

DIN 38407-36

ICS 13.060.50

**Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung –
Gemeinsam erfassbare Stoffgruppen (Gruppe F) –
Teil 36: Bestimmung ausgewählter Pflanzenschutzmittelwirkstoffe und anderer organischer Stoffe in Wasser – Verfahren mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS bzw. -HRMS) nach Direktinjektion (F 36)**

German standard methods for the examination of water, waste water and sludge –
Jointly determinable substances (group F) –

Part 36: Determination of selected active substances of plant protection products and other organic substances in water – Method using high performance liquid chromatography and mass spectrometric detection (HPLC-MS/MS or -HRMS) after direct injection (F 36)

Méthodes normalisées allemandes pour l'analyse des eaux, des eaux résiduaires et des boues –

Substances déterminables ensemble (groupe F) –

Partie 36: Détermination des substances actives de produits phytosanitaires sélectionnées et d'autres substances organiques dans l'eau – Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance et détection par spectrométrie de masse (CLHP-MS/MS ou -HRSM) après l'injection directe (F 36)

Gesamtumfang 38 Seiten

Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
Einleitung.....	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Grundlage des Verfahrens	8
5 Störungen	8
5.1 Störungen bei der Probenvorbereitung.....	8
5.2 Störungen bei der Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und Massenspektrometrie	8
6 Bezeichnung.....	8
7 Reagenzien	8
8 Geräte.....	11
9 Probenahme	11
10 Durchführung	12
10.1 Allgemeines	12
10.2 Probenvorbereitung.....	12
10.3 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)	12
10.4 Detektion.....	13
10.4.1 Allgemeines	13
10.4.2 Tandem-Massenspektrometrie (MS/MS)	13
10.4.3 Hochauflösende Massenspektrometrie (HRMS).....	14
10.4.4 Blindwertmessungen	14
11 Kalibrierung	14
11.1 Allgemeines	14
11.2 Kalibrierung mit externem Standard.....	16
11.3 Kalibrierung mit internem Standard	17
11.4 Prüfung der Kalibrierung	18
12 Bestimmung von Wiederfindungsraten	18
12.1 Allgemeines	18
12.2 Wiederfindungsraten aus Proben	19
12.3 Wiederfindungsraten von internen Standards	19
13 Auswertung	20
13.1 Bestätigung einzelner Substanzen	20
13.2 Berechnung des Einzelergebnisses bei Kalibrierung mit externem Standard	21
13.3 Berechnung des Einzelergebnisses bei Kalibrierung mit internem Standard	21
14 Angabe der Ergebnisse.....	22
15 Analysenbericht	22
16 Verfahrenskennndaten	22
Anhang A (informativ) Verfahrenskennndaten	23
Anhang B (informativ) Beispiele für Wiederfindungsraten	28
Anhang C (informativ) Beispiele für HPLC-Säulen und Chromatogramme.....	29
C.1 Chromatographische Bedingungen für das Chromatogramm in Bild C.1.....	29
C.2 Chromatographische Bedingungen für die Chromatogramme in Bild C.2	30
C.3 Chromatographische Bedingungen für das Chromatogramm in Bild C.3.....	31
Anhang D (informativ) Beispiele für Detektion	32
Anhang E (informativ) Beispiele für Erweiterung des Verfahrens	34
Literaturhinweise	38

Vorwort

Dieses Dokument wurde vom Arbeitskreis NA 119-01-03-02-16 AK „LC-MS/MS-Verfahren“ des Arbeitsausschusses NA 119-01-03 AA „Wasseruntersuchung“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW) erarbeitet.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. Das DIN [und/oder die DKE] sind nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Es ist erforderlich, bei den Untersuchungen nach dieser Norm Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten und bestehende Sicherheitsvorschriften zu beachten.

Bei Anwendung der Norm ist im Einzelfall je nach Aufgabenstellung zu prüfen, ob und inwieweit die Festlegung von zusätzlichen Randbedingungen erforderlich ist.

Die vorliegende Norm enthält das vom Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN und von der Wasserchemischen Gesellschaft – eine Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker – gemeinsam erarbeitete Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung:

Bestimmung ausgewählter Pflanzenschutzmittelwirkstoffe und anderer organischer Stoffe in Wasser —
Verfahren mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und massenspektrometrischer Detektion
(HPLC-MS/MS bzw. -HRMS) nach Direktinjektion (F 36).

Die als DIN-Normen veröffentlichten Deutschen Einheitsverfahren sind bei der Beuth Verlag GmbH einzeln oder zusammengefasst erhältlich. Außerdem werden die genormten Deutschen Einheitsverfahren in der Loseblattsammlung „Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung“ gemeinsam von der Beuth Verlag GmbH und der Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA publiziert.

Normen oder Norm-Entwürfe mit dem Gruppentitel „*Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung*“ sind in folgende Gebiete (Haupttitel) aufgeteilt:

- Allgemeine Angaben (Gruppe A)
- Sensorische Verfahren (Gruppe B)
- Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C)
- Anionen (Gruppe D)
- Kationen (Gruppe E)
- Gemeinsam erfassbare Stoffgruppen (Gruppe F)
- Gasförmige Bestandteile (Gruppe G)
- Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H)
- Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K)
- Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L)
- Biologisch-ökologische Gewässeruntersuchung (Gruppe M)
- Einzelkomponenten (Gruppe P)
- Schlamm und Sedimente (Gruppe S)
- Suborganismische Testverfahren (Gruppe T)

Über die bisher erschienenen Teile dieser Normen gibt die Geschäftsstelle des Normenausschusses Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Telefon 030 2601–2448, oder die Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin), Auskunft.

WARNUNG — Anwender dieser Norm sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Diese Norm gibt nicht vor, alle unter Umständen mit der Anwendung des Verfahrens verbundenen Sicherheitsaspekte anzusprechen. Es liegt in der Verantwortung des Arbeitgebers, angemessene Sicherheits- und Schutzmaßnahmen zu treffen und sicherzustellen, dass diese mit nationalen Festlegungen übereinstimmen.

Einleitung

Zur Bestimmung von Pflanzenschutzmittelwirkstoffen und Abbauprodukten stehen verschiedene Verfahren zur Verfügung (vergleiche Literaturhinweise). In dieser Norm wird ein flüssigkeitschromatographisches Verfahren mit massenspektrometrischer Detektion zur Bestimmung ausgewählter Pflanzenschutzmittelwirkstoffe und anderer organischer Substanzen nach Direktinjektion beschrieben (siehe Tabelle 1).

1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt ein Verfahren zur Bestimmung ausgewählter Pflanzenschutzmittelwirkstoffe und anderer organischer Stoffe (siehe Tabelle 1) in Trink-, Grund- und Oberflächenwasser in Massenkonzentrationen $\geq 0,025 \mu\text{g/l}$ fest (siehe auch Anhang A für die Ergebnisse der Validierung).

Die Anwendbarkeit des Verfahrens auf weitere organische Stoffe und andere Wasserarten ist nicht ausgeschlossen, sie muss jedoch im Einzelfall geprüft werden. Beispiele für die Bestimmung weiterer organischer Stoffe siehe Tabelle E.1.

Tabelle 1 — Substanzen, deren Bestimmung nach diesem Verfahren erprobt wurde

Trivialname Chemische Bezeichnung (IUPAC) ^a	Summenformel	Relative molare Masse g/mol	CAS-RN ^b
Alachlor 2-Chlor-2',6'-diethyl-N-methoxymethylacetanilid	$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{ClNO}_2$	269,8	15972-60-8
Atrazin 6-Chlor-N2-ethyl-N4-isopropyl-1,3,5-triazin-2,4-diamin	$\text{C}_8\text{H}_{14}\text{ClN}_5$	215,7	1912-24-9
Boscalid 2-Chlor-N-(4'-chlorbiphenyl-2-yl)nicotinamid	$\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}$	343,2	188425-85-6
Bromacil 5-Brom-3-sec-butyl-6-methyl-uracil	$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{BrN}_2\text{O}_2$	261,1	314-40-9
Carbamazepin 5H-Dibenz[b,f]azepin-5-carbamid	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$	236,3	298-46-4
Chlorfenvinphos 2-Chlor-1-(2,4 dichlorphenyl)vinyl-diethylphosphat	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{Cl}_3\text{O}_4\text{P}$	359,6	470-90-6
Chloridazon 5-Amino-4-chlor-2-phenylpyridazin-3(2H)-on	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{ClN}_3\text{O}$	221,6	1698-60-8
Chlorpyrifos O,O-Diethyl-O-3,5,6-trichlor-2-pyridyl-thiophosphat	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{Cl}_3\text{NO}_3\text{PS}$	350,6	2921-88-2
Chlortoluron 3-(3-Chlor-p-tolyl)-1,1-dimethylharnstoff	$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}$	212,7	15545-48-9
Desethylatrazin 2-Amino-4-chlor-6-isopropylamino-1,3,5-triazin	$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{ClN}_5$	187,6	6190-65-4
Desethylterbutylazin 2-Amino-4-tert-butyl-amino-6-chlor-1,3,5-triazin	$\text{C}_7\text{H}_{12}\text{ClN}_5$	201,7	30125-63-4
Desisopropylatrazin 2-Amino-4-chlor-6-ethylamino-1,3,5-triazin	$\text{C}_5\text{H}_8\text{ClN}_5$	173,6	1007-28-9
Desphenylchloridazon 5-Amino-4-chlor-pyridazin-3(2H)-on	$\text{C}_4\text{H}_4\text{ClN}_3\text{O}$	145,6	6339-19-1
2,6-Dichlorbenzamid	$\text{C}_7\text{H}_5\text{Cl}_2\text{NO}$	190,0	2008-58-4
Diuron 3-(3,4-Dichlorphenyl)-1,1-dimethylharnstoff	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}$	233,1	330-54-1
Ethofumesat (±)-2-Ethoxy-2,3-dihydro-3,3-dimethyl-benzofuran-5-yl-methansulfonat	$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{S}$	286,3	26225-79-6

Tabelle 1 (fortgesetzt)

Trivialname Chemische Bezeichnung (IUPAC) ^a	Summenformel	Relative molare Masse g/mol	CAS-RN ^b
Isoproturon 3-(4-Isopropylphenyl)-1,1-dimethylharnstoff	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O	206,3	34123-59-6
Lenacil 3-Cyclohexyl-1,5,6,7-tetrahydrocyclopenta-pyrimidin-2,4(3H)-dion	C ₁₃ H ₁₈ N ₂ O ₂	234,3	2164-08-1
Metalaxyl ^c Methyl-N-(methoxyacetyl)-N-(2,6-xylyl)-DL-alaninat	C ₁₅ H ₂₁ NO ₄	279,3	57837-19-1
Metalaxyl-M ^d Methyl-N-(methoxyacetyl)-N-(2,6-xylyl)-D-alaninat			70630-17-0
Metamitron 4-Amino-4,5-dihydro-3-methyl-6-phenyl-1,2,4-triazin-5-on	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O	202,2	41394-05-2
Metazachlor 2-Chlor-N-(pyrazol-1-ylmethyl)acet-2',6'-xylidid	C ₁₄ H ₁₆ ClN ₃ O	277,8	67129-08-2
Methyldesphenylchloridazon 5-Amino-4-chlor-2-methylpyridazin-3(2H)-on	C ₅ H ₆ ClN ₃ O	159,6	17254-80-7
Metolachlor ^c 2-Chlor-6'-ethyl-N-(2-methoxy-1-methylethyl)aceto-o-toluidid	C ₁₅ H ₂₂ ClNO ₂	283,8	51218-45-2
S-Metolachlor ^d (aRS,1S)-2-Chlor-6'-ethyl-N-(2-methoxy-1-methylethyl)aceto-o-toluidid und (aRS,1R)-2-Chlor-6'-ethyl-N-(2-methoxy-1-methylethyl)aceto-o-toluidid			87392-12-9 ((S)-Isomer) 178961-20-1 ((R)-Isomer)
Metribuzin 4-Amino-6-tert-butyl-4,5-dihydro-3-methylthio-1,2,4-triazin-5-on	C ₈ H ₁₄ N ₄ OS	214,3	21087-64-9
Pendimethalin N-(1-Ethylpropyl)-2,6-dinitro-3,4-xylidin	C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O ₄	281,3	40487-42-1
Quinoxifen 5,7-Dichlor-4-quinolyl-4-fluorphenyl-ether	C ₁₅ H ₈ Cl ₂ FNO	308,1	124495-18-7
Simazin 6-Chlor-2,4-N ₂ ,N ₄ -diethyl-1,3,5-triazin-2,4-diamin	C ₇ H ₁₂ ClN ₅	201,7	122-34-9
Terbuthylazin N ₂ -tert-Butyl-6-chlor-N ₄ -ethyl-1,3,5-triazin-2,4-diamin	C ₉ H ₁₆ ClN ₅	229,7	5915-41-3
ANMERKUNG Optische Isomere werden mit diesem Verfahren chromatographisch nicht voneinander getrennt, so dass bei der Quantifizierung ggf. die Summe beider Enantiomere ermittelt wird.			
^a IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry, Literatur: The Pesticide Manual, Fourteenth edition, Editor: C D S Tomlin, 2006 ^b CAS-RN Chemical Abstracts System Registrier-Nummer ^c Racemat ^d reines Isomer			

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

DIN 38402-12, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Allgemeine Angaben (Gruppe A) — Probenahme aus stehenden Gewässern (A 12)*

DIN 38402-13, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Allgemeine Angaben (Gruppe A) — Probenahme aus Grundwasserleitern (A 13)*

DIN 38402-15, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Allgemeine Angaben (Gruppe A) — Probenahme aus Fließgewässern (A 15)*

DIN 38402-51, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Allgemeine Angaben (Gruppe A) — Kalibrierung von Analysenverfahren, Auswertung von Analysenergebnissen und lineare Kalibrierfunktionen für die Bestimmung von Verfahrenskenngrößen (A 51)*

DIN 32645, *Chemische Analytik — Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen — Begriffe, Verfahren, Auswertung*

DIN EN ISO 1042, *Laborgeräte aus Glas — Messkolben*

DIN EN ISO 4796-2, *Laborgeräte aus Glas — Flaschen — Teil 2: Flaschen mit konischem Hals*

DIN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen*

DIN ISO 5667-5, *Wasserbeschaffenheit — Probenahme — Teil 5: Anleitung zur Probenahme von Trinkwasser aus Aufbereitungsanlagen und Rohrnetzsystemen*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Begriffe nach DIN 38402-51, DIN 32645 und die folgenden Begriffe.

3.1

Direktinjektion

Injektion der Wasserprobe ohne vorhergehende Anreicherung der Analyte in das Analysensystem

Anmerkung 1 zum Begriff: Bei größeren Injektionsvolumina erfolgt die Anreicherung innerhalb des Analysensystems durch Fokussierung der Analyte am Kopf der analytischen Trennsäule oder auf einer Anreicherungssäule (Online-SPE) in Verbindung mit Säulenschalttechniken.

3.2

hochauflösende Massenspektrometrie

HRMS

Detektion mit einem Auflösungsvermögen mehr als 20 000 FWHM (en: full width at half maximum; Peakbreite bei halber Signalintensität) über den gesamten Massenbereich (entsprechend einem Auflösungsvermögen von 10 000 in der 10%-Tal-Definition) [1]

3.3

exakte Masse

Masse eines Elements relativ zur Masse von ^{12}C , die als exakt 12 u definiert ist, bestimmt

3.4

monoisotopische Masse

exakte Masse des häufigsten natürlichen Isotops eines Elements

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Berechnung der monoisotopischen Masse eines Moleküls oder Ions erfolgt unter Verwendung der monoisotopischen Massen der enthaltenen Elemente [2].

4 Grundlage des Verfahrens

Die Wasserprobe wird gegebenenfalls filtriert und direkt in das Analysensystem injiziert. Die Identifizierung und quantitative Bestimmung erfolgt durch Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie, gekoppelt mit massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS, HPLC-HRMS).

5 Störungen

5.1 Störungen bei der Probenvorbereitung

Bei Filtration der Probe können besonders bei den Stoffen Quinoxifen und Pendimethalin Verluste durch Sorption auftreten (siehe Tabelle B.1).

5.2 Störungen bei der Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und Massenspektrometrie

Peaktailing, Peakfronting und/oder verbreiterte Peaks weisen auf Störungen der Chromatographie hin.

Begleitstoffe (Matrix) können die Ionisation der Zielsubstanzen beeinträchtigen. Hierdurch können sich Unterbefunde oder Überbefunde bei der Quantifizierung ergeben. Diese Störungen können anhand von Wiederfindungsraten der Analyten oder interner Standards (siehe Tabelle D.2) erkannt und gegebenenfalls korrigiert werden (siehe Abschnitt 12).

6 Bezeichnung

Bezeichnung des Verfahrens zur Bestimmung ausgewählter Pflanzenschutzmittelwirkstoffe und anderer organischer Stoffe in Wasser — Verfahren mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS bzw. -HRMS) nach Direktinjektion (F 36):

Verfahren DIN 38407 — F 36

7 Reagenzien

7.1 Allgemeines

Als Reagenzien, soweit erhältlich, solche des Reinheitsgrades „zur Analyse“ oder „zur Rückstandsanalyse“ verwenden. Der Gehalt an Verunreinigungen, die zum Blindwert beitragen bzw. zu Störsignalen führen, muss vernachlässigbar gering sein. Dies muss regelmäßig geprüft werden (nach 10.4).

Lösemittel, Wasser und Reagenzien, die als Elutionsmittel Verwendung finden, müssen für die HPLC und Massenspektrometrie geeignet sein.

ANMERKUNG Spezielle Qualitäten sind im Handel erhältlich.

7.2 Wasser, blindwertfrei, z. B. Wasser der Qualität 1 nach DIN ISO 3696. Die Analyten dürfen in dem Wasser nicht vorkommen und es darf keine Oxidationsmittel enthalten (siehe Abschnitt 9).

7.3 Methanol, CH₃OH.

7.4 Acetonitril, CH₃CN.

7.5 Essigsäure, w(CH₃COOH) = 100 %.

7.6 Ameisensäure, $w(\text{HCOOH})$ mindestens 98 %.

7.7 Ammoniumacetat, $w(\text{CH}_3\text{COONH}_4)$ mindestens 99 %.

7.8 Ammoniumformiat, $w(\text{HCOONH}_4)$ mindestens 99 %.

7.9 Natriumthiosulfat-Pentahydrat, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

7.10 Betriebsgase für das Massenspektrometer, nach Angaben des Geräteherstellers.

7.11 Referenzsubstanzen, Stoffe nach Tabelle 1, mit bekanntem Massenanteil.

7.12 Interne Standardsubstanzen, vorzugsweise isotopenmarkierte Verbindungen der Referenzsubstanzen (siehe Tabelle D.2). Die internen Standards dürfen zu keiner Störung bei der quantitativen Bestimmung der Analyten führen (10.4).

7.13 Herstellung der Lösungen

7.13.1 Allgemeines

Die Lösungen interner Standardsubstanzen werden nur dann benötigt, wenn die Kalibrierung und Auswertung nach (11.3) bzw. (13.3) erfolgt.

Die Richtigkeit der Lösungen der Referenzsubstanzen mit einem Kontrollstandard (7.13.9) prüfen, z. B. bei der Durchführung der Kalibrierung (11.4).

ANMERKUNG Lösungen der Referenzsubstanzen und interne Standardsubstanzen sind im Handel erhältlich.

7.13.2 Stammlösungen (Referenzsubstanzen/interne Standardsubstanzen)

— Lösungen mit einer Massenkonzentration von z. B. 0,1 mg/ml der jeweiligen Substanz ansetzen.

— Hierfür z. B. je 5 mg einer Substanz (7.11) in jeweils einem 50-ml-Messkolben (8.3) vorlegen, mit Acetonitril (7.4) lösen und die Lösung mit dem Lösemittel bis zur Marke auffüllen.

Die Lösungen unter -15 °C vor Licht und Verdunstung geschützt aufbewahren; sie sind unter diesen Bedingungen mindestens ein Jahr haltbar.

7.13.3 Zwischenverdünnung-A (Referenzsubstanzen)

— Zwischenverdünnung mit einer Massenkonzentration der Substanzen von jeweils z. B. 1 µg/ml herstellen.

— Hierfür z. B. je 0,5 ml der Stammlösungen (7.13.2) der Referenzsubstanzen in einem 50-ml-Messkolben (8.3) vorlegen und die Lösung mit Acetonitril (7.4) bis zur Marke auffüllen.

Die Lösung unter -15 °C vor Licht und Verdunstung geschützt aufbewahren; sie ist unter diesen Bedingungen mindestens ein Jahr haltbar.

7.13.4 Zwischenverdünnung-B (Referenzsubstanzen)

— Zwischenverdünnung mit einer Massenkonzentration der Substanzen von jeweils z. B. 50 ng/ml herstellen.

— Hierfür z. B. 0,5 ml der Zwischenverdünnung-A (7.13.3) in einem 10-ml-Messkolben (8.3) vorlegen und die Lösung mit Wasser (7.2) bis zur Marke auffüllen.

Die Lösung bei 3 °C bis 8 °C vor Licht und Verdunstung geschützt aufbewahren; sie ist unter diesen Bedingungen mindestens einen Monat haltbar.

Die Lösung für die Aufstockung von Proben mit den Analyten zur Bestimmung der Wiederfindungsraten (12.2) verwenden.

7.13.5 Zwischenverdünnung-C (Referenzsubstanzen)

- Zwischenverdünnung mit einer Massenkonzentration der Substanzen von jeweils z. B. 5 ng/ml herstellen.
- Hierfür z. B. 0,25 ml der Zwischenverdünnung-A (7.13.3) in einem 50-ml-Messkolben (8.3) vorlegen und die Lösung mit Wasser (7.2) bis zur Marke auffüllen.

Die Lösung bei 3 °C bis 8 °C vor Licht und Verdunstung geschützt aufbewahren; sie ist unter diesen Bedingungen mindestens einen Monat haltbar.

7.13.6 Zwischenverdünnung-D (interne Standards)

- Zwischenverdünnung mit einer Massenkonzentration der Substanzen von jeweils 1 µg/ml herstellen.
- Hierfür z. B. je 0,5 ml der jeweiligen Stammlösung (7.13.2) der internen Standardsubstanzen in einem 50-ml-Messkolben (8.3) vorlegen und die Lösung mit Acetonitril (7.4) bis zur Marke auffüllen.

Die Lösung unter –15 °C vor Licht und Verdunstung geschützt aufbewahren; sie ist unter diesen Bedingungen mindestens ein Jahr haltbar.

7.13.7 Zwischenverdünnung-E (interne Standards)

- Zwischenverdünnung mit einer Massenkonzentration der Substanzen von jeweils z. B. 50 ng/ml herstellen.
- Hierfür z. B. 0,5 ml der Zwischenverdünnung-D (7.13.6) in einem 10-ml-Messkolben (8.3) vorlegen und die Lösung mit Wasser (7.2) bis zur Marke auffüllen.

Die Lösung bei 3 °C bis 8 °C vor Licht und Verdunstung geschützt aufbewahren; sie ist unter diesen Bedingungen mindestens einen Monat haltbar.

Die Lösung für die Herstellung von Kalibrierproben und Dotierung von Proben verwenden.

7.13.8 Kalibrierproben

- Die Kalibrierproben durch entsprechende Verdünnungen der Zwischenverdünnung-C (7.13.5) herstellen. Bei Kalibrierung mit internem Standard (11.3) jeder Kalibrierprobe die gleiche Menge an internen Standards zusetzen.
- Kalibrierproben ansetzen, z. B. Lösung, in der die Massenkonzentration der zu bestimmenden Stoffe jeweils 0,025 µg/l und die der internen Standardsubstanzen jeweils 0,250 µg/l entspricht.
- Hierfür z. B. 50 µl der Zwischenverdünnung-C (7.13.5) in einem 10-ml-Messkolben (8.3) vorlegen, 50 µl der Zwischenverdünnung-E (7.13.7) zufügen und die Lösung z. B. mit Wasser (7.2) bis zur Marke auffüllen.

Die Zusammensetzung der Kalibrierproben sollte, wenn möglich, den zu untersuchenden Proben ähnlich sein und darf zu keiner störenden Peakverbreiterung führen. Beim Ansatz der Kalibrierproben in Trink-, Grund- oder Oberflächenwasser sicherstellen, dass die zu bestimmenden Substanzen nicht enthalten sind.

Die Kalibrierproben sind für jede Messsequenz neu anzusetzen, soweit deren Stabilität nicht nachgewiesen wurde.

7.13.9 Kontrollstandard

Von den Stammlösungen unabhängig hergestellte Lösung der Referenzsubstanzen, z. B. Lösung einer anderen Bezugsquelle. Die Lösung sollte alle zu bestimmenden Substanzen enthalten, mindestens aber solche, die üblicherweise in den Proben vorgefunden werden.

8 Geräte

8.1 Allgemeines

Geräte oder Geräteteile, die mit der Wasserprobe in Berührung kommen, müssen blindwertfrei sein.

Vorzugsweise Geräte aus Glas, nicht rostendem Stahl und PTFE (Polytetrafluorethen) verwenden.

8.2 Enghals-Standflaschen, Nennvolumen 250 ml, vorzugsweise aus braunem Glas mit NS-Glasstopfen, z. B. Laborflasche nach ISO 4796-2 — 250 NS.

8.3 Messkolben, Nennvolumen 10 ml, 25 ml, 50 ml, z. B. Messkolben ISO 1042 — A 50 — C.

8.4 Mikroliterspritzen.

8.5 Spritzenvorsatzfilter, mit geringem Totvolumen, z. B. Durchmesser 13 mm mit Membran aus regenerierter Cellulose.

Um Verluste bei den Analyten bei Filtration möglichst gering zu halten, sollte das Verhältnis von Probevolumen zu Filtermaterial so groß wie möglich sein (Tabelle B.1).

8.6 Probengläser, passend zum Probenaufgabesystem, z. B. Rollrandflasche, Nennvolumen 1,5 ml mit Bördelkappe und Septum aus Gummi/PTFE.

8.7 HPLC-Säule, vorzugsweise mit Vorsäule, geeignet für die Chromatographie der ausgewählten Stoffe, Beispiele siehe Anhang C.

8.8 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatograph, gekoppelt mit Massenspektrometer, bestehend im Einzelnen aus:

8.8.1 Entgasungseinrichtung, z. B. Vakuum-Entgaser.

8.8.2 Analytisches Pumpensystem, pulsationsarm, geeignet für die binäre Gradientenelution.

8.8.3 Manuellem oder automatischem Probenaufgabesystem.

8.8.4 Vorrichtung zur Thermostatisierung der Trennsäule, z. B. Säulenthermostat.

8.8.5 Massenspektrometrischer Detektor (MS/MS, HRMS), vorzugsweise mit Electro-Spray-Ionisation (ESI).

9 Probenahme

— Proben unter Berücksichtigung der Festlegungen nach DIN 38402-12, DIN 38402-13, DIN ISO 5667-5 und DIN 38402-15 nehmen.

— Zur Probenahme gereinigte Enghals-Standflaschen (8.2) verwenden und die Flaschen vollständig mit dem zu untersuchenden Wasser füllen.

— Bei der Entnahme von Trinkwasser, das Oxidationsmittel enthalten kann, etwa 50 mg Natriumthiosulfat-Pentahydrat (7.9) je Liter zufügen.

ANMERKUNG 1 In Gegenwart von Oxidationsmittel (z. B. Chlor, Chlordioxid, Ozon) wird der Wirkstoff Chlorpyrifos rasch abgebaut.

— Wasserprobe so bald wie möglich nach der Probenahme analysieren.

— Zur Lagerung die Probe bei 3 °C bis 8 °C vor Licht geschützt aufbewahren, jedoch nicht länger als drei Wochen.

ANMERKUNG 2 Bei Lagerung der Probe können Verluste bei Quinoxifen und Pendimethalin durch Sorption auftreten.

10 Durchführung

10.1 Allgemeines

Die Durchführung des Verfahrens ist abhängig von der Art der Kalibrierung und den Maßnahmen, die zur Erkennung und gegebenenfalls zur Korrektur von Matrixeinflüssen vorgesehen werden.

10.2 Probenvorbereitung

- Teilvolumen der Probe, z. B. 10 ml, abmessen und die Probe den chromatographischen Bedingungen anpassen, hierzu gegebenenfalls Pufferlösung zugeben und pH-Wert einstellen.
- Bei Kalibrierung mit externem Standard (11.2) gegebenenfalls einen Aliquot der Teilprobe für die Bestimmung der Wiederfindungsraten entnehmen (12.2).
- Bei interner Standardisierung (11.3) der Teilprobe interne Standards zusetzen, z. B. durch Zugabe von 50 µl Zwischenverdünnung-E (7.13.7); die zugesetzte Menge so wählen, dass die Massenkonzentrationen der internen Standards in der Probe gleich sind mit denen in den Kalibrierproben (7.13.8).

Die durch Zugabe von Reagenzien verursachte Verdünnung der Probe bei der Berechnung der Einzelergebnisse (13.2) berücksichtigen, soweit sie mehr als 1 % beträgt.

Der Anteil an organischen Lösemitteln in den vorbereiteten Proben darf zu keiner zusätzlichen Peakverbreiterung führen.

- Vorbereitete Probe gegebenenfalls über ein Spritzenvorsatzfilter (8.5) in ein Probenglas (8.6) geben und analysieren.

Durch Filtration der Probe können Verluste bei den Analyten, besonders bei hydrophoben Stoffen, z. B. Pendimethalin, durch Sorption auftreten. Diese Verluste können mit den Wiederfindungsraten erfasst und gegebenenfalls berücksichtigt werden.

Bei partikelfreien Proben und solchen mit geringerem Partikelanteil kann auf die Filtration verzichtet werden. In diesem Fall sollte zum Schutz der HPLC-Säule bzw. Vorsäule ein Inline-Filter verwendet werden.

10.3 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)

- HPLC-Gerät nach den Anleitungen des Geräteherstellers in Betrieb nehmen.
- Zur chromatographischen Trennung eine geeignete HPLC-Säule (8.7) verwenden und die Trennung der Analyten durch Gradientenelution optimieren.

Die chromatographischen Bedingungen so wählen, dass eine optimale Empfindlichkeit bei der massenspektrometrischen Detektion erzielt wird (Beispiele siehe Anhang C).

ANMERKUNG 1 Bei gleicher linearer Fließgeschwindigkeit des Eluenten ergeben Säulen mit geringem Innendurchmesser bessere Empfindlichkeiten, als solche mit weiterem Querschnitt.

Eine vollständige Trennung der Substanzen ist nicht notwendig, sofern sichergestellt ist, dass bei Peaküberlappung keine Störungen der quantitativen Bestimmung auftreten.

Die kürzeste Retentionszeit sollte mindestens dem dreifachen Wert der Totzeit entsprechen.

- Substanzen, die spektrometrisch nicht vollständig von einander aufgelöst werden können, chromatographisch trennen. In diesen Fällen sollte die chromatographische Auflösung R mindestens $R = 1,2$ betragen.