bbSOA: SOA aus Vorläufern aus der Biomasseverbrennung**
 - 4-Nitrophenol, 4-Nitrocatechol



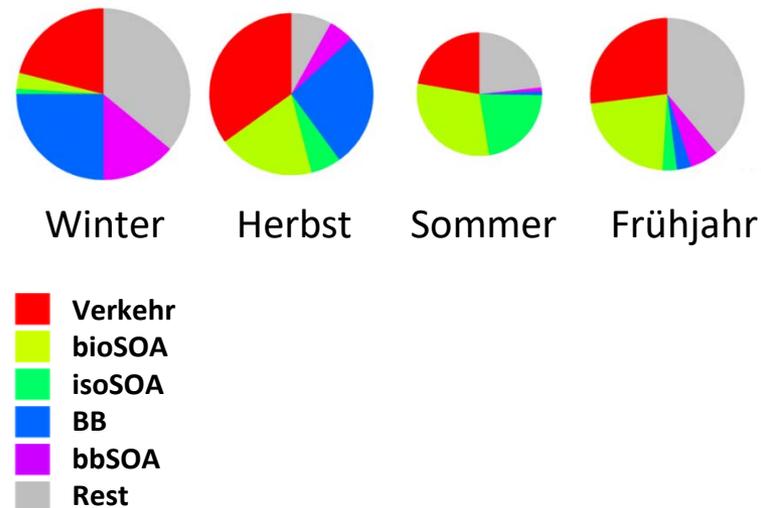
Ergebnisse der Ultra III Studie, Augsburg: Saisonalität

- Unterschiedliche saisonale Zeitverläufe für unterschiedliche Quellen
- Hohe biogene SOA Beiträge in Frühjahr und Sommer
- Beitrag von SOA aus Biomasseverbrennung im Winter
- Hoher Beitrag von Biomasseverbrennung in Herbst und Winter
- Geringe Variation des Beitrags vom Verkehr

Saisonaler Verlauf der Quellenbeiträge

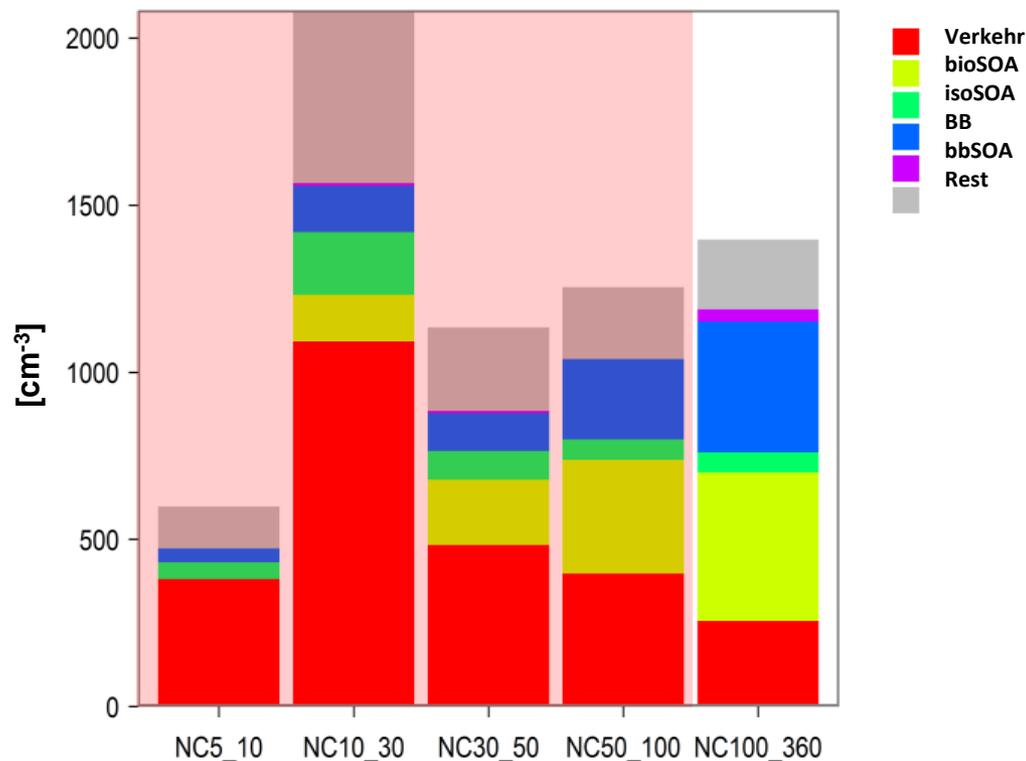


Anteil der Quellen am OC



Ergebnisse der Ultra III Studie, Augsburg: Größenverteilung der Quellenanteile

- Alle identifizierten Quellen tragen zum OC im UFP Größenbereich bei
- OC in den kleinsten Partikeln (< 30 nm) stammt zu großen Teilen aus Verkehr
- Biogenes SOA (bioSOA) und Biomasseverbrennungs-SOA haben maximalen Beitrag in der Akkumulationsmode aber auch hohe Beiträge im UFP Bereich
- Isopren SOA hat Maximum im Bereich 10-30 nm.



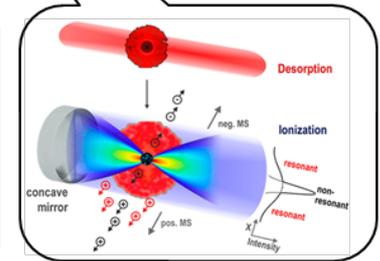
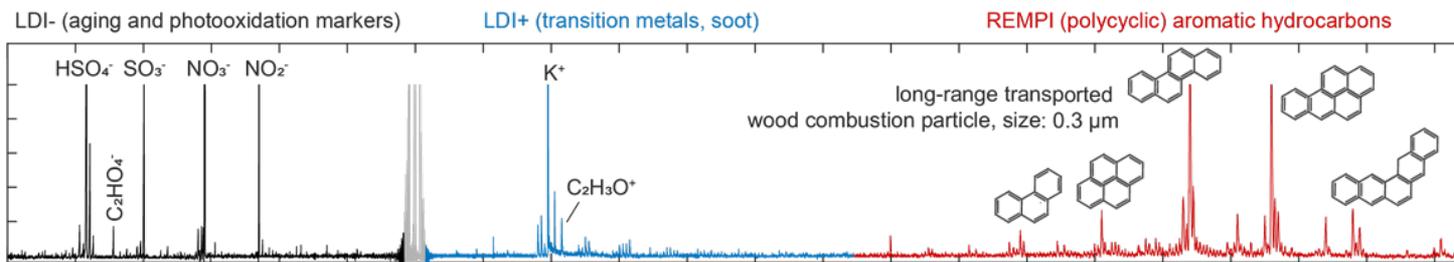
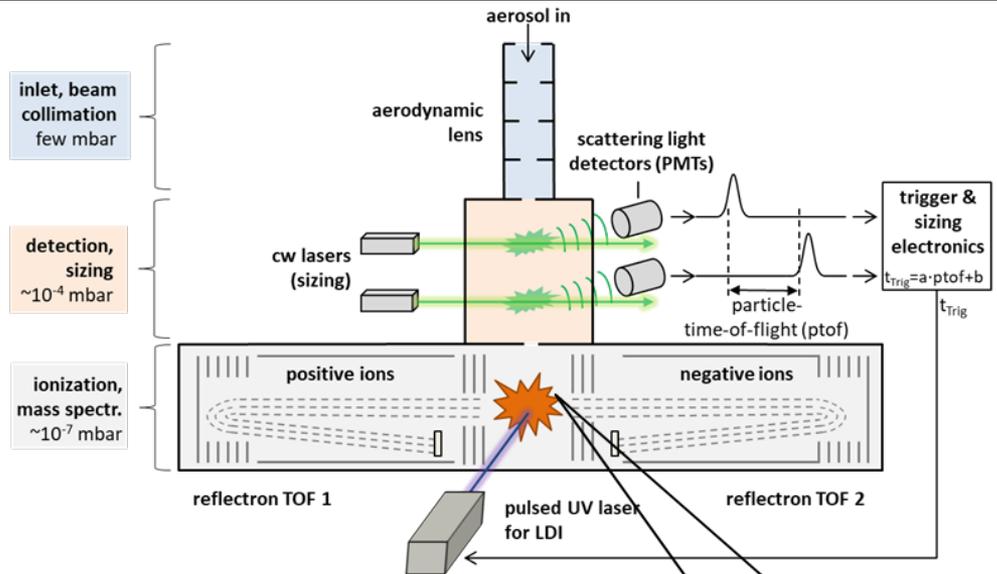
Einzelpartikel Massenspektrometrie: On-line Analyse feiner Partikel (2,5µm-250nm) und von NP (< 300nm)



Chemical data from individual particles:

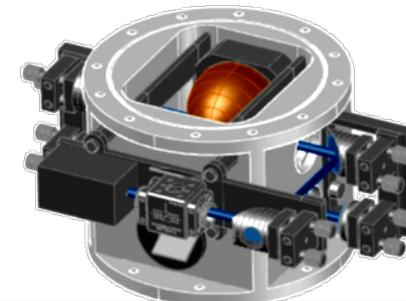
- soot ✓
- metals ✓
Passig, Zimmermann et al., ACPD (2020), doi.org/10.5194/acp-2020-25
- polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) ✓
Schade, Zimmermann et al. Anal. Chem. (2019), 91, 15

→ key components for health effects

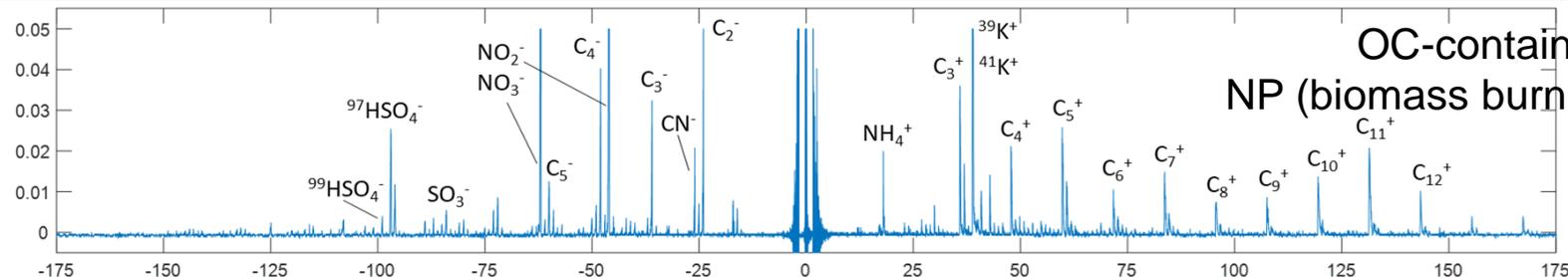


Current setup for NPs:

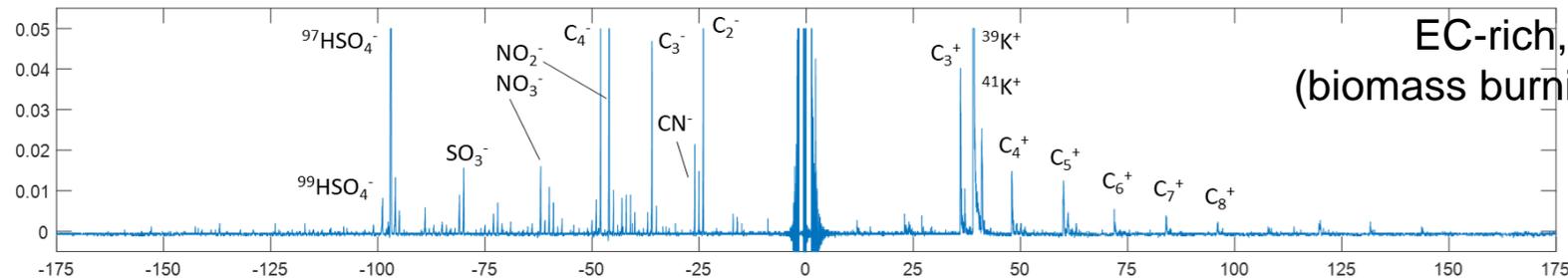
- Transfer to particles <100 nm
- improved particle detection
- high repetition lasers for free running



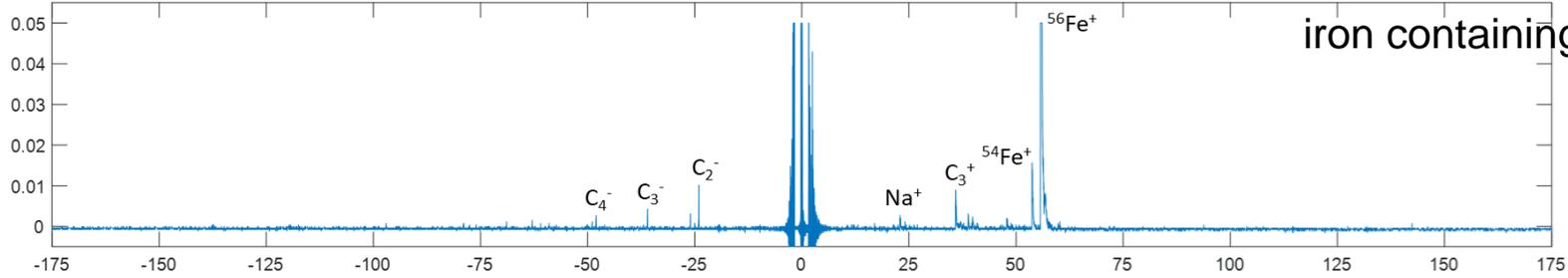
Neues SPMS: Simultane on-line Messung von NP & Feinpartikel durch hoch-repetitierende Laser (2 kHz)



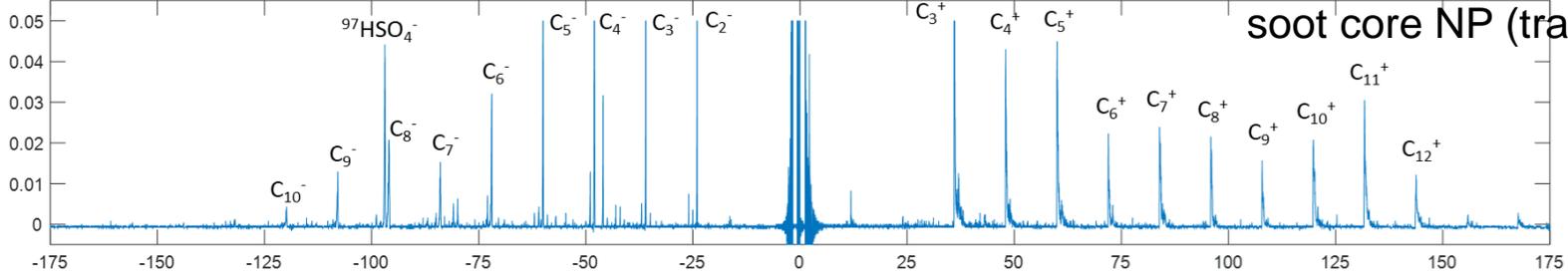
OC-containing, aged soot NP (biomass burning), < 300 nm



EC-rich, aged soot NP (biomass burning), < 300 nm



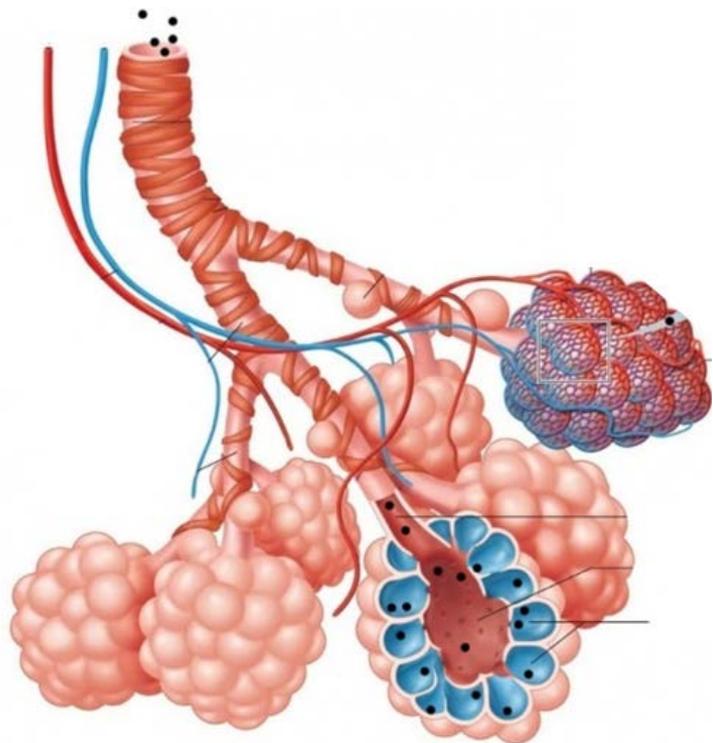
iron containing NP, < 300 nm



soot core NP (traffic), < 300 nm

Detection of 10-50 individual particles/min → correlation with filter analysis

Air-liquid interface exposure (ALI) of human cell-cultures: Simulation of the situation in the lung

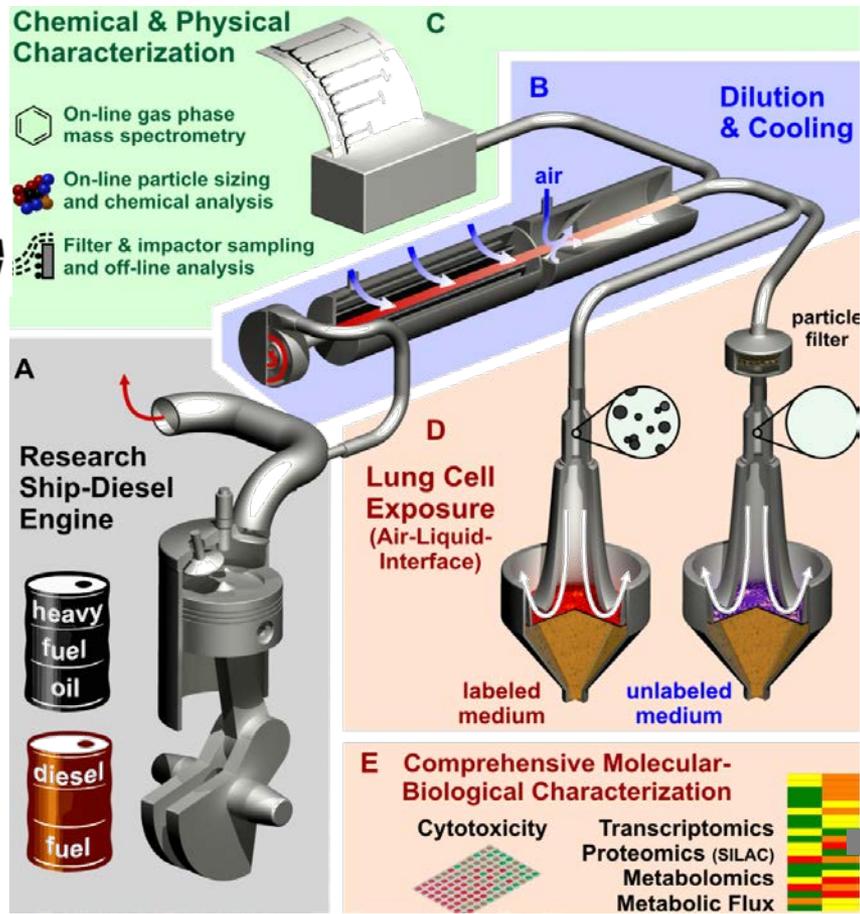
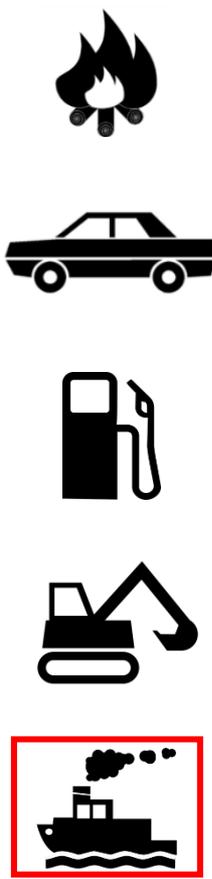




HICE-ALI-Exposure System

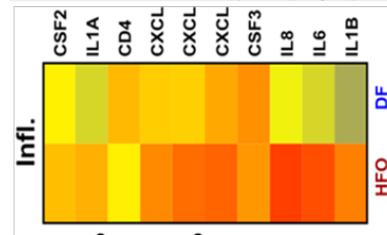
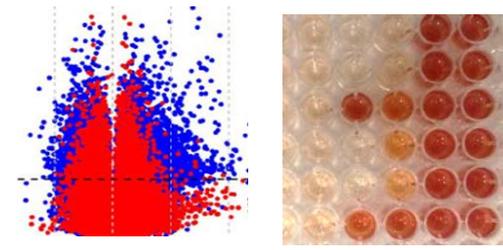


Integration chemischer, physikalischer und toxikologischer Ergebnisse zur Beschreibung der Wirkung von NP Aerosolen (Quellen und Umwelt)



omics-regulation,
Toxicology
(genotoxicity
& cytotoxicity)

selected markers &
bioinformatics



biological
pathways &
mechanisms

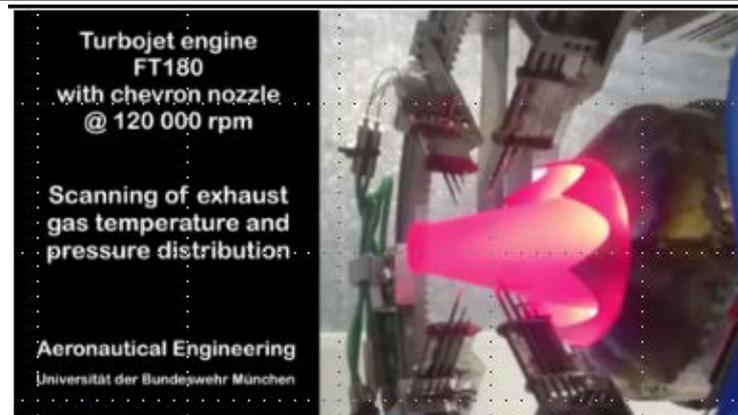
Effect	HFO	DF
Inflammation	↑	-
Oxidative Stress	↑	-
Cell homeostasis	↑	-
Response to chemicals	↑	↕
Cellular stress response	↑	↑
RNA metabolism	-	↓
Chromatin modifications	-	↑

Öder et al., PLoS one, 2015; Sapcariu et al., PLoS one, 2016; Kanashaova et al., Anal. Bioanal. Chem, 2016; Streibel et al. Environ Sci. Poll. Res., 2016

➔ Die beobachteten biologischen Wirkungen hängen stark von den Quellen ab

Future Project: Comparative chemical, physical and biological/toxicological testing of relevant NP emission sources?

Test bed for jet engine



Test bed for brake/tire wear



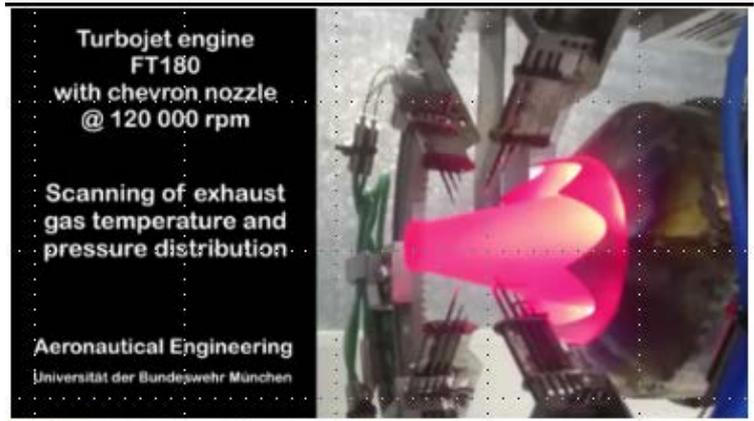
Vehicles on chassis dyno



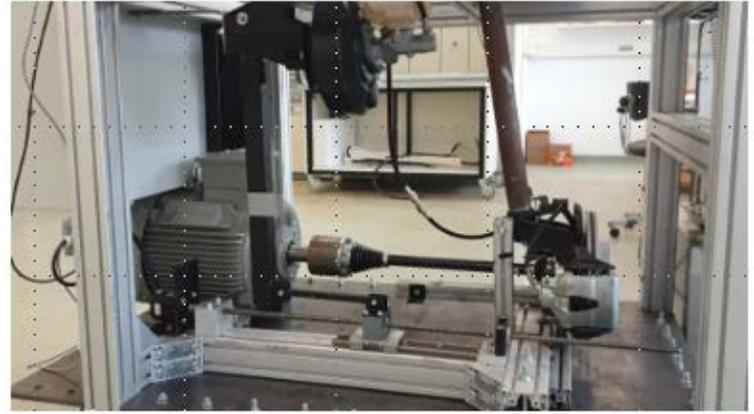
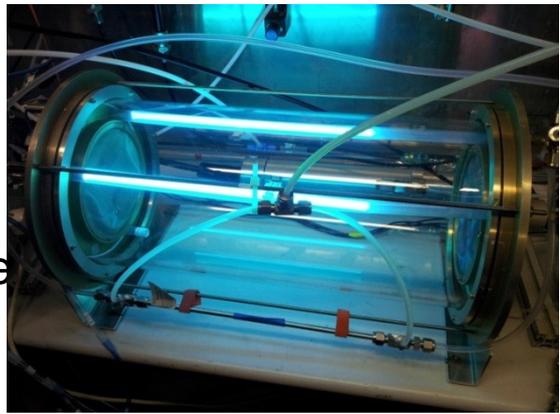
HMGU AG Prof. Zimmermann & Universität der Bundeswehr, München, AG Prof. Adam

Future Project: Comparative chemical, physical and biological/toxicological **testing of relevant NP emission sources and NP new formation (SOA)?**

Test bed jet engine



Test bed for brake



Vehicles on chassis dyno



HMGU AG Prof. Zimmermann & Universität der Bundeswehr, München, AG Prof. Adam

- **Epidemiologie:** Hinweise auf adverse **Wirkung** von NP
- Evidenz für adverse **Wirkung** von NP aus **toxikolog. Studien**
- Großer **Forschungsbedarf** bei Eigenschaften, chemischer Zusammensetzung, Quellen und biologischer Wirkung von NP
- **Probenahme**-Methoden prinzipiell verfügbar aber **schwierig**, artefaktanfällig oder optimierungsbedürftig.
- Hoch empfindliche Methoden zur umfassenden **off-line** chemischen Charakterisierung von NP sind **etabliert**
- Moderne **on-line** Einzelpartikelanalyse eröffnet **neue Möglichkeiten** für Erfassung von Dynamik, Quellenzuordnung und Erfassung interner/externer Mischung von NP
- **On-line ALI-Exposition** von biologischen Modellsystemen (z.B. Zellmodellen in mono/co-Kultur, primäre Z., Organoide) mit **Quellen-aerosolen** zur direkten biologischen/toxikologischen Wirkanalyse

- ➔ Zum besseren Verständnis der Gesundheitsrelevanz von Feinpartikeln NP sind spezielle und koordinierte NP-epidemiologische-, NP-toxikologische-, NP-Quellen- und NP-Zusammensetzungs-Studien und Messkampagnen erforderlich.
- ➔ Insbesondere ist ein besseres Verständnis der NP-Quellen und Korrelation von PM_{2,5} & NP erforderlich
- ➔ Die chemische Zusammensetzung der ambienten UFP muss verstanden werden
- ➔ Vergleichende Aerosoltoxikologische Untersuchungen realer/simulierter NP-Quellen sind nötig
- ➔ Für besseres Verständnis der chemischen Dynamik sind on-line chemische NP-Messungen wichtig (AMS, SPMS etc.)

Dr. T. Streibel	R. Reiss
Dr. J. Schnelle-Kreis	Dr. B. Schlöter-Hai
Dr. M. Sklorz	G. Abbaszade
Dr. J. Passig	A. Hoffmann
Dr. G. Jakobi	S. Klingbeil
Dr. J. Orasche	C. Grimmer
Dr. S. Haack	J. Heide
Dr. S. Ehlert	X. Cao
Dr. S. Öder	J. Schade
Dr. S. Kasurinen	U. Käfer
Dr. R. Irsig	D.-L. Nguyen
Prof. Dr. T. Adam	E. Zimmermann
Dr. S. Di Bucchianico	M. Khedr
E. Hübner	Dr. C. Biesig
T. Gröger	M. Wendler
T. Kröger	S. Binder
T. Miersch	E. Zimmermann
Dr. C. Rüger	N. Gawlitta
Dr. H. Czech	Dr. N. Rastak
V. Kohlmeier	X. Liu
A. Neumann	J. Panzke
A. Huber	S. Offer
C. Gehm	P. Martens
X. Wu	L. Frederici
M. Hahn	C. Kühl

Acknowledgements

Universität
Rostock



HelmholtzZentrum
münchen

JOINT MASS SPECTROMETRY CENTRE

der Bundeswehr
Universität München



- University of Rostock and State of Mecklenburg-Vorpommern
- Helmholtz Zentrum München
- **German Science Foundation (DFG)**  Deutsche Forschungsgemeinschaft
- German Federal Ministries for Education/Science and Economy (BMBF, BMWI)
- **Deutsche Gesetzl. Unfallversich. (DGUV)**
- Companies (**Photonion**, LECO, SABIC, Shimadzu, MLase, HEXIN, Probat, VUV-Analytics, Vitrocell, ASG)
- **Helmholtz-Impulse and Networking-Fonds** (Virtual Helmholtz Institute – HICE and AeroHEALTH Helmholtz International Lab.)