

DIN EN 17503



ICS 13.030.01; 13.080.10

Ersatz für
DIN EN 15527:2008-09 und
DIN EN 16181:2019-08

**Boden, Schlamm, behandelter Bioabfall und Abfall –
Bestimmung von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK)
mittels Gaschromatographie (GC) und
Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC);
Deutsche Fassung EN 17503:2022**

Soil, sludge, treated biowaste and waste –
Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) by gas chromatography (GC) and
high performance liquid chromatography (HPLC);
German version EN 17503:2022

Sols, boues, biodéchets traités et déchets –
Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) par chromatographie en phase
gazeuse et chromatographie liquide à haute performance;
Version allemande EN 17503:2022

Gesamtumfang 61 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN 17503:2022) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 444 „Umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NEN (Niederlande) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Arbeitskreis NA 119-01-02-02-05 AK „Organische Analytik“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW).

Für die in diesem Dokument zitierten Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 5725-2	siehe	DIN ISO 5725-2
ISO 8466-2	siehe	DIN ISO 8466-2
ISO 18287	siehe	DIN ISO 18287
ISO 18512	siehe	DIN ISO 18512
ISO 28540	siehe	DIN ISO 28540

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Änderungen

Gegenüber DIN EN 15527:2008-09 und DIN EN 16181:2019-08 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Die Inhalte von DIN EN 15527:2008-09 und DIN EN 16181:2019-08 wurden zusammengeführt und somit der Anwendungsbereich erweitert;
- b) unter Berücksichtigung der verschiedenen Matrices enthält dieses Dokument nicht eine einzige mögliche Arbeitsweise. Es sind unterschiedliche Aufreinigungs- und Extraktionsverfahren beschrieben;
- c) die Bestimmung von PAK ist durch GC-MS-Detektion als auch mit HPLC-DAD-UV/FLD beschrieben;
- d) redaktionelle Überarbeitung der Norm.

Frühere Ausgaben

DIN EN 15527: 2008-09
DIN CEN/TS 16181 (DIN SPEC 91243): 2013-12
DIN EN 16181: 2019-08

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN ISO 5725-2, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für die Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens*

DIN ISO 8466-2, *Wasserbeschaffenheit — Kalibrierung und Auswertung analytischer Verfahren und Beurteilung von Verfahrenskennwerten — Teil 2: Kalibrierstrategie für nichtlineare Kalibrierfunktionen zweiten Grades*

DIN ISO 18287, *Bodenbeschaffenheit — Bestimmung der polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAK) — Gaschromatographisches Verfahren mit Nachweis durch Massenspektrometrie (GC-MS)*

DIN ISO 18512, *Bodenbeschaffenheit — Anleitung für die Lang- und Kurzzeitlagerung von Bodenproben*

DIN ISO 28540, *Wasserbeschaffenheit — Bestimmung von 16 polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) in Wasser — Verfahren mittels Gaschromatographie und massenspektrometrischer Detektion (GC-MS)*

— Leerseite —

Deutsche Fassung

**Boden, Schlamm, behandelter Bioabfall und Abfall —
Bestimmung von polycyclischen aromatischen
Kohlenwasserstoffen (PAK) mittels Gaschromatographie (GC)
und Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)**

Soil, sludge, treated biowaste and waste —
Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH)
by gas chromatography (GC) and high performance liquid
chromatography (HPLC)

Sols, boues, biodéchets traités et déchets —
Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques
(HAP) par chromatographie en phase gazeuse et
chromatographie liquide à haute performance

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 3. Januar 2022 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim CEN-CENELEC-Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, der Republik Nordmazedonien, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung	9
5 Störungen	10
5.1 Störungen bei Probenahme und Extraktion	10
5.2 Störungen bei der GC-MS	10
5.3 Störungen bei der HPLC	10
6 Sicherheitshinweise	11
7 Reagenzien	11
7.1 Allgemeines	11
7.2 Reagenzien für die Extraktion	11
7.3 Reagenzien für die Aufreinigung	11
7.3.1 Aufreinigungsverfahren A mit Aluminiumoxid	11
7.3.2 Reinigungsverfahren B mit Kieselgel 60 für Säulenchromatographie	12
7.3.3 Reinigungsverfahren C mit Gelpermeationschromatographie (GPC)	12
7.4 Reagenzien für die chromatographische Analyse	13
7.4.1 GC-Analyse	13
7.4.2 HPLC-Analyse	13
7.5 Standards	13
7.5.1 Allgemeines	13
7.5.2 Kalibriersubstanzen und interne Standards	13
7.5.3 Injektionsstandard	14
7.6 Herstellung der Standardlösungen	14
7.6.1 Allgemeines	14
7.6.2 Herstellung der Kalibrierstandardlösungen für die GC-MS	15
7.6.3 Herstellung der internen Standardlösung für die GC-MS	15
7.6.4 Herstellung der Injektionsstandardlösung für die GC-MS	15
7.6.5 Herstellung der Kalibrierstandardlösungen für die HPLC	15
7.6.6 Herstellung der Extraktionsstandardlösung für die HPLC	15
8 Geräte	16
8.1 Extraktions- und Aufreinigungsverfahren	16
8.2 Gaschromatograph	17
8.2.1 Allgemeines	17
8.2.2 Kapillarsäulen	17
8.3 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatograph (HPLC-System)	17
8.3.1 Allgemeines	17
8.3.2 Analytische Trennsäule	17
9 Probenlagerung und Probenkonservierung	17
9.1 Probenlagerung	17
9.2 Probenvorbehandlung	18

10	Durchführung	19
10.1	Blindwertbestimmung.....	19
10.2	Extraktion	19
10.2.1	Allgemeines	19
10.2.2	Extraktionsverfahren 1: Aceton/hexanähnliches Lösemittel und Schütteln oder Ultraschallanwendung	20
10.2.3	Extraktionsverfahren 2: Soxhlet-Extraktion	21
10.2.4	Extraktionsverfahren 3: Hochdruck-Flüssigextraktion (PLE).....	21
10.2.5	Extraktionsverfahren 4: Aceton/hexanähnliches Lösemittel/Natriumchlorid und Schütteln.....	22
10.3	Einengen	22
10.3.1	Allgemeines	22
10.3.2	Für die HPLC-Analyse.....	22
10.4	Aufreinigung des Extrakts.....	23
10.4.1	Allgemeines	23
10.4.2	Aufreinigungsverfahren A – Aluminiumoxid	23
10.4.3	Aufreinigungsverfahren B – Kieselgel	24
10.4.4	Aufreinigungsverfahren C – Gelpermeationschromatographie.....	24
10.5	Zugabe des Injektionsstandards.....	25
10.6	GC-MS-Analyse (GC-MS).....	25
10.6.1	Einstellungen des Gaschromatographen	25
10.6.2	Massenspektrometrische Bedingungen (MS-Bedingungen)	25
10.6.3	Kalibrierung des Verfahrens mithilfe eines internen Standards	27
10.6.4	Messung	28
10.6.5	Identifizierung.....	28
10.6.6	Überprüfung der Verfahrensleistung	28
10.6.7	Berechnung.....	29
10.7	Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)	30
10.7.1	Allgemeines	30
10.7.2	Einstellung des HPLC-Systems.....	30
10.7.3	Detektion	31
10.7.4	Kalibrierung.....	32
10.7.5	Messung	32
10.7.6	Berechnung.....	32
11	Verfahrenskennndaten.....	33
12	Präzision.....	33
13	Prüfbericht.....	33
Anhang A (informativ)	Daten zur Wiederhol- und Vergleichpräzision.....	35
A.1	Für den Ringversuch verwendete Materialien.....	35
A.2	Ergebnisse des Ringversuchs.....	36
Anhang B (informativ)	Beispiele für Chromatogramme und gerätetechnische Bedingungen....	43
B.1	Messung von PAK mittels GC-MS.....	43
B.2	Messung von PAK mittels HPLC-Fluoreszenz.....	49
B.3	Beispielbedingungen für die Messung von PAK mittels GC-MS/MS.....	55
Literaturhinweise.....		57

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN 17503:2022) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 444 „Umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NEN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis August 2022, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis August 2022 zurückgezogen werden.

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

Dieses Dokument ersetzt EN 15527:2008 und EN 16181:2018.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Liste dieser Institute ist auf den Internetseiten von CEN abrufbar.

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die Republik Nordmazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Einleitung

Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) sind ubiquitär, da sie infolge der Verbrennung von organischen Stoffen, wie z. B. Kohle, Heizöl, Benzin, Holz, Abfällen und pflanzlichen Materialien, in beachtlichen Mengen jährlich in die Umwelt gelangen. Da einige dieser PAK-Verbindungen karzinogen oder mutagen sind, wird ihr Vorhandensein in der Umwelt (Luft, Wasser, Boden, Sediment und Abfall) regelmäßig überwacht. Derzeit erfolgt die Bestimmung von PAK in diesen Matrices in den meisten Routinelabors – nach den vorgeschriebenen Schritten für Probenahme, Probenvorbehandlung, Extraktion und Aufreinigung – durch die Messung bestimmter PAK mittels Gaschromatographie in Kombination mit massenspektrometrischer Detektion (GC-MS) oder mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) in Kombination mit UV-DAD- oder Fluoreszenzdetektion (HPLC-UV-DAD/FLD). Sowohl das GC-MS- als auch das HPLC-Verfahren werden in dieser horizontalen Norm behandelt.

Dieses Dokument entstand aus der Zusammenführung der Norm EN 16181:2018, die ursprünglich als Technische Spezifikation des CEN im Rahmen des europäischen Projekts „HORIZONTAL“ erarbeitet und von CEN/TC 400 mit Unterstützung der BAM validiert wurde, und der Norm EN 15527, die von CEN/TC 292 veröffentlicht wurde.

In Anbetracht der verschiedenen Matrices und der möglichen störenden Verbindungen enthält dieses Dokument nicht eine einzig mögliche Arbeitsweise. Es stehen mehrere Möglichkeiten zur Auswahl, insbesondere hinsichtlich der Aufreinigung. Eine Quantifizierung ist sowohl mittels GC-MS-Detektion als auch mittels HPLC-DAD-UV/FLD möglich. Es werden vier verschiedene Extraktionsverfahren und drei Aufreinigungsverfahren beschrieben. Die Verwendung von internen Standards und Injektionsstandards wird beschrieben, um eine interne Überprüfung der Auswahl des Extraktions- und Aufreinigungsverfahrens zu ermöglichen. Das Verfahren entspricht, soweit möglich, dem für polychlorierte Biphenyle (PCB) beschriebenen Verfahren in EN 17322. Es wurde im Hinblick auf seine Robustheit überprüft.

Dieses Dokument ist für verschiedene Arten von Matrices, wie in Tabelle 1 angegeben, anwendbar und validiert (siehe auch Anhang A zu den Ergebnissen der Validierung).

Tabelle 1 — Matrices, für die dieses Dokument anwendbar und validiert ist

Matrix	Für die Validierung verwendete Materialien
Boden	Sandboden Gemisch aus Böden aus einem Industriegebiet in Brandenburg, Deutschland, und PAK-freiem Referenzboden aus Deutschland
Schlamm	Gemisch aus kommunalem Klärschlamm aus der Nähe von Berlin, Deutschland
Bioabfall	Gemisch aus Kompost aus der Nähe von Berlin, Deutschland
Abfall	kontaminierter Boden, Bauschutt, Altholz, Teerpappe, Schredderleichtfraktion

WARNUNG — Anwender dieses Dokuments sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Dieses Dokument 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.

WARNUNG — Es ist erforderlich, bei den Untersuchungen nach diesem Dokument Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt verschiedene Verfahren für die quantitative Bestimmung von 16 polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) (siehe Tabelle 2) in Boden, Schlamm, behandeltem Bioabfall und Abfall mittels GC-MS oder HPLC-UV-DAD/FLD fest, wobei ein breites Spektrum an PAK-Kontaminationsniveaus (siehe Tabelle 2) abgedeckt wird.

ANMERKUNG Das Verfahren kann auf Sedimente angewandt werden, sofern der Anwender die Validität nachweist.

Bei Anwendung der Fluoreszenzdetektion kann Acenaphthylen nicht bestimmt werden.

Tabelle 2 — Zielanalyte dieses Dokuments

Zielanalyt	CAS-RN ^a
Naphthalen	91-20-3
Acenaphthen	83-32-9
Acenaphthylen	208-96-8
Fluoren	86-73-7
Anthracen	120-12-7
Phenanthren	85-01-8
Fluoranthren	206-44-0
Pyren	129-00-0
Benz[<i>a</i>]anthracen	56-55-3
Chrysen	218-01-9
Benzo[<i>b</i>]fluoranthren	205-99-2
Benzo[<i>k</i>]fluoranthren	207-08-9
Benzo[<i>a</i>]pyren	50-32-8
Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyren	193-39-5
Dibenz[<i>a,h</i>]anthracen	53-70-3
Benzo[<i>ghi</i>]perylene	191-24-2
^a CAS-RN Chemical Abstracts Service Registry Number.	

Die Nachweisgrenze hängt von den zu bestimmenden Substanzen, der verwendeten technischen Ausrüstung, der Qualität der für die Extraktion der Probe verwendeten Chemikalien und der Aufreinigung des Extrakts ab.

Unter den in diesem Dokument festgelegten Bedingungen kann eine untere Anwendungsgrenze zwischen 10 µg/kg (angegeben als Trockenmasse) für Böden, Schlamm und Bioabfall und 100 µg/kg (angegeben als Trockenmasse) für Feststoffabfall erreicht werden. Bei einigen bestimmten Proben (z. B. Bitumen) kann die Grenze von 100 µg/kg nicht erreicht werden.

Schlamm, Abfall und behandelter Bioabfall können sich in Bezug auf ihre Eigenschaften sowie auf die erwarteten PAK-Kontaminationsniveaus und das Vorhandensein von störenden Substanzen unterscheiden. Aufgrund dieser Unterschiede ist es unmöglich, ein allgemeines Verfahren darzulegen. Dieses Dokument

enthält Entscheidungstabellen, die auf den Eigenschaften der Probe und den anzuwendenden Extraktions- und Aufreinigungsverfahren basieren.

Das Verfahren kann für die Analyse weiterer PAK angewendet werden, die im Anwendungsbereich nicht genannt sind, sofern die Eignung des Verfahrens durch hinreichende interne Validierungsuntersuchungen bewiesen wurde.

Die Probenahme ist nicht Bestandteil dieser Norm. In Abhängigkeit von den Materialien bedürfen die folgenden Normen der Berücksichtigung, z. B. EN 14899, ISO 5667-12 und EN ISO 5667-13.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. 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).

EN 15002, *Charakterisierung von Abfällen — Herstellung von Prüfmengen aus der Laborprobe*

EN 15934, *Schlamm, behandelter Bioabfall, Boden und Abfall — Berechnung des Trockenmassenanteils nach Bestimmung des Trockenrückstands oder des Wassergehalts*

EN 16179, *Schlamm, behandelter Bioabfall und Boden — Anleitung zur Probenvorbehandlung*

EN ISO 5667-15, *Wasserbeschaffenheit — Probenahme — Teil 15: Anleitung zur Konservierung und Handhabung von Schlamm- und Sedimentproben (ISO 5667-15)*

EN ISO 16720, *Bodenbeschaffenheit — Vorbehandlung von Proben durch Gefriertrocknung für die anschließende Analyse (ISO 16720)*

EN ISO 22892, *Bodenbeschaffenheit — Anleitungen für die Identifizierung von Zielverbindungen durch Gaschromatographie und Massenspektrometrie (ISO 22892)*

ISO 8466-1, *Water quality — Calibration and evaluation of analytical methods — Part 1: Linear calibration function*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

— IEC Electropedia: verfügbar unter <https://www.electropedia.org/>

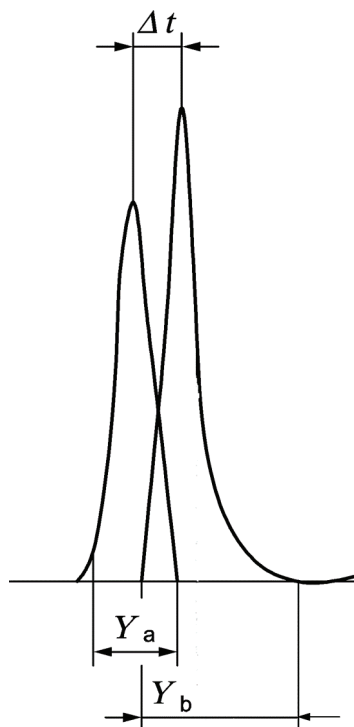
— ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>

3.1

kritisches Paar

Paar von PAK, das bis zu einem bestimmten Grad aufgetrennt ist (z. B. $R = 0,5$), um eine chromatographische Trennung sicherzustellen, die Mindestqualitätskriterien erfüllt

BEISPIEL In Abbildung 1 ist ein Beispiel eines Chromatogramms von einem kritischen Paar dargestellt.



$$R = 2 \cdot \frac{\Delta t}{Y_a + Y_b} \quad (1)$$

Dabei ist

- R die Signalauflösung;
- Δt die Differenz zwischen den Retentionszeiten der beiden Peaks a und b in Sekunden (s);
- Y_a die Signalbreite an der Basislinie a in Sekunden (s);
- Y_b die Signalbreite an der Basislinie b in Sekunde (s).

Bild 1 — Beispiel eines Chromatogramms eines kritischen Paares

3.2 interner Standard

Verbindung, die der Probe von Beginn des Testverfahrens an in einer bekannten Menge zugesetzt wird, eine analytische Abdeckung während des gesamten Verfahrens ermöglicht und die zur Korrektur von Verlusten während der Probenvorbereitung und der Analyse verwendet wird, indem systemübergreifende Matrixeffekte (z. B. Wiederfindungsraten, Ionisationseffekte, Streuung bei der Detektorantwort des Messinstruments) berücksichtigt werden

Anmerkung 1 zum Begriff: isotopenmarkierter, meist deuterierter PAK oder nativer PAK, der wahrscheinlich nicht in der Probe vorhanden ist.

[QUELLE: EN ISO 21253-2:2019, 3.10]

3.3

Injektionsstandard

Mischung von Standards, die der Probe vor der Injektion in das GC-MS hinzugefügt wird, um Variationen der Empfindlichkeit des Messinstrumentes zu erkennen und die Wiederfindung des internen Standards zu berechnen

[QUELLE: ISO 28540:2011, 3.4]

3.4

Extraktionsstandard

PAK, der wahrscheinlich nicht in den Proben vorliegt und der Probe vor der Analyse zur Überprüfung der Extraktionseffizienz, aber nicht für Quantifizierungszwecke zugesetzt wird

3.5

Sediment

am Grund eines Gewässers abgelagerte Feststoffe sowohl mineralischer als auch organischer Natur

[QUELLE: ISO 5667-12:2017, 3.5]

4 Kurzbeschreibung

Da dieses Dokument für mehrere unterschiedliche Matrices anwendbar ist, sind für verschiedene Schritte (Module) verschiedene Verfahren erlaubt. Welche Module angewendet werden sollten, hängt von der Probe ab. Dieses Dokument enthält eine entsprechende Empfehlung. Es werden Verfahrenskennndaten beschrieben, und es liegt in der Verantwortung der Labore, die dieses Dokument anwenden, aufzuzeigen, dass diese Kriterien erfüllt werden. Die Verwendung von zugegebenen internen Standards ermöglicht eine Überprüfung der Gesamteffizienz einer spezifischen Modulkombination für eine bestimmte Probe. Die Verwendung von interner Standards liefert jedoch nicht notwendigerweise Informationen zu der Gesamteffizienz der Extraktion der matrixgebundenen nativen PAK.

Im Anschluss an die Probenvorbereitung wird die Probe mithilfe eines geeigneten Lösemittels extrahiert.

Der Extrakt wird durch Verdampfung eingeengt. Falls erforderlich, wird nach dem Einengen ein für die jeweilige Matrix geeignetes Aufreinigungsverfahren angewendet, um störende Verbindungen zu entfernen.

Ist für die HPLC-Analyse ein Lösemittelaustausch erforderlich, wird der eingeengte Extrakt in ein geeignetes, weniger flüchtiges, mit Wasser mischbares polares Lösemittel aufgenommen und der unpolare Extraktückstand unter einem leichten Inertgasfluss entfernt.

Der Extrakt wird mittels GC-MS unter Verwendung einer Kapillarsäule mit einer stationären Phase niedriger Polarität oder mittels HPLC-UV-DAD/FLD unter Verwendung einer geeigneten Umkehrphasensäule (Reversed-Phase-Säule) analysiert.

PAK werden mit GC-MS durch Vergleich der relativen Retentionszeiten und der relativen Signalthöhen (oder Signalflächen) in Bezug auf zugesetzte interne Standards identifiziert und quantifiziert. Bei der HPLC werden die entsprechenden Variablen der Extraktionsstandardlösungen verwendet. Die Effizienz des Verfahrens hängt von der Zusammensetzung der zu untersuchenden Matrix ab.

5 Störungen

5.1 Störungen bei Probenahme und Extraktion

Probenbehälter aus Materialien verwenden (vorzugsweise Stahl, Aluminium oder Glas), die die Probe während des Kontakts nicht beeinträchtigen. Kunststoffe und andere organische Materialien bei der Probenahme, Probenlagerung und Extraktion vermeiden. Die Proben vor direkter Sonneneinstrahlung und längerer Lichteinwirkung schützen.

Während der Probenlagerung können infolge einer Adsorption an den Behälterwänden PAK-Verluste auftreten. Der Umfang der Verluste hängt von der Lagerungszeit ab.

5.2 Störungen bei der GC-MS

Substanzen, die mit den gesuchten PAK koeluieren, können die PAK-Bestimmung stören. Diese Störungen können zu unvollständig aufgelösten Signalen führen und je nach Ausmaß die Genauigkeit und Präzision der Analysenergebnisse beeinflussen. Eine Signalüberlappung lässt keine Auswertung der Ergebnisse zu. Asymmetrische Signale und Signale, die breiter als die entsprechenden Signale der Referenzsubstanzen sind, deuten auf Interferenzen hin.

Die chromatographische Trennung von Dibenz[*a,h*]anthracen und Indeno[1,2,3-*cd*]pyren ist zumeist kritisch. Aufgrund deren unterschiedlicher molekularer Massen kann eine Quantifizierung mittels massenselektiver Detektion vorgenommen werden. Tritt eine unvollständige Auflösung auf, muss die Signalintegration geprüft und erforderlichenfalls korrigiert werden.

Als Qualitätskriterium für die Kapillarsäule muss eine ausreichende Auflösung (z. B. 0,8) zwischen den Peaks von Benzo[*b*]fluoranthen und Benzo[*k*]fluoranthen sowie von Benzo[*a*]pyren und Benzo[*e*]pyren festgelegt werden. Benzo[*b*]fluoranthen und Benzo[*j*]fluoranthen können nicht getrennt werden. Es kann vorkommen, dass das Signal von Triphenylen nicht vollständig von den Signalen von Benz[*a*]anthracen und Chrysen getrennt ist. Ist dies der Fall, muss es im Bericht angegeben werden.

5.3 Störungen bei der HPLC

Substanzen, bei denen Fluoreszenz oder Quenching (Löschung der Fluoreszenz) zu beobachten ist und die mit den zu bestimmenden PAK koeluieren, können die Bestimmung stören. Diese Störungen können unvollständig aufgelöste Signale nach sich ziehen und je nach Ausmaß die Genauigkeit und Präzision der Analysenergebnisse beeinflussen. Eine Signalüberlappung lässt keine Auswertung der Ergebnisse zu. Asymmetrische Signale und Signale, die breiter als die entsprechenden Signale der Referenzsubstanzen sind, deuten auf Interferenzen hin. Dieses Problem kann bei Naphthalen und Phenanthren in Abhängigkeit von der Selektivität der verwendeten Phasen auftreten.

Ein unvollständiges Entfernen der für die Probenextraktion und -reinigung verwendeten Lösemittel kann, insbesondere bei 2- und 3-Ring-PAK, zu einer geringen Reproduzierbarkeit der Retentionszeiten und breiteren oder doppelten Signalen führen. Bei der HPLC-Analyse müssen die Extrakte in ausreichendem Maß mit Acetonitril verdünnt werden, um Störungen bei der Bestimmung von Naphthalen und 3-Ring-PAK durch ein breites Toluol-Signal zu vermeiden.

Üblicherweise wird das Signal von Perylen nicht vollständig vom Signal von Benzo[*b*]fluoranthen getrennt, das Perylen-Signal kann jedoch durch die Auswahl einer selektiven Wellenlänge unterdrückt werden.

6 Sicherheitshinweise

Einige PAK sind hochkarzinogen und müssen mit äußerster Vorsicht gehandhabt werden. Den Kontakt mit Feststoffen, Lösemittlextrakten und PAK-Standardlösungen vermeiden. Es wird dringend empfohlen, die Standardlösungen zentral in entsprechend ausgestatteten Laboren herzustellen oder von Lieferanten zu beziehen, die auf deren Herstellung spezialisiert sind.

Eine PAK-Kontaminierung von Behältern kann durch Bestrahlung mit 366-nm-UV-Licht festgestellt werden.

Lösemittellösungen, die PAK enthalten, müssen auf eine für die Entsorgung von giftigen Abfällen zulässige Art und Weise entsorgt werden.

Aufgrund der neurotoxischen Eigenschaften von Hexan müssen beim Umgang mit diesem Lösemittel geeignete Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden.

Die nationalen Gesetze und Vorschriften sollten hinsichtlich aller mit diesem Verfahren verbundenen Gefährdungen befolgt werden.

7 Reagenzien

7.1 Allgemeines

Alle Reagenzien müssen von anerkannter Analysenreinheit sein. Die Reinheit der verwendeten Reagenzien muss mittels einer Blindwertbestimmung nach 10.1 überprüft werden. Der Blindwert muss weniger als 50 % der niedrigsten Anwendungsgrenze betragen.

7.2 Reagenzien für die Extraktion

7.2.1 Aceton, (Propan-2-on), $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$.

7.2.2 Toluol, C_7H_8 .

7.2.3 Petrolether, Siedebereich 40 °C bis 60 °C.

Hexan-ähnliche Lösemittel mit einem Siedebereich zwischen 40 °C und 98 °C sind zulässig.

7.2.4 Natriumsulfat, Na_2SO_4 .

Das wasserfreie Natriumsulfat muss sorgfältig verschlossen aufbewahrt werden.

7.2.5 Destilliertes Wasser oder Wasser gleichwertiger Qualität, H_2O .

7.2.6 Natriumchlorid, NaCl .

7.2.7 Keeper-Substanz (Hochsiedende Verbindung, z. B. Octan, Nonan).

7.3 Reagenzien für die Aufreinigung

7.3.1 Aufreinigungsverfahren A mit Aluminiumoxid

7.3.1.1 Aluminiumoxid, Al_2O_3 .

Basisch oder neutral, spezifische Oberfläche 200 m²/g, Aktivität Super I [9].

7.3.1.2 Deaktiviertes Aluminiumoxid

Deaktiviert mit etwa 100 g/kg Wasser.

Etwa 10 g Wasser (7.2.5) in 90 g Aluminiumoxid (7.3.1.1) geben. Schütteln, bis alle Klumpen aufgelöst sind. Das Aluminiumoxid vor der Verwendung luftdicht verschlossen etwa 16 h den Gleichgewichtszustand erreichen lassen und höchstens zwei Wochen verwenden.

Die Aktivität hängt vom Wassergehalt ab. Es kann erforderlich sein, den Wassergehalt anzupassen.

ANMERKUNG Es können auch handelsübliche Aluminiumoxide mit einem Wassergehalt von 100 g/kg verwendet werden.

7.3.2 Reinigungsverfahren B mit Kieselgel 60 für Säulenchromatographie

7.3.2.1 Kieselgel 60, Korngröße 63 µm bis 200 µm.

7.3.2.2 Kieselgel 60, Wassergehalt (Massenanteil): $w(\text{H}_2\text{O}) = 10 \%$.

Kieselgel 60 (7.3.2.1), mindestens 3 h auf 450 °C erhitzt, abgekühlt und in einem Exsikkator gelagert, der Magnesiumperchlorat oder ein geeignetes Trockenmittel enthält. Vor der Verwendung mindestens 5 h bei 130 °C in einem Trockenschrank erhitzen. Anschließend in einem Exsikkator abkühlen lassen. Das Kieselgel in einen verschließbaren Kolben überführen und 10 % Wasser (7.2.5) (Massenanteil) hinzugeben. Den Kolben 5 min intensiv schütteln, bis alle Klumpen gelöst sind, und anschließend 2 h auf einer Schüttelvorrichtung (8.1.3) schütteln. Das deaktivierte Kieselgel unter Luftausschluss lagern und höchstens zwei Wochen verwenden.

7.3.3 Reinigungsverfahren C mit Gelpermeationschromatographie (GPC)

7.3.3.1 Bio-Beads® S-X3 ¹.

7.3.3.2 Ethylacetat (Essigsäureethylester), $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$.

7.3.3.3 Cyclohexan, C_6H_{12} .

Vorbereitung für die GPC, z. B.: 50 g Bio-Beads® S-X3 (7.3.3.1) in einen 500-ml-Erlenmeyerkolben geben und 300 ml Elutionsgemisch aus Cyclohexan (7.3.3.3) und Ethylacetat (7.3.3.2) mit einem Mischungsverhältnis von 1 : 1 (Volumenanteil) hinzufügen, um ein Aufquellen der Perlen zu ermöglichen. Den Kolbeninhalt kurz umrühren, bis keine Klumpen mehr vorhanden sind. Anschließend den Kolben 24 h verschlossen lagern. Den dünnflüssigen Brei in die GPC-Chromatographiesäule füllen. Nach etwa drei Tagen die Druckstempel der Säule so eindrücken, dass eine Füllhöhe von etwa 35 cm erreicht wird. Um das Gel weiter zu komprimieren, etwa 2 l Elutionsgemisch mit einer Durchflussrate von $5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ durch die Säule pumpen und die Druckstempel so eindrücken, dass eine Füllhöhe von etwa 33 cm erreicht wird.

¹ Bio-Beads® ist ein Beispiel für ein geeignetes handelsübliches Produkt. Diese Angabe dient lediglich zur Unterrichtung der Anwender dieser Europäischen Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN. Gleichwertige Produkte können eingesetzt werden, wenn nachgewiesen werden kann, dass sie zu den gleichen Ergebnissen führen.

7.4 Reagenzien für die chromatographische Analyse

7.4.1 GC-Analyse

7.4.1.1 Trägergas für die GC-MS

Betriebsgase mit einem hohen Reinheitsgrad, die den Anforderungen des Geräteherstellers entsprechen.

7.4.2 HPLC-Analyse

7.4.2.1 Acetonitril (CH₃CN) oder Methanol (CH₃OH), HPLC-Reinheitsgrad.

7.4.2.2 Reinstwasser, HPLC-Reinheitsgrad.

7.4.2.3 Helium, He, mit geeignetem Reinheitsgrad für die Entgasung von Lösemitteln.

7.5 Standards

7.5.1 Allgemeines

Interne Standards und/oder Extraktionsstandards auswählen, die ähnliche physikalische und chemische Eigenschaften (wie z. B. Extraktionsverhalten, Retentionszeit) aufweisen wie die zu analysierenden Verbindungen. Bei der GC-MS müssen mindestens vier deuterierte interne Standards als interne Standards für die Bewertung der Ergebnisse verwendet werden.

7.5.2 Kalibriersubstanzen und interne Standards

In Tabelle 3 sind native und deuterierte PAK zur Verwendung bei der Kalibrierung aufgeführt. Die Stabilität der internen Standards ist regelmäßig zu prüfen.

Tabelle 3 — Native PAK und deuterierte PAK

PAK-Referenzsubstanzen		Substanzen interner Standards (deuterierte PAK)	
Naphthalen	(CAS-RN 91-20-3)	Naphthalen-d8	(CAS-RN 1146-65-2)
Acenaphthen	(CAS-RN 83-32-9)	Acenaphthen-d10	(CAS-RN 15067-26-2)
Acenaphthylen	(CAS-RN 208-96-8)	Acenaphthylen-d8	(CAS-RN 93951-97-4)
Fluoren	(CAS-RN 86-73-7)	Fluoren-d10	(CAS-RN 81103-79-9)
Anthracen	(CAS-RN 120-12-7)	Anthracen-d10	(CAS-RN 1719-06-8)
Phenanthren	(CAS-RN 85-01-8)	Phenanthren-d10	(CAS-RN 1517-22-2)
Fluoranthren	(CAS-RN 206-44-0)	Fluoranthren-d10	(CAS-RN 93951-69-0)
Pyren	(CAS-RN 129-00-0)	Pyren-d10	(CAS-RN 1718-52-1)
Benz[a]anthracen	(CAS-RN 56-55-3)	Benz[a]anthracen-d12	(CAS-RN 1718-53-2)
Chrysen	(CAS-RN 218-01-9)	Chrysen-d12	(CAS-RN 1719-03-5)
Benzo[b]fluoranthren	(CAS-RN 205-99-2)	Benzo[b]fluoranthren-d12	(CAS-RN 93951-98-5)
Benzo[k]fluoranthren	(CAS-RN 207-08-9)	Benzo[k]fluoranthren-d12	(CAS-RN 93952-01-3)
Benzo[j]fluoranthren ^a	(CAS-RN 205-82-3)		
Benzo[a]pyren	(CAS-RN 50-32-8)	Benzo[a]pyren-d12	(CAS-RN 63466-71-7)

PAK-Referenzsubstanzen		Substanzen interner Standards (deuterierte PAK)	
Benzo[e]pyren ^a	(CAS-RN 192-97-2)		
Indeno[1,2,3-cd]pyren	(CAS-RN 193-39-5)	Indeno[1,2,3-cd]pyren-d12	(CAS-RN 203578-33-0)
Dibenz[a,h]anthracen	(CAS-RN 53-70-3)	Dibenz[a,h]anthracen-d14	(CAS-RN 13250-98-1)
Benzo[ghi]perylene	(CAS-RN 191-24-2)	Benzo[ghi]perylene-d12	(CAS-RN 93951-66-7)
^a Gehört nicht zu den 16 Zielanalyten, ist jedoch zur Überprüfung der Auflösung anhand der Abtrennung von Benzo[a]pyren bei den GC-Messungen anwendbar.			

ANMERKUNG 1 Es können auch ¹³C₁₂-markierte PAK-Standards als interne Standards verwendet werden.

ANMERKUNG 2 Zertifizierte PAK-Lösungen und feste PAK-Einzelsubstanzen mit zertifizierter Reinheit sind bei einer begrenzten Anzahl von Lieferanten erhältlich.

Bei der Analyse von stark kontaminierten Proben wird oft ein Aliquot des Extrakts für die weitere Aufreinigung verwendet. Dadurch werden die Kosten für die Analysen aufgrund der Verwendung eines deuterierten Standards sehr hoch. In diesen Fällen ist eine Zugabe des internen Standards in zwei Schritten zulässig. In Schritt 1 werden die nicht markierten internen Standards zu der Probe gegeben. In Schritt 2 werden die deuterierten Verbindungen zu dem Aliquot des Extrakts gegeben, das für die Aufreinigung verwendet wird.

Bei der HPLC können 6-Methylchrysen, 1-Methylnaphthalen oder andere alkylierte PAK, die nicht in der Probe vorhanden sind und die in ausreichendem Maß von den gesuchten PAK getrennt sind, als interner Standard oder Extraktionsstandard verwendet werden.

7.5.3 Injektionsstandard

Falls für die GC-MS erforderlich, kann dem Endextrakt vor der GC-MS-Injektion ein deuterierter PAK, wie z. B. 1-Methylnaphthalen-d10, Triphenylen-d12 oder Perylen-d12, zugesetzt werden, um die Wiederfindungsrate der deuterierten internen Standards zu überprüfen.

7.6 Herstellung der Standardlösungen

7.6.1 Allgemeines

Das Verfahren bei der Herstellung der Standardlösungen für GC-MS und HPLC ist das gleiche, es werden nur unterschiedliche Lösemittel verwendet.

Aufgrund der Gefährlichkeit der zu verwendenden Substanzen werden handelsübliche – vorzugsweise zertifizierte – Standardlösungen oder Standardlösungsgemische bevorzugt. Es wird dringend empfohlen, Hautkontakt zu vermeiden.

Die Arbeitsstandardlösungen müssen im gleichen Lösemittel wie der Extrakt vorliegen.

Die Stamm- und die verdünnte Standardlösung an einem dunklen Ort bei einer Temperatur von (5 ± 3) °C lagern. Die Lösungen sind mindestens ein Jahr lang stabil, sofern die Verdampfung des Lösemittels vernachlässigbar ist.

Die zu analysierenden PAK in den Standardlösungsgemischen sollten durch die verwendeten Chromatographiesäulen getrennt werden (siehe 3.1, 5.2, 5.3).

7.6.2 Herstellung der Kalibrierstandardlösungen für die GC-MS

Verschiedene konzentrierte Stammlösungen mit einer Konzentration von etwa 0,4 mg/ml in hexanähnlichem Lösemittel (7.2.3) herstellen. Dazu von jedem Kalibrierstandard (7.5.2, Tabelle 3, linke Spalte) etwa 10 mg mit einer Messunsicherheit von 0,1 mg einwiegen und in 25 ml hexanähnlichem Lösemittel auflösen.

Kleine Mengen (2 ml bis 10 ml) dieser Stammlösungen zu einem PAK-Standardlösungsgemisch zusammenführen.

7.6.3 Herstellung der internen Standardlösung für die GC-MS

Eine konzentrierte interne Stammlösung, die mindestens vier verschiedene Komponenten (7.5.2, Tabelle 3, rechte Spalte) enthält, mit einer Konzentration von etwa 0,4 mg/ml in einem der für die Extraktion verwendeten Lösemittel (die geeigneten Lösemittel sind in Tabelle 4 festgelegt) herstellen. Dazu etwa 10 mg jedes ausgewählten internen Standards mit einer Messunsicherheit von 0,1 mg einwiegen und in 25 ml Extraktionsmittel oder hexanähnlichem Lösemittel auflösen. Daraus eine sekundäre interne Standardlösung herstellen, die so konzentriert ist, dass die hinzugefügte Menge ein Signal mit einer messbaren Signalfäche oder Signalhöhe im Chromatogramm (mindestens das 10-Fache der Nachweisgrenze) erzeugt.

Falls für die GC-MS das zweistufige Verfahren angewendet wird, zwei verschiedene interne Standardlösungen herstellen, von denen eine die nicht markierten Komponenten enthält. Für die erste interne Standardlösung müssen mindestens zwei nicht markierte Verbindungen verwendet werden und für die zweite Lösung mindestens vier deuterierte Verbindungen.

7.6.4 Herstellung der Injektionsstandardlösung für die GC-MS

Eine konzentrierte Injektionsstammlösung, die mindestens eine Verbindung (7.5.3) enthält, wird mit einer Konzentration von etwa 0,4 mg/ml in einem geeigneten Lösemittel, welches auch für den Extrakt verwendet wird, hergestellt. Dazu etwa 10 mg des ausgewählten Injektionsstandards mit einer Messunsicherheit von 0,1 mg einwiegen und in 25 ml auflösen. Daraus eine sekundäre Injektionslösung herstellen, die so konzentriert ist, dass die hinzugefügte Menge ein Signal mit einer messbaren Signalfäche oder Signalhöhe im Chromatogramm (mindestens das 10-Fache der Nachweisgrenze) erzeugt.

7.6.5 Herstellung der Kalibrierstandardlösungen für die HPLC

Verschiedene konzentrierte Stammlösungen mit einer Konzentration von etwa 0,4 mg/ml in Acetonitril (7.4.2.1) herstellen. Dazu von jedem Kalibrierstandard (7.5.2, Tabelle 3, linke Spalte) etwa 10 mg mit einer Messunsicherheit von 0,1 mg einwiegen und in 25 ml Acetonitril auflösen.

Kleine Mengen (2 ml bis 10 ml) dieser Stammlösungen zu einem PAK-Standardlösungsgemisch zusammenführen.

7.6.6 Herstellung der Extraktionsstandardlösung für die HPLC

Eine konzentrierte Extraktionsstammlösung, die einen oder mehrere alkylierte PAK (z. B. 6-Methylchrysen, 1-Methylnaphthalen) enthält, mit einer Konzentration von etwa 0,4 mg/ml in Acetonitril (7.4.2.1) herstellen. Dazu etwa 10 mg jedes ausgewählten Standards mit einer Messunsicherheit von 0,1 mg einwiegen und in 25 ml Acetonitril auflösen. Daraus eine sekundäre Extraktionsstandardlösung herstellen, die so konzentriert ist, dass die hinzugefügte Menge ein Signal mit einer messbaren Signalfäche oder Signalhöhe im Chromatogramm (mindestens das 10-Fache der Nachweisgrenze) erzeugt.