

Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung

Schlamm und Sedimente (Gruppe S)

Teil 21: Bestimmung von 6 polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) und Fluoreszenzdetektion (S 21)

DIN**38414-21**

ICS 13.060.40

Deskriptoren: Klärschlamm, Gewässer, Sediment, Gehaltsbestimmung, polycyclischer aromatischer Kohlenwasserstoff

German standard methods for the examination of water, waste water and sludge — Sludge and sediments (group S) — Part 21: Determination of 6 polynuclear aromatic hydrocarbons (PAH) by high performance liquid chromatography (HPLC) with fluorescence detection (S 21)

Méthodes normalisées allemandes pour l'analyse des eaux, des eaux résiduaires et des boues — Boues et sédiments (groupe S) — Partie 21: Dosage de 6 hydrocarbures polycycliques avec la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) et détection de fluorescence (S 21)

Vorwort

Diese Norm wurde gemeinsam mit der Fachgruppe Wasserchemie in der Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh) 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 erforderlich ist.

Anhang A ist informativ.

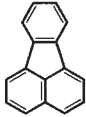
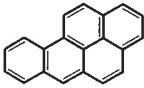
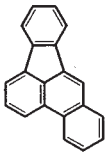
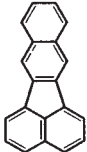
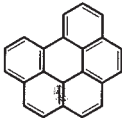
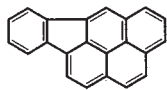
1 Allgemeine Angaben

Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) kommen als Nebenprodukte natürlicher und industrieller Verbrennungsprozesse in nahezu allen Schlämmen und Sedimenten vor.

Fortsetzung Seite 2 bis 18

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

Tabelle 1: Benennung und Struktur der zu bestimmenden 6 polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffe*)

Benennung Summenformel Molare Masse Massenanteil an Kohlenstoff, in Prozent	Strukturformel	Benennung Summenformel Molare Masse Massenanteil an Kohlenstoff, in Prozent	Strukturformel
Fluoranthren (F) $C_{16}H_{10}$ $M = 202,3 \text{ g/mol}$ 95,0 % C		Benzo(a)pyren (BaP) $C_{20}H_{12}$ $M = 252,3 \text{ g/mol}$ 95,2 % C	
Benzo(b)fluoranthren (BbF) $C_{20}H_{12}$ $M = 252,3 \text{ g/mol}$ 95,2 % C		Benzo(k)fluoranthren (BkF) $C_{20}H_{12}$ $M = 252,3 \text{ g/mol}$ 95,2 % C	
Benzo(ghi)perylen (BP) $C_{22}H_{12}$ $M = 276,3 \text{ g/mol}$ 95,6 % C		Indeno(1,2,3-cd)pyren (IP) $C_{22}H_{12}$ $M = 276,3 \text{ g/mol}$ 95,6 % C	
*) Die aufgeführten 6 PAK entsprechen denjenigen, die in der Trinkwasser- verordnung [1] genannt sind.			

2 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 12039

Laborgeräte aus Glas — Weithals-Standflaschen mit Kegelschliff und Stopfen

DIN 12242-1

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

DIN 12348

Laborgeräte aus Glas — Rundkolben und Stehkolben mit Kegelhülse, Kegel 1 : 10

- DIN 12449
Laborgeräte aus Papierfaserstoffen — Extraktionshülsen
- DIN 12591
Laborgeräte aus Glas — Dimrothkühler mit Kegelschliffen
- DIN 12602
Laborgeräte aus Glas — Extraktoren nach Soxhlet, mit Kegelschliffen
- 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 38402-51
Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Allgemeine Angaben (Gruppe A) — Kalibrierung von Analyseverfahren, Auswertung von Analyseergebnissen und lineare Kalibrierfunktionen für die Bestimmung von Verfahrenskenndaten (A 51)
- DIN 38414-1
Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Schlamm und Sedimente (Gruppe S) — Probenahme von Schlämmen (S 1)
- DIN 38414-11
Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Schlamm und Sedimente (Gruppe S) — Probenahme von Sedimenten (S 11)
- [1] Verordnung über Trinkwasser und über Wasser für Lebensmittelbetriebe (Trinkwasserverordnung vom 05. 12. 1990), BGBl. I, S. 2613-2629 (1990)
- [2] Klärschlammverordnung (AbfKlärV), BGBl. I, S. 912-916 (1992)
- [3] Laborsicherheit; Vorläufige Empfehlung für den Umgang mit pathogenen Mikroorganismen und für die Klassifikation von Mikroorganismen und Krankheitserregern nach den im Umgang mit ihnen auftretenden Gefahren. Bundesgesundheitsblatt 24, Nr. 22, S. 347-359 (30.10.1981)
- [4] Unfallverhütungsvorschrift Biotechnologie. Berufsgenossenschaft Chemie

3 Anwendungsbereich

Das Verfahren ist geeignet zur Bestimmung ausgewählter PAK (siehe Tabelle 1) in Klärschlämmen und Gewässersedimenten mit einem Massenanteil $> 0,1$ mg je kg Trockenmasse m_T

4 Grundlage des Verfahrens

Die PAK werden aus der gefriergetrockneten, homogenisierten Probe mit Lösemittel extrahiert. Ein Aliquot des Extraktes wird zur Abtrennung von

Begleitstoffen chromatographisch an Silicagel gereinigt, das Eluat zur Trockne eingengt und der Rückstand in einem Lösemittel aufgenommen.

Die PAK werden durch HPLC unter isokratischen Bedingungen aufgetrennt und mittels Fluoreszenzdetektion bei konstanter Wellenlängenkombination identifiziert und quantifiziert.

5 Störungen

Bei allen Verfahrensschritten ist darauf zu achten, daß die Probe vor direkter Sonneneinstrahlung geschützt ist. Durch länger anhaltende Lichteinstrahlung können PAK chemisch verändert werden.

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 der Referenzsubstanz verbreiterte Peaks weisen auf diese Störungen hin.

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

6 Bezeichnung

Bezeichnung des Verfahrens zur Bestimmung von 6 PAK in Klärschlämmen und Gewässersedimenten nach Extraktion mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und Fluoreszenzdetektion (S 21):

Verfahren DIN 38414 — S 21

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.

- Weithals-Standflasche aus braunem Glas, Nennvolumen 1000 ml, mit Dekelstopfen NS 60/46, z. B. Weithals-Standflaschen DIN 12039 — W 1000-G
- Tiefkühlschrank, möglichst mit Kontaktgefrierung, Temperaturbereich bis mindestens -35°C , Innenraum explosionsgeschützt

ANMERKUNG 1: Die Tiefkühlung der Probe ist auch in einem dafür eingerichteten Gefriertrockner möglich.

- Gefriertrocknungsanlage, geeignet für Flachschenbeschickung, für einen Druck $\leq 37\text{ Pa}$, mit Einrichtung für druckgesteuerte Trocknung, Temperatur- und Druckmeßeinrichtung und Begasungseinrichtung (z. B. Trockenraum, Stickstoffbegasung). Die Anweisungen des Geräteherstellers sind zu beachten.

- Flachschen, z. B. aus Aluminium oder nichtrostendem Stahl, Durchmesser entsprechend der Größe der Stellflächen in der Gefriertrocknungsanlage, Bordhöhe etwa 2,5 cm. Der Schalenboden darf keine merklichen Bodenunebenheiten aufweisen.
 - Flachsiebe mit Dichtungsrand, Maschenweite etwa 0,2 mm, aus nichtrostendem Stahl, Durchmesser dem der Flachschen entsprechend
 - Waage, 0,01 g Auflösung
 - Weithalsflasche aus braunem Glas, Nennvolumen etwa 100 ml, mit dichtschließendem Schraubverschluß zur Aufbewahrung des Trockengutes
 - Mörser und Pistill, z. B. aus Achat oder Zirkondioxid, Volumen etwa 200 ml
 - Extraktionsapparatur, z. B. bestehend aus:
 - Rundkolben, Nennvolumen 100 ml, z. B. Kolben DIN 12348 — RANS 100-29,
 - Extraktor nach Soxhlet, Nennvolumen 30 ml, z. B. Extraktor DIN 12602 — 30,
 - Dimrothkühler, z. B. Kühler DIN 12591 — D 250-29,
 - Heizgerät mit Temperaturregelung, z. B. Kolbenheizer, Sicherheits-Heizhaube oder Wasserbad,
 - Extraktionshülsen, z. B. nach DIN 12449
 - Vorrichtung zum Einengen der Extrakte, z. B. Rotationsverdampfer mit Vakuumkonstanthalter und thermostatisierbarem Wasserbad
 - Meßkolben, Nennvolumen 10, 50 und 100 ml, z. B. Meßkolben DIN 12664 — MS A 10
 - Mikroliterspritzen, Nennvolumen 20, 50, 500 und 1000 µl
- ANMERKUNG 2: Zum Ansetzen der Bezugslösungen (nach 8.13) sind Präzisionspipetten mit Spitzen aus Glas ebenfalls geeignet.
- Kartuschen aus Polypropylen oder Glas, gefüllt mit 0,5 g Silicagel (nach 8.4)
- ANMERKUNG 3: Fertigkartuschen sind im Handel erhältlich.
- Die Kartuschen werden vor ihrer Verwendung über aktiviertem Blaugel (nach 8.5) im Exsikkator aufbewahrt, um eine gleichmäßige Aktivität sicherzustellen.
- Meßzylinder, Nennvolumen 10 und 100 ml, z. B. Meßzylinder DIN 12680 — MH 10
- ANMERKUNG 4: Anstelle von Meßzylindern können auch Flaschenaufsatz-Dosiergeräte aus Glas oder PTFE (Polytetrafluorethen) verwendet werden.
- Glasgefäße zum Auffangen und Einengen der Eluate, z. B. Zentrifugengläser, Nennvolumen 10 ml, mit Normschliff NS 14/23 nach DIN 12242-1 und Glasstopfen
 - Mikrofilter, mit lösemittelbeständiger Membran, Porenweite 0,45 µm, zur Klarfiltration der HPLC-Extrakte
 - Schüttelgerät, geeignet für die Aufnahme von Reagenzgläsern
 - Pasteurpipetten
 - Probenflaschen aus Glas, Volumen etwa 2 ml, mit inertem Verschluß, z. B. mit PTFE-beschichtetem Septum, zum Aufbewahren der Extrakte

— 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, Säulenthmostat, geeignet zur Thermostatisierung der Trennsäule bei Raumtemperatur, Fluoreszenzdetektor, vorzugsweise mit Monochromator auf der Anregungs- und Emissionsseite; Filtergeräte sind ebenfalls geeignet (siehe 10.3.2)

ANMERKUNG 5: Anstelle von Helium kann auch Argon verwendet werden.

— Analytische Trennsäule, Länge bis 250 mm, Innendurchmesser 2,1 bis 4,6 mm, gepackt mit Material, Korngröße 3 bis 5 μm , das eine weitgehend vollständige Trennung der PAK ermöglicht (siehe 10.3.1, Beispiele in Bild 1 und Tabelle 2).

ANMERKUNG 6: Spezielle HPLC-Säulen zur Trennung von PAK sind im Handel erhältlich.

8 Chemikalien

Als Chemikalien werden, soweit erhältlich, solche des Reinheitsgrades "zur Rückstandsanalyse" bzw. "zur HPLC" verwendet. Durch regelmäßige Prüfung des Blindwertes ist sicherzustellen, daß die Chemikalien keine PAK in nachweisbaren Konzentrationen enthalten (siehe Abschnitt 12).

8.1 Wasser für die HPLC

8.2 Natriumsulfat, Na_2SO_4 , wasserfrei

8.3 Lösemittel

— Für die Extraktion und Extraktreinigung: Cyclohexan, C_6H_{12} ; n-Hexan, C_6H_{14} ; Dichlormethan, CH_2Cl_2

ANMERKUNG 1: Dichlormethan enthält oft Stabilisatoren, z. B. Ethanol oder Amylen, die die Elutionseigenschaften des Eluenten beeinflussen können. Fehlt der Stabilisator oder wird er entfernt, ist mit Bildung von Chlorwasserstoff zu rechnen.

— Für die HPLC: z. B. Methanol, CH_3OH ; Acetonitril, CH_3CN ; Tetrahydrofuran, THF, $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$, ohne Stabilisator

ANMERKUNG 2: Auf die Toxizität von Acetonitril wird ausdrücklich hingewiesen.

ANMERKUNG 3: Tetrahydrofuran kann Peroxide enthalten, die jedoch bisher zu keinen Störungen bei der HPLC geführt haben. Vorzugsweise sollten Chargen mit geringem Peroxidgehalt eingesetzt werden, der regelmäßig kontrolliert wird (Teststäbchen). Die Verwendung kleiner Gebinde ist vorteilhaft.