

DIN 38407-42

ICS 13.060.50

**Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und
Schlammuntersuchung –
Gemeinsam erfassbare Stoffgruppen (Gruppe F) –
Teil 42: Bestimmung ausgewählter polyfluorierter Verbindungen (PFC)
in Wasser – Verfahren mittels
Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und
massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS) nach Fest-
Flüssig-Extraktion (F 42)**

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

Part 42: Determination of selected polyfluorinated compounds (PFC) in water – Method
using high performance liquid chromatography and mass spectrometric detection
(HPLC/MS-MS) after solid-liquid extraction (F 42)

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

Substances déterminables ensemble (groupe F) –

Partie 42: Dosage des composés sélectionnés polyfluorocarbure (PFC) dans l'eau –
Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance et spectrométrie de
masse (CLHP/MS-MS) après extraction solide-liquide (F 42)

Gesamtumfang 43 Seiten

Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN

Inhalt

	Seite
Vorwort.....	4
Einleitung.....	5
1 Anwendungsbereich.....	6
2 Normative Verweisungen.....	7
3 Begriffe	7
4 Grundlage des Verfahrens	7
5 Störungen	8
5.1 Allgemeines	8
5.2 Störungen bei der Extraktion und der Aufarbeitung von Extrakten.....	8
5.3 Störungen bei der Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und Massenspektrometrie	8
6 Bezeichnung.....	9
7 Reagenzien	9
8 Geräte.....	11
9 Probenahme	12
10 Durchführung	12
10.1 Allgemeines	12
10.2 Probenvorbereitung.....	12
10.3 Extraktion	12
10.4 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)	13
10.5 Detektion.....	14
10.6 Blindwertmessungen.....	14
11 Kalibrierung	15
11.1 Grundlagen.....	15
11.2 Kalibrierung mit externem Standard.....	16
11.3 Kalibrierung mit internem Standard	17
11.4 Prüfung der Kalibrierung	18
12 Bestimmung der Wiederfindungsraten	19
12.1 Wiederfindungsraten des Verfahrens.....	19
12.2 Wiederfindungsraten von internen Standards	20
13 Auswertung	21
13.1 Allgemeines	21
13.2 Bestätigung einzelner Substanzen	21
13.3 Berechnung des Einzelergebnisses	22
14 Angabe der Ergebnisse.....	23
15 Analysenbericht.....	23
16 Verfahrenskenndaten	23
Anhang A (informativ) Beispiele für Sorbentien, Arbeitsbedingungen und Wiederfindungsraten	27
Anhang B (informativ) Beispiele für HPLC-Säulen und Chromatogramme.....	34
Anhang C (informativ) Beispiele für Detektion.....	39
Anhang D (informativ) Beispiele für die Erweiterung des Verfahrens	41
Anhang E (informativ) Erläuterungen.....	42
Literaturhinweise	43

Bilder

Bild B.1 — Chromatographische Trennung, Beispiel 1	34
Bild B.2 — Chromatographische Trennung, Beispiel 2.....	35
Bild B.3 — Chromatographische Trennung, Beispiel 3.....	36
Bild B.4 — Chromatographische Trennung, Beispiel 4.....	37
Bild B.5 — Chromatographische Trennung, Beispiel 5.....	38
Bild C.1 — Beispiel für ein MS-Chromatogramm (Auszug) einer Probe (Oberflächenwasser) mit verzweigten und unverzweigten Carbonsäuren	40
Bild C.2 — Beispiel für ein MS-Chromatogramm (Auszug) einer Probe (Oberflächenwasser) mit verzweigten und unverzweigten Sulfonsäuren	40

Tabellen

Tabelle 1 — Substanzen, deren Bestimmung nach diesem Verfahren erprobt wurde	6
Tabelle 2 — Bedeutung der Indizes	16
Tabelle 3 — Beispiel für die Zuordnung der internen Standardsubstanzen zu den Analyten	17
Tabelle 4 — Verfahrenskennndaten für die HPLC-MS/MS-Messung.....	24
Tabelle 5 — Verfahrenskennndaten für die Matrix Trinkwasser.....	25
Tabelle 6 — Verfahrenskennndaten für die Matrix Grundwasser.....	25
Tabelle 7 — Verfahrenskennndaten für die Matrix Oberflächenwasser.....	26
Tabelle 8 — Verfahrenskennndaten für die Matrix behandeltes Abwasser.....	26
Tabelle A.1 — Beispiele für Wiederfindungsraten aus Reinstwasser (nach 7.2).....	30
Tabelle A.2 — Beispiele für Wiederfindungsraten aus Trinkwasser.....	31
Tabelle A.3 — Beispiele für Wiederfindungsraten aus Oberflächenwasser	32
Tabelle A.4 — Beispiele für Wiederfindungsraten aus behandeltem Abwasser (Kläranlagenabläufe)	33
Tabelle C.1 — Massenübergänge der zu bestimmenden Substanzen.....	39
Tabelle C.2 — Massenübergänge geeigneter interner Standardsubstanzen	39

Vorwort

Dieses Dokument wurde vom NA 119-01-03-02-19 AK „PFC in Wasser, Klärschlamm und Boden“ des NA 119-01-03 AA „Wasseruntersuchung“ im Normenausschuss Wasserwesen (NAW) erarbeitet.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Texte dieses Dokuments Patentrechte berühren können. Das DIN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Diese Norm wurde gemeinsam mit der Wasserchemischen Gesellschaft — eine Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker — aufgestellt (siehe Anhang E).

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 zusätzlicher Randbedingungen erforderlich ist.

Zu DIN 38407 „Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Gemeinsam erfassbare Stoffgruppen (Gruppe F)“ gehören weitere Teile. Eine Übersicht der Gruppen A bis T der „Deutschen Einheitsverfahren“ enthält Anhang E.

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 Anwenders, angemessene Sicherheits- und Schutzmaßnahmen zu treffen und sicherzustellen, dass diese mit nationalen Festlegungen übereinstimmen.

Einleitung

Polyfluorierte Verbindungen (PFC) (en: polyfluorinated compounds/chemicals) sind industriell hergestellte, persistente organische Verbindungen, bei denen am Kohlenstoffgerüst einige oder alle Wasserstoffatome durch Fluoratome ersetzt sind. Wegen ihrer besonderen Eigenschaften und Beständigkeit werden einige dieser Verbindungen als Tenside in Feuerlöschschäumen, galvanischen Bädern und in der fotochemischen Industrie eingesetzt. Eine Vielzahl von chemischen Produkten zur Imprägnierung von Papier, Textilien und Leder enthalten diese Verbindungen als Bausteine von Wirkstoffen, als produktionsbedingte Verunreinigungen oder als deren Abbauprodukte.

Durch Herstellung, Anwendung und Entsorgung können PFC in den Wasserkreislauf gelangen. Am häufigsten wurden bislang die Verbindungen Perfluorooctansäure (PFOA) und Perfluorooctansulfonsäure (PFOS) untersucht. Diese Stoffe werden deshalb auch als Leitsubstanzen für das Vorkommen von PFC behandelt.

Längerkettige Verbindungen, wie z. B. PFOS und PFOA, reichern sich im Blut und in der Leber an und weisen Halbwertszeiten von mehreren Jahren im menschlichen Körper auf. Im Tierversuch wurde für diese Verbindungen eine Reihe toxischer Effekte beobachtet, insbesondere hinsichtlich Tumorbildung und Reproduktionstoxizität. Abgesehen von wenigen Ausnahmen dürfen daher PFOS sowie sämtliche davon abgeleitete Verbindungen in der Europäischen Union nicht mehr verwendet oder in den Verkehr gebracht werden [1].

1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt ein Verfahren zur Bestimmung ausgewählter Perfluoralkyl-Substanzen in Trink-, Grund-, Oberflächen- und behandeltem Abwasser fest. Die untere Anwendungsgrenze beträgt 0,01 µg/l bzw. für behandeltes Abwasser 0,025 µg/l.

Die Anwendbarkeit des Verfahrens auf weitere, in Tabelle 1 nicht genannte Substanzen oder andere Wasserarten ist nicht ausgeschlossen, sie muss jedoch im Einzelfall geprüft werden.

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

Substanz	Kurz-bezeichnung	Summenformel	Relative molare Masse	CAS-RN ^a
Perfluorbutansäure	PFBA	C ₄ HO ₂ F ₇	214,04	375-22-4
Perfluorpentansäure	PFPeA	C ₅ HO ₂ F ₉	264,05	2706-90-3
Perfluorhexansäure	PFHxA	C ₆ HO ₂ F ₁₁	314,05	307-24-4
Perfluorheptansäure	PFHpA	C ₇ HO ₂ F ₁₃	364,06	375-85-9
Perfluoroctansäure	PFOA	C ₈ HO ₂ F ₁₅	414,07	335-67-1
Perfluornonansäure	PFNA	C ₉ HO ₂ F ₁₇	464,08	375-95-1
Perfluordecansäure	PFDA	C ₁₀ HO ₂ F ₁₉	514,08	335-76-2
Perfluorbutansulfonsäure	PFBS	C ₄ HO ₃ F ₉ S	300,10	375-73-5
Perfluorhexansulfonsäure	PFHxS	C ₆ HO ₃ F ₁₃ S	400,11	355-46-4
Perfluoroctansulfonsäure	PFOS	C ₈ HO ₃ F ₁₇ S	500,13	1763-23-1
^a CAS-RN Chemical Abstracts Services Registrier-Nummer				

Bei der technischen Herstellung von Perfluoralkylverbindungen durch elektrolytische Fluorierung von Kohlenwasserstoff-Ausgangsprodukten entstehen Isomerengemische. Neben den unverzweigten Isomeren können deswegen auch häufig verzweigte Isomere, insbesondere bei den Verbindungen PFOA, PFHxS und PFOS, in den zu untersuchenden Proben vorkommen.

Bei PFOS können maßgebliche Anteile verzweigter Isomere in Umweltproben auftreten. Da die verzweigten Isomere chromatographisch nur teilweise voneinander getrennt werden können, legt das in dieser Norm beschriebene Verfahren eine Konvention zur Quantifizierung des Gesamtgehalts aller Isomere des jeweiligen Perfluoralkylsulfonats bzw. Perfluoralkylcarboxylats fest.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente 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 32645, *Chemische Analytik– Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen — Begriffe, Verfahren, Auswertung*

DIN 38402-11, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Allgemeine Angaben (Gruppe A) — Probenahme von Abwasser (A 11)*

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 Analyseergebnissen und lineare Kalibrierfunktionen für die Bestimmung von Verfahrenskenngrößen (A 51)*

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

DIN EN ISO 4788, *Laborgeräte aus Glas — Messzylinder und Mischzylinder*

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 32645 und DIN 38402-51 und die folgenden Begriffe.

3.1

poly- und perfluorierte Verbindungen

PFC

international gebräuchliche Abkürzung für organische Verbindungen mit mehrfach fluorierter Alkylkette; im weiteren Sinne auch für perfluorierte Verbindungen

ANMERKUNG Die Abkürzung **PFT** ist auf den deutschen Sprachraum begrenzt und international nicht gebräuchlich. Mit diesem Begriff werden synthetisch hergestellte, nicht in der Natur vorkommende, persistente organische Chemikalien mit speziellen grenzflächenaktiven Eigenschaften und vollständig fluorierter (perfluorierter) Alkylkette zusammengefasst.

4 Grundlage des Verfahrens

Die Substanzen werden durch Festphasenextraktion an einem schwachen Anionenaustauscher aus der unfiltrierten Wasserprobe angereichert und mit ammoniakhaltigem Methanol eluiert. Die Bestätigung und quantitative Bestimmung erfolgen durch Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS).

ANMERKUNG Anreicherungsfreie Verfahren dürfen angewandt werden, wenn die Gleichwertigkeit zu dem genormten Verfahren nachgewiesen und dokumentiert wurde.

5 Störungen

5.1 Allgemeines

Störungen des Verfahrens können besonders durch den Kontakt der Probe mit polytetrafluorethylenhaltigen (PTFE = Polytetrafluorethylen) Materialien verursacht werden. Um Blindwerte zu vermeiden, sind bei der Probenahme, der Extraktion und der Analyse vorzugsweise Materialien aus Glas, Stahl, PEEK (Polyetheretherketon), Polypropylen oder Polyethylen zu verwenden.

ANMERKUNG 1 Materialien aus hochreinem PTFE sind weitgehend frei von den zu bestimmenden Substanzen. Entsprechende Schlauchmaterialien sind im Handel erhältlich.

Bei den Stoffen PFNA, PFDA und PFOS können Verluste durch Adsorption an der Gefäßwand auftreten. Diese Verluste sind abhängig von der Beschaffenheit der Probe und liegen bei PFOS meist unter 10 %.

ANMERKUNG 2 Verluste durch Sorption an der Gefäßwand können verringert werden, wenn die Probe in dem Probenahmegefäß vor der Aufarbeitung mit Methanol (Volumenanteil 5 %) versetzt und mehrfach geschüttelt wird. Der Verdünnungsfaktor ($f = 1,05$) muss bei der Auswertung der Ergebnisse berücksichtigt werden.

5.2 Störungen bei der Extraktion und der Aufarbeitung von Extrakten

Die im Handel erhältlichen Festphasenmaterialien sind oft von unterschiedlicher Beschaffenheit. Verunreinigungen können die Ionisierung beeinträchtigen und zu Störungen bei der quantitativen Bestimmung führen. Von Charge zu Charge können Schwankungen in der Qualität und Selektivität auftreten. Die Wiederfindungsrate einzelner Verbindungen kann in Abhängigkeit von der Konzentration und der Beschaffenheit der Probe schwanken. Die Wiederfindungsraten sind deshalb regelmäßig zu bestimmen (12.1).

Ein zu geringer Ammoniakgehalt der Elutionslösung (7.12), z. B. durch Überalterung der Lösung, kann zu niedrigen Wiederfindungsraten führen.

Der Volumenanteil an Methanol in der Messlösung sollte möglichst hoch gewählt werden und muss mindestens 40 % betragen. Bei geringerem Volumenanteil an Methanol können Minderbefunde bei den Stoffen PFNA, PFDA und PFOS auftreten.

5.3 Störungen bei der Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und Massenspektrometrie

Bei HPLC-Geräten werden häufig Materialien aus PTFE verwendet, die zu Blindwerten, z. B. bei PFOA, führen können. Typische Kontaminationsquellen sind z. B. Vakuumentgaser, Fritten und Schläuche sowie Pumpenkopfdichtungen. Treten solche Störungen auf, kann z. B. die Entgasung der Eluenten durch die Verwendung von Helium anstelle von Vakuumentgasern erfolgen. Fritten und Schläuche aus PTFE sind durch solche aus Edelstahl oder PEEK zu ersetzen. Soweit verfügbar, sind Pumpenkopfdichtungen aus Polyethylen zu verwenden.

ANMERKUNG Blindwerte aus der HPLC-Anlage können durch Adsorptionssäulen vor dem Injektor reduziert werden. Spezielle Adsorptionssäulen sind im Handel erhältlich.

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

Partikel in der Messlösung, z. B. Feinkornanteile des Festphasenmaterials, können die Eingangssiebe bzw. Fritten der HPLC-Säule verstopfen und infolge des Druckanstiegs zu Störungen führen; in diesem Fall sind die Extrakte vor der Analyse über ein Spritzenvorsatzfilter (8.11) zu filtrieren.

Begleitstoffe (Matrix) können die Ionisation der Zielsubstanzen beeinträchtigen. Hierdurch können sich Unterbefunde/Überbefunde bei der Quantifizierung ergeben. Diese Störungen können durch die Verwendung geeigneter interner Standards oder durch Aufstockung der Probe mit den Analyten erkannt und korrigiert werden.

6 Bezeichnung

Bezeichnung des Verfahrens zur Bestimmung ausgewählter polyfluorierter Verbindungen (PFC) in Wasser mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und massenspektrometrischer Detektion nach Fest-Flüssig-Extraktion (F 42):

Verfahren DIN 38407 — F 42

7 Reagenzien

7.1 Allgemeines

Als Reagenzien werden, soweit erhältlich, solche des Reinheitsgrades „zur Analyse“ oder „zur Rückstandsanalyse“ verwendet. Der Gehalt an Verunreinigungen, die zum Blindwert beitragen bzw. zu Störsignalen führen, muss vernachlässigbar gering sein. Dies muss regelmäßig geprüft werden (10.6).

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

7.2 Wasser, blindwertfrei, z. B. Wasser der Qualität 1 nach DIN ISO 3696. Die Beschaffenheit des Wassers muss geprüft werden.

7.3 Festphasenmaterial, schwacher Anionenaustauscher auf Polymerbasis.

7.4 Methanol, CH_3OH .

7.5 Acetonitril, CH_3CN .

7.6 Essigsäure, $w(\text{CH}_3\text{COOH}) = 100 \%$.

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

7.8 Aceton, $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$.

7.9 Ammoniaklösung, $w(\text{NH}_3)$ mindestens 25 %.

7.10 Ammoniumacetat, $\text{CH}_3\text{COONH}_4$.

7.11 Waschlösung für Festphasenextraktion, Mischung von Aceton (7.8), Acetonitril (7.5) und Ameisensäure (7.7) im Volumenverhältnis von 50:50:1.

7.12 Elutionslösung für Festphasenextraktion, Mischung von Methanol (7.4) und Ammoniak (7.9), Volumenanteil (NH_3) 0,1 %.

7.13 Stickstoff zum Einengen von Extrakten, Reinheit mindestens 99,99 %.

7.14 Betriebsgase für das Massenspektrometer, nach Angaben des Geräteherstellers.

7.15 Referenzsubstanzen, Substanzen nach Tabelle 1.

Ausschließlich solche Referenzsubstanzen bzw. Lösungen verwenden, die unverzweigte Isomere mit einem Gehalt von mindestens 95 % enthalten.

ANMERKUNG Lösungen von Referenzsubstanzen sind im Handel erhältlich.

7.16 Interne Standardsubstanzen, nach Tabelle C.2, Gehalt mindestens 95 %.

Die internen Standardsubstanzen dürfen die zu bestimmenden Substanzen in nachweisbaren Konzentrationen nicht enthalten. Dies ist zu prüfen.

ANMERKUNG Lösungen sind im Handel erhältlich.

7.17 Herstellung von Lösungen

Alle Lösungen sind auf den Gehalt des Anions zu berechnen.

Die Lösungen bei etwa 4 °C vor Verdunstung geschützt aufbewahren; sie sind unter diesen Bedingungen mindestens ein Jahr haltbar.

7.17.1 Einzellösungen der Referenzsubstanzen

Lösungen der Referenzsubstanzen (7.15) in Methanol (7.4), z. B. Massenkonzentration jeweils 50 µg/ml.

7.17.2 Einzellösungen interner Standardsubstanzen

Lösungen von internen Standardsubstanzen (7.16) in Methanol (7.4), z. B. Massenkonzentration jeweils 50 µg/ml.

7.17.3 Stammlösung (Referenzsubstanzen)

- Lösung der Referenzsubstanzen mit einer Massenkonzentration von z. B. jeweils 0,5 µg/ml herstellen.
- Hierfür z. B. jeweils 1 ml der Lösungen der Referenzsubstanzen (7.17.1) in einem 100-ml-Messkolben (8.4) vorlegen und die Lösung mit Methanol (7.4) bis zur Marke auffüllen.

Die Massenkonzentrationen der Substanzen in der Stammlösung regelmäßig mit einem Kontrollstandard (7.17.7) prüfen (siehe 11.4).

7.17.4 Stammlösung (interne Standardsubstanzen)

- Lösung der internen Standardsubstanzen mit einer Massenkonzentration von z. B. jeweils 1 µg/ml herstellen.
- Hierfür z. B. jeweils 1 ml der Lösungen der internen Standardsubstanzen (7.17.2) in einem 50-ml-Messkolben (8.4) vorlegen und die Lösung mit Methanol (7.4) bis zur Marke auffüllen.

7.17.5 Dotierlösung (interne Standardsubstanzen)

- Lösung der internen Standardsubstanzen mit einer Massenkonzentration von z. B. jeweils 0,1 µg/ml herstellen.
- Hierfür z. B. 1 ml der Stammlösung (7.17.4) in einem 10-ml-Messkolben (8.4) vorlegen und die Lösung mit Methanol (7.4) bis zur Marke auffüllen.

Die Lösung wird zur Dotierung von Wasserproben verwendet (siehe 10.2).

7.17.6 Bezugslösungen

Die Bezugslösungen durch entsprechende Verdünnungen der Stammlösungen (7.17.3, 7.17.4) herstellen. Jeder Bezugslösung die gleiche Menge an internen Standards zusetzen. Die Massenkonzentrationen der internen Standards in den Bezugslösungen sollen im oberen Arbeitsbereich liegen.

- Bezugslösung ansetzen, z. B. Lösung, in der die Massenkonzentrationen der zu bestimmenden Stoffe und der internen Standardsubstanzen jeweils 10 ng/ml betragen.

- Hierfür z. B. 200 µl der Stammlösung 7.17.3 und 100 µl der Stammlösung 7.17.4 in einem 10-ml-Messkolben (8.4) vorlegen und die Lösung mit einer Mischung von Methanol (7.4) mit Wasser (7.2), passend zu den Bedingungen der Chromatographie (siehe 10.4), bis zur Marke auffüllen.

Um Störungen zu vermeiden, muss der Volumenanteil des organischen Lösemittels in den Bezugslösungen mindestens 40 % betragen (5.2).

7.17.7 Kontrollstandard

Von der Stammlösung der Referenzsubstanzen (7.17.3) unabhängig hergestellte Lösung der zu bestimmenden Substanzen zur Prüfung der Kalibrierung nach 11.4, z. B. zertifizierte Standardlösung einer zweiten Bezugsquelle. Soweit verfügbar, sollte der Kontrollstandard die relevanten Verbindungen als Mischung unverzweigter und verzweigter Isomere enthalten.

ANMERKUNG Lösungen sind im Handel erhältlich.

8 Geräte

8.1 Allgemeines

Geräte oder Geräteteile, die mit der Wasserprobe oder dem Extrakt in Berührung kommen, müssen frei von Rückständen sein, die Blindwerte verursachen können (siehe Abschnitt 5).

8.2 Gefäße für die Probenahme, z. B. Zentrifugenröhrchen aus Polypropylen, Volumen 50 ml, mit Graduierung und Schraubverschluss aus Polyethylen. Die Röhrchen sind vor ihrer Verwendung mit Methanol (7.4) zu reinigen und zu trocknen.

Die Verwendung von Glasflaschen mit geeigneten Verschlüssen ist zulässig, wenn sichergestellt ist, dass hierdurch keine Blindwerte verursacht werden.

8.3 Messzylinder, Nennvolumen 50 ml, z. B. Messzylinder nach ISO 4788.

8.4 Messkolben, Nennvolumen 10 ml, 50 ml und 100 ml, z. B. Messkolben ISO 1042 — A 50 — C.

8.5 Pipetten, mit Spitzen aus Polypropylen.

8.6 Kartuschen, aus Polypropylen, mit Fritten aus Polyethylen, gepackt mit Festphasenmaterial (7.3).

ANMERKUNG Gebrauchsfertige Kartuschen sind im Handel erhältlich.

8.7 Reservoirsäule, Nennvolumen 70 ml, mit Adapter für Kartuschen (8.6), jeweils aus Polypropylen.

8.8 Vakuum- oder Druckvorrichtung, zur Durchführung der Extraktion.

8.9 Probenröhrchen, aus Glas oder Polypropylen, zum Sammeln und Einengen des Eluates, z. B. Reagenzglas, Nennvolumen 10 ml, mit Glasstopfen NS 14.

8.10 Vorrichtung zum Einengen von Extrakten, z. B. Apparatur für das Abblasen mit Stickstoff (7.13).

ANMERKUNG Die Verwendung von Rotationsverdampfern kann zu Blindwerten führen.

8.11 Spritzenvorsatzfilter, mit geringem Totvolumen, z. B. Durchmesser 4 mm mit Membran aus regenerierter Cellulose.

8.12 Probenflaschen, passend zum Probenaufgabesystem, z. B. Rollrandflaschen, Nennvolumen 1 ml, aus Polypropylen mit Schnappkappen aus Polyethylen (siehe Abschnitt 5).

8.13 HPLC-Säule, gegebenenfalls mit Vorsäule, Beispiele siehe Anhang B.

8.14 Hochleistungsflüssigkeits-Chromatograph, gekoppelt mit Massenspektrometer, bestehend im Einzelnen aus:

8.14.1 Entgasungseinrichtung, z. B. Vakuum-Entgaser.

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

8.14.3 Probenaufgabesystem.

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

8.14.5 Massenspektrometrischer Detektor (MS), vorzugsweise Tandem-Massenspektrometer mit Elektrospray-Ionisation (ESI).

ANMERKUNG Für die Durchführung des Verfahrens nach dieser Norm dürfen auch andere MS-Techniken eingesetzt werden, z. B. Time-of-Flight-Massenspektrometrie (TOF/MS), soweit die Bestätigung der Analyten für die jeweiligen Anwendungsbereiche gesichert und dokumentiert wurde.

9 Probenahme

- Proben unter Berücksichtigung der Festlegungen nach DIN 38402-11, DIN 38402-12, DIN 38402-13, DIN 38402-15 und DIN ISO 5667-5 nehmen.
- Zur Probenahme gereinigte Gefäße (8.2) verwenden und vollständig mit der Wasserprobe füllen.
- Wasserprobe bis zur Aufarbeitung kühl lagern, jedoch nicht länger als 14 Tage.

10 Durchführung

10.1 Allgemeines

Die Proben werden unfiltriert zur Analyse verwendet. Der pH-Wert der Probe sollte im Bereich von pH 6 bis pH 8 liegen und ist ggf. mit Natronlauge oder Schwefelsäure einzustellen.

10.2 Probenvorbereitung

- Wasserprobe abmessen, z. B. 50 ml, und interne Standardsubstanzen hinzufügen; hierzu z. B. 100 µl Dotierlösung (7.17.5) zugeben.
- Probe nach 10.3 aufarbeiten.

10.3 Extraktion

- Für ein Probenvolumen von z. B. 50 ml mindestens 60 mg Festphasenmaterial (7.3) verwenden.
- Zur Reinigung und Konditionierung nacheinander mindestens 2 ml Elutionslösung (7.12), 2 ml Methanol (7.4) und 2 ml Wasser (7.2) über das Festphasenmaterial geben.

Darauf achten, dass das Festphasenmaterial nicht trocken läuft.

ANMERKUNG 1 Antrocknen des Festphasenmaterials bei der Konditionierung kann zu Verlusten bei der Anreicherung führen.

In Abhängigkeit vom Festphasenmaterial kann es für die Reinigung, Konditionierung und bei der Elution erforderlich sein, das Lösemittel einige Minuten lang auf das Festphasenmaterial einwirken zu lassen.

- Die nach 10.2 vorbereitete Probe mit einem Durchfluss von höchstens 5 ml/min über das konditionierte Festphasenmaterial geben; den Durchfluss durch Änderung des Vakuums bzw. des Druckes regulieren (8.8).

Zur Aufnahme der Probe kann eine Reservoirsäule (8.7), die über einen Adapter mit der Kartusche (8.6) verbunden ist, verwendet werden.

- Festphasenmaterial nacheinander mit Wasser (7.2), Waschlösung (7.11) und Methanol (7.4) waschen; hierfür z. B. jeweils 2 ml verwenden.

ANMERKUNG 2 Das Volumen an Methanol kann bei Bedarf bis zu 5 ml betragen, ohne dass Verluste bei den Analyten auftreten.

- Zur Elution der adsorbierten Stoffe mindestens 2 ml Elutionslösung (7.12) mit einem Durchfluss von höchstens 2 ml/min über das Festphasenmaterial geben.
- Eluat in einem Probenröhrchen (8.9) sammeln.

Restliches Elutionsmittel mithilfe von Über- oder Unterdruck vollständig aus der Kartusche verdrängen und dem Eluat zufügen.

Die Volumina an Lösemittel und Wasser bei der Reinigung und Konditionierung, beim Waschen und bei der Elution der Analyten sind abhängig von der eingesetzten Masse des Festphasenmaterials (Beispiele siehe A.1).

- Eluat zur Trockne einengen, z. B. im Stickstoffstrom (7.13, 8.10) bei 40 °C.
- Rückstand lösen, z. B. in 1 ml. Hierzu ein Gemisch von Lösemittel mit Wasser, entsprechend der Zusammensetzung der Bezugslösungen, verwenden (siehe 7.17.6).
- Falls notwendig, den Extrakt durch ein Spritzenvorsatzfilter (8.11) filtrieren und ein Teilvolumen für die Analyse verwenden.

10.4 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)

- HPLC-Gerät nach den Anleitungen des Geräteherstellers in Betrieb nehmen.
- Zur chromatographischen Trennung eine geeignete HPLC-Säule (8.13) verwenden und die Trennung der Analyten durch Gradientenelution optimieren (Beispiele siehe Anhang B).
- Die chromatographischen Bedingungen so wählen, dass eine optimale Empfindlichkeit bei der massenspektrometrischen Detektion erzielt wird. Dabei muss die Retention von PFBA mindestens dem 2-fachen Leervolumen der Trennsäule entsprechen. Die Peaks müssen symmetrisch sein und dürfen keine störende Peakverbreiterung aufweisen.

ANMERKUNG 1 Üblicherweise werden mit Wasser und Methanol in Gegenwart von Ammoniumacetat (7.10) und gegebenenfalls Essigsäure (7.6) optimale Bedingungen für Chromatographie und Detektion erhalten.

ANMERKUNG 2 HPLC-Säulen mit RP-Materialien, die zusätzlich polare Wechselwirkungen mit den Analyten ermöglichen, ergeben eine höhere Retentionszeit für PFBA und sind zu bevorzugen.

Eine vollständige Trennung der Substanzen ist nicht unbedingt notwendig, da sich die Massenübergänge ausreichend von einander unterscheiden, sofern sichergestellt ist, dass bei Peaküberlappung keine Störungen der quantitativen Bestimmung auftreten.