

Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung
Gemeinsam erfaßbare Stoffgruppen (Gruppe F)
 Teil 8: Bestimmung von 6 polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK)
 in Wasser mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)
 mit Fluoreszenzdetektion (F 8)

DIN
38407-8

ICS 13.060.40

Deskriptoren: Wasseruntersuchung, Trinkwasser, Tafelwasser, Gehaltsbestimmung,
 Kohlenwasserstoff

German standard methods for the examination of water, waste water and sludge —
 Jointly determinable substances (group F) — Part 8: Determination of 6 poly-
 nuclear aromatic hydrocarbons (PAH) in water by high performance liquid
 chromatography (HPLC) with fluorescence detection (F 8)

Méthodes normalisées allemandes pour l'analyse des eaux, des eaux résiduai-
 res et des boues — Substances déterminables ensemble (groupe F) — Partie 8:
 Dosage des 6 hydrocarbures polycycliques avec la chromatographie en phase
 liquide à haute performance (HPLC) et fluorescence détection (F 8)

Vorwort

Diese Norm wurde gemeinsam mit der Fachgruppe Wasserchemie in der
 Gesellschaft Deutscher Chemiker aufgestellt (siehe Anhang A).

Es ist erforderlich, bei den Untersuchungen nach dieser Norm Fachleute oder
 Facheinrichtungen einzuschalten.

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

1 Allgemeine Angaben

Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) kommen in nahezu allen
 Gewässern sowohl ungelöst, an Feststoffen (Sedimente, Schwebstoffe) adsor-
 biert, als auch in Wasser gelöst vor.

2 Anwendungsbereich

Das Verfahren ist geeignet zur Bestimmung ausgewählter PAK in Trink-, Mineral-
 und Tafelwasser [1], [2], [3] in Massenkonzentrationen $> 0,005 \mu\text{g/l}$ (siehe
 Tabelle 1). Darüber hinaus kann das Verfahren auch zur Untersuchung von
 Grund- und Oberflächenwasser angewandt werden.

Nach diesem Verfahren wird die Gesamtprobe untersucht, da die PAK bevorzugt
 an partikulärem Material adsorbiert vorliegen.

ANMERKUNG: Für Trinkwasser sieht die Trinkwasserverordnung [1] den
 Summengrenzwert von $(0,20 \pm 0,04) \mu\text{g/l}$ vor; alle Werte sind auf Kohlen-
 stoff (C) bezogen.

Fortsetzung Seite 2 bis 22

Normenausschuß Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.

Tabelle 1: Benennung und Struktur der zu bestimmenden polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffe [1], [2], [3]

Benennung Summenformel Molare Masse M Massenanteil an Kohlenstoff, in %	Strukturformel	Benennung Summenformel Molare Masse M Massenanteil an Kohlenstoff, in %	Strukturformel
Fluoranthren (F) $C_{16}H_{10}$ $M = 202,16 \text{ g/mol}$ 95,0 % C		Benzo(a)pyren (BaP) $C_{20}H_{12}$ $M = 252,32 \text{ g/mol}$ 95,2 % C	
Benzo(b)fluoranthren (BbF) $C_{20}H_{12}$ $M = 252,32 \text{ g/mol}$ 95,2 % C		Benzo(k)fluoranthren (BkF) $C_{20}H_{12}$ $M = 252,32 \text{ g/mol}$ 95,2 % C	
Benzo(ghi)perylene (BP) $C_{22}H_{12}$ $M = 276,34 \text{ g/mol}$ 95,6 % C		Indeno(1,2,3-cd)pyren (IP) $C_{22}H_{12}$ $M = 276,34 \text{ g/mol}$ 95,6 % C	

3 Normative Verweisungen

Diese Norm enthält durch datierte oder undatierte Verweisungen Festlegungen aus anderen Publikationen. Diese normativen Verweisungen sind an den jeweiligen Stellen im Text zitiert, und die Publikationen sind nachstehend aufgeführt. Bei datierten Verweisungen gehören spätere Änderungen oder Überarbeitungen dieser Publikationen nur zu dieser Norm, falls sie durch Änderung oder Überarbeitung eingearbeitet sind. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe der in Bezug genommenen Publikation.

DIN 12036

Laborgeräte aus Glas — Enghals-Standflaschen mit Kegelschliff und Stopfen

DIN 12242-1

Laborgeräte aus Glas — Kegelschliffe für austauschbare Verbindungen — Maße, Toleranzen

DIN 12387

Laborgeräte aus Glas — Erlenmeyerkolben mit Kegelhülse, Kegel 1 : 10

- DIN 12664-1
Laborgeräte aus Glas — Meßkolben mit einer Marke — Meßkolben mit Bördelrand, Kegelhülse und Kegelschliffverbindung
- DIN 12680-2
Laborgeräte aus Glas — Meßzylinder mit Hauptpunkte-Ringteilung
- 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 38402-14
Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Allgemeine Angaben (Gruppe A) — Probenahme von Rohwasser und Trinkwasser (A 14)
- 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 Analyseverfahren, Auswertung von Analyseergebnissen und lineare Kalibrierfunktionen für die Bestimmung von Verfahrenskenngrößen (A 51)
- DIN 38409-13
Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H) — Bestimmung von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) in Trinkwasser (H 13-1 bis 3)
- [1] Verordnung über Trinkwasser und über Wasser für Lebensmittelbetriebe (Trinkwasserverordnung vom 05. 12. 1990), BGBl. I, S. 2613 – 2629 (1990)
- [2] Verordnung über natürliches Mineralwasser, Quellwasser und Tafelwasser (Mineral- und Tafelwasser-Verordnung vom 01.08.1984), BGBl. I, Nr 34, S. 1036 – 1044 (1984)
- [3] Richtlinie des Rates über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch vom 15.07.1980 (Amtsblatt der EG Nr. L 229/11)

4 Grundlage des Verfahrens

Die PAK werden mit Cyclohexan aus der Wasserprobe extrahiert. Der Extrakt wird zur Trockne eingeeengt und der Rückstand in Lösemittel aufgenommen. Extrakte von Oberflächenwasser und anderen belasteten Wasserproben werden zuvor zur Abtrennung von Begleitstoffen über Silicagel filtriert. Die PAK

werden durch HPLC an geeigneten stationären Phasen unter isokratischen Bedingungen aufgetrennt und mittels Fluoreszenzdetektion bei konstanter Wellenlängenkombination identifiziert und quantifiziert.

5 Störungen

5.1 Störungen bei der Probenahme und der Extraktion

Probenahmegeräte müssen aus Werkstoffen bestehen, welche die Probe während der auftretenden Kontaktzeiten nicht verändern. Vorzugsweise sind nichtrostender Stahl und Glas einzusetzen. Materialien aus Kunststoff sind bei der Probenahme möglichst nicht zu verwenden, da durch Adsorption an die Wandung Verluste entstehen können. Bei Einsatz automatischer Probenahmegeräte ist die Verwendung von Schläuchen in der Regel unumgänglich. Diese dürfen wegen Adsorptionseffekten nicht aus Gummi oder Silicon bestehen, müssen möglichst kurz sein und vor der Probenahme ausreichend lange oder kontinuierlich durchspült werden. Bei Lagerung der Probe treten Verluste an PAK durch Adsorption an die Gefäßwandung auf. Das Ausmaß der Verluste ist abhängig von der Lagerzeit (siehe Abschnitt 9).

Bei der Extraktion der Probe (siehe 10.1) dürfen Materialien aus Kunststoff nicht verwendet werden. Bei allen Verfahrensschritten ist darauf zu achten, daß die Probe vor direkter Sonneneinstrahlung geschützt ist. Durch länger anhaltende Lichteinwirkung können PAK abgebaut werden.

5.2 Störungen bei der HPLC

Substanzen, die fluoreszieren oder die Fluoreszenz unterdrücken und ähnliche chromatographische Eigenschaften wie die zu bestimmenden PAK haben, stören die Bestimmung. Diese Störungen können zu unvollständig aufgelösten Signalen führen und je nach Ausmaß die Richtigkeit des Ergebnisses beeinflussen. Bei Peaküberlagerungen ist eine Auswertung des Signals nicht möglich. Unsymmetrische und gegenüber den Referenzsubstanzen verbreiterte Peaks weisen auf diese Störungen hin.

Durch Aufnahme der Anregungs- und Emissionsspektren kann die Identität und die Peakreinheit geprüft werden.

6 Bezeichnung

Bezeichnung des Verfahrens zur Bestimmung von 6 PAK in Wasser mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie mit Fluoreszenzdetektion (F 8):

Verfahren DIN 38407 — F 8

7 Geräte

Die verwendeten Geräte müssen frei von PAK sein. Bei Glasgeräten ist hierzu eine Behandlung mit Wasser unter Zusatz eines Tensids und anschließendes Spülen mit Aceton üblicherweise ausreichend.

- Enghals-Standflasche aus braunem Glas, Nennvolumen 1 000 ml, mit Glasstopfen NS 29/32, z. B. Standflasche DIN 12036 — E 1 000
- Meßzylinder, Nennvolumen 5, 10 und 25 ml, z. B. Meßzylinder DIN 12680 — MH 5

ANMERKUNG 1: Anstelle von Meßzylindern können auch Flaschenaufsatz-Dosiergeräte aus Glas/PTFE verwendet werden (PTFE = Polytetrafluorethylen)

- Magnetrührstab, Länge etwa 40 mm, PTFE-ummantelt, aufbewahrt unter Cyclohexan
- Magnetrührer
- Mikroseparator, z. B. nach Bild 1
- Erlenmeyerkolben, Nennvolumen 100 ml, mit Glasstopfen NS 29/32, z. B. Kolben DIN 12387 — E 100 ANS 29
- Rundfilter aus Borosilicatglas, z. B. $d = 45$ mm, bindemittelfrei
- Schlitzsiebnutsche, Siebplatte z. B. $d = 48$ mm
- Reduzierkolben, Nennvolumen 100 ml, z. B. nach Bild 2
- Zentrifugenglas mit Spitzboden und Schraubkappe mit PTFE-beschichteter Dichtung, Nennvolumen etwa 50 ml, z. B. nach Bild 3
- Zentrifuge mit Rotor zur Aufnahme von Zentrifugengläsern mit einem Nennvolumen von etwa 50 ml
- Pasteurpipetten
- Vorrichtung zum Einengen der Extrakte, z. B. Rotationsverdampfer mit Vakuumkonstanthalter und thermostatisierbarem Wasserbad
- Schüttelgerät, geeignet zur Aufnahme von Reagenzgläsern
- Abblasvorrichtung, z. B. Stickstoff-Druckgasflasche mit Druckminderer und Nadelventil zur Feineinstellung
- Mikrofilter, mit lösemittelbeständiger Membran, Porenweite $0,45\text{ }\mu\text{m}$, zur Klarfiltration der HPLC-Extrakte
- Probenflaschen aus Glas, Volumen etwa 2 ml, mit inertem Verschuß, z. B. mit PTFE-beschichtetem Septum, zum Aufbewahren der Extrakte
- Kartuschen aus Polypropylen oder Glas, gefüllt mit $0,5\text{ g}$ Silicagel (nach 8.7)

ANMERKUNG 2: Fertigkartuschen sind im Handel erhältlich.

Die Kartuschen sind vor ihrer Verwendung über aktiviertem Blaugel im Exsikkator zu lagern, um eine gleichmäßige Aktivität sicherzustellen.

- Glasgefäße zum Auffangen und Einengen der Eluate, z. B. Zentrifugengläser, Nennvolumen 10 ml, mit Glasstopfen NS 14/23
- Meßkolben, Nennvolumen 10 und 100 ml, z. B. Meßkolben DIN 12664 — MS A 10
- Mikroliterspritzen, Nennvolumen 500 und 1 000 μl

ANMERKUNG 3: Zum Ansetzen der Bezugslösungen (siehe 8.12) sind Präzisionspipetten mit Spitzen aus Glas ebenfalls geeignet.

- Hochleistungs-Flüssigkeitschromatograph mit Fluoreszenzdetektor und Datenauswertesystem, ausgelegt für den vorgesehenen analytischen Arbeitsbereich mit
 - Entgasungseinrichtung, z. B. Entgasung mit Helium oder Vakuumentgaser
 - pulsationsarmem analytischem Pumpensystem
 - manuellem oder automatischem Probenaufgabesystem
 - Säulenthermostat, geeignet zur Thermostatisierung der Trennsäule bei Raumtemperatur
 - Fluoreszenzdetektor, vorzugsweise mit Monochromator auf der Anregungs- und Emissionsseite; Filtergeräte sind ebenfalls geeignet (siehe 10.4.2)
- Analytische Trennsäule, Länge bis 250 mm, Innendurchmesser 2 bis 4,6 mm, gepackt mit Material, Korngröße 3 bis 5 μm , das eine weitgehend vollständige Trennung der PAK ermöglicht (siehe 10.4.1, Beispiele in Bild 4 und Tabelle 2).

Tabelle 2: Arbeitsbedingungen für isokratische Trennung

Säule Kennbuch- stabe *)	Eluent	Volumen- verhältnis	Durch- fluß ml/min	Tempe- ratur °C	Druck MPa
A	Acetonitril/Wasser	95 : 5	0,4	27	8,5
B	Methanol/Acetonitril	20 : 80	0,8	20	7,5
C	Methanol/THF	65 : 35	1,0	25	12,5
D	Methanol/Acetonitril	50 : 50	0,5	20	4,5
Detektion: Fluoreszenz: Anregung 365 nm, Spalt 25 nm Emission 470 nm, Spalt 50 nm Peakidentifizierung: 1 Fluoranthren; 2 Benzo(b)fluoranthren; 3 Benzo(k)fluoranthren; 4 Benzo(a)pyren; 5 Benzo(ghi)perylen; 6 Indeno(1,2,3-cd)pyren; P Perylen *) Handelsnamen der Säulen siehe Anhang A					

Maße in mm
Grenzabmaße $\pm 0,5$ mm

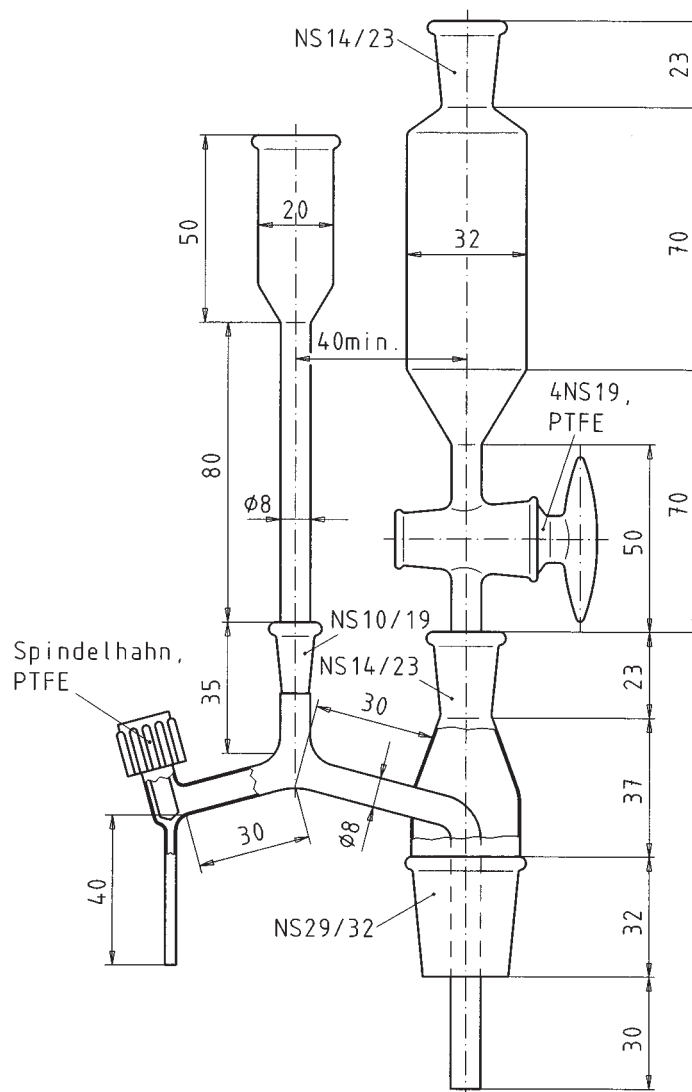


**Bild 1: Mikroseparator mit Kegelkern NS 29/32
zum Aufsetzen auf die Enghals-Standflasche**