

DIN EN 16181

ICS 13.030.20

Einsprüche bis 2011-01-22

Entwurf

**Schlamm, behandelter Bioabfall und Boden –
Bestimmung von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen
(PAK) mittels Gaschromatographie (GC) und
Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC);
Deutsche Fassung prEN 16181:2010**

Sludge, treated biowaste and soil –

Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) by gas chromatography (GC) and high performance liquid chromatography (HPLC);

German version prEN 16181:2010

Boue, biodéchet traité et sol –

Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) par chromatographie en phase gazeuse et chromatographie liquide à haute performance;

Version allemande prEN 16181:2010

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2010-11-22 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfes besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise als Datei per E-Mail an naw@din.de in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/stellungnahme oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder online im Norm-Entwurfs-Portal des DIN unter www.entwuerfe.din.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder in Papierform an den Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN, 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin).

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 45 Seiten

Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 16181:2010) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 400 „Projekt-Komitee — Horizontale Normen in den Bereichen Schlamm, Bioabfall und Boden“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN, Deutschland gehalten wird.

Das zuständige deutsche Gremium ist der NA 119-01-02-02 UA „Chemische und physikalische Verfahren“ im Normenausschuss Wasserwesen (NAW).

Für die in diesem Dokument zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

ISO 5725-2	siehe DIN ISO 5725-2
ISO 18287	siehe DIN ISO 18287
ISO 22892	siehe DIN ISO 22892

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

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

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

Boue, biodéchet traité et sol — Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) par chromatographie en phase gazeuse et chromatographie liquide à haute performance

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

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokument-Stage: CEN-Umfrage
Dokument-Sprache: D

Inhalt

	Seite
Vorwort	4
Einleitung.....	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Grundlage des Verfahrens	8
5 Störungen	8
5.1 Störungen bei Probenahme und Extraktion	8
5.2 Störungen bei GC-MS.....	9
5.3 Störungen bei HPLC.....	9
6 Sicherheitshinweise	9
7 Reagenzien	10
7.1 Allgemeines.....	10
7.2 Reagenzien für Extraktionsverfahren.....	10
7.3 Reagenzien für Reinigungsverfahren.....	10
7.4 Reagenzien für chromatographische Analyse	12
7.4.1 Gaschromatographische Analyse.....	12
7.4.2 HPLC-Analyse	12
7.5 Standards	12
7.5.1 Referenzsubstanzen, interne Standards	12
7.5.2 Injektionsstandard	13
7.6 Herstellung der Standardlösungen.....	13
7.6.1 Allgemeines.....	13
7.6.2 Standardlösungen für die HPLC-Analyse	13
7.6.3 Standardlösungen für die GC-MS-Analyse	14
7.6.4 Kalibrierstandardlösungen	14
7.7 Herstellung der Lösungen von internen Standards.....	14
7.8 Herstellung der Lösung von Injektionsstandard.....	15
8 Geräte.....	15
8.1 Extraktions- und Reinigungsverfahren	15
8.2 Gaschromatograph.....	16
8.3 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatograph	16
9 Probenlagerung und Probenkonservierung	16
9.1 Probenlagerung	16
9.2 Probenkonservierung und -vorbehandlung.....	16
10 Durchführung.....	17
10.1 Blindwertbestimmung	17
10.2 Extraktion	17
10.2.1 Allgemeines.....	17
10.2.2 Extraktionsverfahren 1: Proben, die eine Extraktion mittels Aceton/Petrolether und Schütteln erfordern	18
10.2.3 Extraktionsverfahren 2: Trockene Proben, die eine Soxhlet-Extraktion erfordern	19
10.2.4 Extraktionsverfahren 3: Feuchte Proben, die eine Extraktion mittels Aceton/Petrolether/Natriumchlorid und Schütteln erfordern.....	19
10.3 Einengen oder Verdünnen	20
10.3.1 Allgemeines.....	20
10.3.2 Für die HPLC-Analyse	20
10.4 Reinigen des Extrakts (Clean-up)	20
10.4.1 Allgemeines.....	20

	Seite
10.4.2 Reinigungsverfahren A — Aluminiumoxid	21
10.4.3 Reinigungsverfahren B — Silicagel.....	22
10.4.4 Reinigungsverfahren C — Gelpermeationschromatographie (Styren-Divinylbenzen-Harz)	22
10.4.5 Reinigungsverfahren D — DMF/Cyclohexan-Verteilung zur Entfernung aliphatischer Kohlenwasserstoffe	22
10.5 Zugabe des Injektionsstandards	23
10.6 Gaschromatographische Analyse (GC)	23
10.6.1 Gaschromatographische Analyse mit massenspektrometrischer Detektion	23
10.6.2 Kalibrierung des Verfahrens unter Anwendung des internen Standards	24
10.6.3 Messung	25
10.6.4 Identifizierung	25
10.6.5 Überprüfung der Verfahrensleistung	25
10.6.6 Berechnung.....	26
10.7 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC).....	27
10.7.1 Allgemeines	27
10.7.2 Chromatographische Trennung.....	27
10.7.3 Detektion	27
10.7.4 Kalibrierung	28
10.7.5 Messungen an Proben	29
10.7.6 Berechnung.....	29
11 Verfahrenskennndaten.....	30
12 Präzision.....	30
13 Prüfbericht	30
Anhang A (informativ) Beispiel für Instrumenteneinstellungen und Chromatogramme.....	31
A.1 Messung von PAK mit GC-MS	31
A.2 Messung von PAK mit HPLC-Fluoreszenz.....	37
Anhang B (informativ) Daten für die Wiederhol- und Vergleichpräzision	40
B.1 Im Ringversuch eingesetzte Materialien	40
B.2 Ergebnisse des Ringversuches	40
Literaturhinweise	43

Vorwort

Dieses Dokument (prEN 16181:2010) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 400 „Projekt-Komitee – Horizontale Normen in den Bereichen Schlamm, Bioabfall und Boden“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Diese Europäische Norm ist Teil eines modularen, horizontalen Ansatzes, wobei das vorliegende Dokument den analytischen Verfahren zuzuordnen ist.

Die Erarbeitung dieses Dokuments durch CEN erfolgt auf der Grundlage eines Mandats (Mandat M/330) der Europäischen Union, das die Erstellung von Normen zur Probenahme und zu analytischen Verfahren für hygienische und biologische sowie für anorganische und organische Parameter umfasst, mit dem Ziel, diese Normen für Schlamm, behandelten Bioabfall und Boden anwendbar zu machen, soweit dies technisch umsetzbar ist.

Bislang wurden die Prüfverfahren zur Bestimmung von Materialeigenschaften im Umweltbereich in den Technischen Komitees (TCs), die für die einzelnen Produkte oder Materialien (z. B. Boden, Abfall, Schlamm) zuständig sind, erstellt. Es wurde jedoch festgestellt, dass einzelne Schritte von Prüfverfahren auch für die Analyse verschiedener anderer Materialien angewendet werden können. Durch sorgfältige Ausarbeitung solcher Schritte und die Auswahl besonderer Fragen innerhalb dieser Schritte können Bestandteile der Prüfverfahren in einer Weise festgelegt werden, die die Anwendung auf weitere Matrices und Materialien innerhalb bestimmter Grenzen zulässt. Diese Optimierung erfolgt gemeinsam mit den Anwendern von Normen. Die Mehrzahl von Routineuntersuchungen im Umweltbereich erfolgt durch Institutionen und Laboratorien, deren Arbeitsfeld nicht auf eine Umweltmatrix beschränkt ist, sondern eine große Matrixvielfalt umfasst. Die Verfügbarkeit von Normen, die mehrere Matrices abdecken, trägt zur Optimierung von Arbeitsabläufen in Laboratorien und von laufenden Kosten, z. B. für die Akkreditierung und Anerkennung, bei.

Im Projekt „Horizontal“ wurde ein horizontaler, modularer Ansatz entwickelt. „Modular“ bedeutet, dass eine nach diesem Ansatz erstellte Prüfnorm für eine bestimmte Stufe bei der Bewertung einer Eigenschaft und nicht für die gesamte „Messkette“ (von der Probenahme bis zu den einzelnen Analysen) zutrifft. Ein Vorteil dieser Herangehensweise ist, dass einzelne „Module“ durch geeignetere Module ersetzt werden können, ohne dass die gesamte genormte „Kette“ ungültig wird.

Die Ergebnisse der Literaturstudien sowie die Bewertungs- und Validierungsuntersuchungen waren Gegenstand der Beratung mit allen im Rahmen der CEN-Struktur Beteiligten während der Entwicklung im Projekt „Horizontal“. Die Ergebnisse dieser Konsultationen mit den interessierten Kreisen im Rahmen der CEN-Struktur wurden im CEN/TC 400 dargestellt und beraten.

Aufgrund der Daten aus Laborvergleichsuntersuchungen und Konsultationen mit den interessierten Kreisen innerhalb der CEN-Mitgliedsorganisationen wurde befunden, dass dieser Norm-Entwurf prEN 16181 für die Anwendung geeignet ist und die CEN-Umfrage eingeleitet werden kann.

Es wird anerkannt, dass die Normung im Umweltbereich in den meisten nationalen Normungsorganisationen (NSB) in nationalen Normungsgremien erfolgt, die die vertikale Struktur der technischen Komitees im Umweltsektor in CEN widerspiegeln. Im Rahmen dieser CEN-Umfrage werden die NSBs besonders gebeten, sicherzustellen, dass die relevanten und interessierten Kreise berücksichtigt werden, d. h. eine konsolidierte Antwort des NSB auf diesen Norm-Entwurf prEN 16181 zum gesamten Anwendungsbereich dieses Norm-Entwurfs abgegeben wird.

Einleitung

Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) sind ubiquitär aufgrund der Tatsache, dass diese 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 deren Vorhandensein in der Umwelt (Luft, Wasser, Boden, Sediment und Abfall) regelmäßig überwacht. Derzeit wird die Bestimmung von PAK in diesen Matrices in den meisten Routinelaboratorien im Anschluss an die vorangehenden Schritte wie Probenahme, Probenvorbehandlung, Extraktion und Reinigung mithilfe der Messung von bestimmten PAK unter Anwendung der Gaschromatographie mit massenspektrometrischer Detektion (GC-MS) oder der Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) mit UV-DAD- oder Fluoreszenzdetektion (HPLC-UV-DAD/FLD) durchgeführt. Deshalb sind diese beiden Verfahren in die vorliegende horizontale Norm einbezogen.

Es muss hervorgehoben werden, dass das Zielkontaminationsniveau von PAK im Bereich von etwa 0,01 mg/kg bei einzelnen PAK (Kulturboden und Sediment) bis etwa 200 mg/kg und höher (z. B. kontaminierter Boden um Kokereien oder Abfall) liegen kann. Die Anwendung von internen Standards und Injektionsstandards wird zwecks interner Überprüfung des gewählten Extraktions- und Reinigungsverfahrens beschrieben. Das Verfahren stimmt weitgehend mit dem für PCB beschriebenen Verfahren überein (siehe prEN 16167).

Diese Europäische Norm ist das Ergebnis einer Literaturstudie „Horizontale Europäische Norm zur Bestimmung von PAK in Schlamm, Boden und Bioabfall“ innerhalb des Projekts „Horizontal“ und hat das Ziel, die neuesten Verfahren zur Bestimmung von PAK in Schlamm, Boden, behandeltem Bioabfall und benachbarten Bereichen zu bewerten. Nach einer zu Bewertungszwecken durchgeführten Untersuchung, bei der die Robustheit des Verfahrens überprüft wurde, erfolgte eine Validierung des Norm-Entwurfs. Die Ergebnisse der Literaturstudien sowie der Untersuchungen zur Bewertung und Validierung wurden mit allen betroffenen Parteien innerhalb des CEN diskutiert.

Diese Norm ist für verschiedene Arten von Matrices, wie in Tabelle 1 angegeben, validiert (siehe auch Anhang B für die Ergebnisse der Validierung).

Tabelle 1 — Matrices, für die diese Europäische Norm (anwendbar und) validiert ist

Matrix	Validiert für
Schlamm	Kommunaler Klärschlamm
Bioabfall	Frischer Kompost

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.

WICHTIG — Es ist unbedingt notwendig, dass Untersuchungen nach dieser Europäischen Norm von entsprechend ausgebildetem Personal durchgeführt werden.

1 Anwendungsbereich

Die vorliegende Europäische Norm legt die quantitative Bestimmung von 16 polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) (siehe Tabelle 2) in Schlamm und behandeltem Bioabfall unter Anwendung der GC/MS und HPLC-UV-DAD/FLD fest, wobei ein breiter Bereich von PAK-Kontaminationsniveaus (siehe auch Anhang A) abgedeckt wird.

Bei Anwendung der Fluoreszenzdetektion kann Acenaphthylen nicht gemessen werden.

Tabelle 2 — Nach dieser Europäischen Norm analysierbare polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe

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
Benzo(a)anthracen	56-55-3
Chrysen	218-01-9
Benzo(b)fluoranthren	205-99-2
Benzo(k)fluoranthren	207-08-9
Benzo(a)pyren	50-32-8
Indeno(1,2,3-c,d)pyren	193-39-5
Dibenzo(a,h)anthracen	53-70-3
Benzo(g,h,i)perylene	191-24-2
^a Chemical Abstracts Service Registrier-Nummer	

Die Nachweisgrenze hängt von den zu bestimmenden Substanzen, den verwendeten Geräten, der Qualität der für die Extraktion verwendeten Chemikalien und der Reinigung des Extrakts ab.

Üblicherweise kann für jeden einzelnen PAK eine untere Anwendbarkeitsgrenze von 0,01 mg/kg (angegeben als Trockenmasse) sichergestellt werden. Diese ist geräte- und probenabhängig.

Schlamm und behandelter Bioabfall können sich in ihren Eigenschaften sowie in den erwarteten Kontaminationsniveaus von PAK und bei der Anwesenheit von störenden Substanzen unterscheiden. Aufgrund dieser Unterschiede ist es unmöglich, ein allgemeines Verfahren zu erarbeiten. Die vorliegende Europäische Norm enthält Entscheidungstabellen, die auf den Probeneigenschaften und den anzuwendenden Extraktions- und Reinigungsverfahren basieren. Es werden zwei allgemeine Extraktionsverfahren angewendet – das Schüttelverfahren oder die Soxhlet-/Hochdruck-Flüssigextraktion.

ANMERKUNG Mit diesem Verfahren können auch weitere PAK-Verbindungen analysiert werden, sofern die Eignung des Verfahrens nachgewiesen ist.

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).

EN 15308, *Charakterisierung von Abfällen — Bestimmung ausgewählter polychlorierter Biphenyle (PCB) in festem Abfall unter Anwendung der Kapillar-Gaschromatographie mit Elektroneneinfang-Detektion oder massenspektrometrischer Detektion*

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

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

ISO 22892, *Soil quality — Guidelines for the identification of target compounds by gas chromatography and mass spectrometry*

ISO 8466-1, *Water quality — Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics — Part 1: Statistical evaluation of the linear calibration function*

prEN 15934, *Schlamm, behandelter Bioabfall und Boden — Berechnung der Trockenmasse durch Bestimmung des Trockenrückstandes oder des Wassergehalts*

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

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

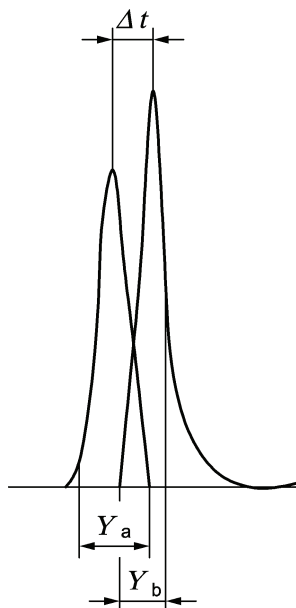
3.1

kritisches Paar

Congener-Paar, das bis zu einem festgelegten Grade aufgetrennt werden muss (z. B. $R = 0,5$) um sicherzustellen, dass die chromatographische Trennung die Mindestqualitätskriterien erfüllt

[EN 15308:2008]

ANMERKUNG siehe Bild 1.



Legende

Δt ist die Differenz der Retentionszeiten von zwei Peaks a and b in Sekunden (s)

Y_a ist die Peakbreite an der Basis des Peaks a in Sekunden (s)

Y_b ist die Peakbreite an der Basis des Peaks b in Sekunden (s)

Bild 1 — Beispiel eines Chromatogramms eines kritischen Paares

4 Grundlage des Verfahrens

Nach der Vorbehandlung zur Verminderung des Feuchtegehaltes und zur Erhöhung der Homogenität (siehe 9.2), wird die Prüfprobe mit einem Lösemittel extrahiert.

Der Extrakt wird konzentriert und die Störverbindungen werden mit einem für die jeweilige Matrix geeigneten Reinigungsverfahren entfernt. Das Eluat wird konzentriert. Bei der HPLC-Analyse wird das konzentrierte Eluat von einem geeigneten, weniger flüchtigen und mit Wasser mischbaren polaren Lösemittel aufgenommen, wobei die Rückstände am unpolaren Eluat entfernt werden.

Der Extrakt wird durch GC-MS unter Anwendung einer Kapillarsäule mit einer stationären Phase niedriger Polarität oder durch HPLC-UV-DAD/FLD mit einer geeigneten Reversed-Phase-Säule analysiert.

Bei der GC-MS werden PAK identifiziert und quantitativ bestimmt, indem relative Retentionszeiten und relative Peakhöhen (oder Peakflächen) mit denen der zugesetzten internen Standards verglichen werden, bei der HPLC unter Anwendung der entsprechenden Variablen der externen Standardlösungen. Die Effizienz des Verfahrens hängt von der Zusammensetzung der untersuchten Matrix ab.

5 Störungen

5.1 Störungen bei Probenahme und Extraktion

Probenbehälter aus Materialien (vorzugsweise Stahl-, Aluminium- oder Glasbehälter) verwenden, die die Probe, während sie mit dieser in Berührung kommen, nicht verändern. Kunststoffmaterialien und weitere organische Materialien bei der Probenahme, Probenlagerung oder Extraktion vermeiden. Die Proben vor direkter Sonneneinstrahlung und längerer Lichteinwirkung schützen.

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

5.2 Störungen bei GC-MS

Substanzen, die mit dem Ziel-PAK mit eluieren, können die PAK-Bestimmung stören. Diese Störungen können unvollständig aufgelöste Signale nach sich ziehen und, in Abhängigkeit von deren Menge, die Genauigkeit der analytischen Ergebnisse beeinflussen. Eine Peaküberlappung lässt keine Auswertung der Ergebnisse zu. Unsymmetrische Peaks und Peaks, die breiter als die entsprechenden Peaks der Referenzsubstanzen sind, deuten auf Störungen hin.

Die chromatographische Trennung von Dibenzo(a,h)anthracen und Indeno(1,2,3-c,d)pyren ist zumeist kritisch. Dank deren unterschiedlichen molekularen Massen kann eine quantitative Bestimmung mittels massenselektiver Detektion vorgenommen werden. Sollte eine unvollständige Auflösung auftreten, muss die Peakintegration überprüft und, falls erforderlich, korrigiert werden. Als Qualitätskriterium für die Kapillarsäule muss eine ausreichende Auflösung (z. B. 0,8) zwischen den Peaks von Benzo(b)fluoranthren und Benzo(k)-fluoranthren sowie von Benzo(a)pyren und Benzo(e)pyren festgelegt werden. Benzo(b)fluoranthren und Benzo(j)fluoranthren können nicht getrennt werden. Triphenylen kann unter Umständen nicht vollständig von Benzo(a)anthracen und Chrysen getrennt werden. In diesem Fall muss es im Prüfbericht angegeben werden.

5.3 Störungen bei HPLC

Substanzen, bei denen Fluoreszenz oder Quenching zu beobachten ist und die mit den zu bestimmenden PAK mit eluieren, können die PAK-Bestimmung stören. Diese Störungen können unvollständig aufgelöste Signale nach sich ziehen und, in Abhängigkeit von deren Menge, die Genauigkeit der analytischen Ergebnisse beeinflussen. Eine Peaküberlappung lässt keine Auswertung der Ergebnisse zu. Unsymmetrische Peaks und Peaks, die breiter als die entsprechenden Peaks der Referenzsubstanzen sind, deuten auf Störungen hin. Dieses Problem kann sich für Naphthalen und Phenanthren je nach Selektivität der verwendeten Phasen ergeben.

Unvollständige Entfernung der für die Probenextraktion und –reinigung verwendeten Lösemittel (Hexan, Aceton, Dichlormethan) kann zu einer schlechten Reproduzierbarkeit der Retentionszeiten und breiteren oder doppelten Peaks, vor allem bei den 2- und 3-Ring-PAK, führen. Bei der HPLC-Analyse müssen die Extrakte in ausreichendem Maße mit Acetonitril verdünnt werden, anderenfalls kann die Bestimmung von Naphthalen und 3-Ring-PAK durch einen breiten Toluol-Peak gestört werden.

Die Trennung von Dibenzo(a,h)anthracen und Indeno(1,2,3-c,d)pyren kann kritisch sein. Sollte eine unvollständige Auflösung auftreten, muss die Peakintegration überprüft und, falls erforderlich, korrigiert werden.

Üblicherweise wird Perylen nicht vollständig vom Benzo(b)fluoranthren aufgelöst, der Perylen-Peak kann jedoch durch die Wahl einer selektiven Wellenlänge unterdrückt werden.

6 Sicherheitshinweise

Bestimmte PAK sind hochkarzinogen, daher ist ein höchst sorgfältiger Umgang mit diesen Substanzen erforderlich. Es muss vermieden werden, dass Feststoffe, Lösemittelextrakte und PAK-Standardlösungen mit dem Körper in Berührung kommen.

PAK können mit dem Lösemittel mit destilliert werden und außerhalb von mit Stopfen verschlossenen Flaschen gelangen; deshalb müssen alle Behälter mit PAK-Lösungen immer mit lösemittelresistenten, vorzugsweise Einweghandschuhen angefasst werden.

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

Die PAK-Lösungen enthaltenden Behälter sollten in einem Becherglas aufbewahrt werden, um im Fall des Zerbrechens die verschüttete Lösung aufnehmen zu können.

Feste PAK sind äußerst gefährliche Substanzen und können infolge einer elektrostatischen Aufladung von deren Kristallen Stäube bilden. Der Umgang mit diesen Substanzen ist nur unter der Voraussetzung gestattet, dass geeignete Einrichtungen (z. B. entsprechende Abzüge, Schutzbekleidung, Staubschutzmasken) vorhanden sind. Es wird dringend empfohlen, die Standardlösungen zentral in entsprechend ausgestatteten Laboratorien vorzubereiten oder diese von Lieferanten zu beziehen, die auf deren Vorbereitung spezialisiert sind.

Die PAK enthaltenden Lösungen müssen auf die für die Entsorgung von toxischen Abfällen zulässige Art und Weise entsorgt werden.

Beim Umgang mit Hexan müssen wegen dessen neurotoxischen Eigenschaften Sicherheitsvorkehrungen getroffen werden.

Nationale Vorschriften müssen im Hinblick auf sämtliche mit diesem Verfahren verbundenen Gefahren befolgt werden.

7 Reagenzien

7.1 Allgemeines

Alle Reagenzien müssen von anerkannter analytischer Qualität sein. Die Reinheit der verwendeten Reagenzien muss durch eine Blindwertbestimmung nach 10.1 geprüft werden. Der Blindwert muss weniger als 50 % des geforderten Grenzwertes betragen.

7.2 Reagenzien für Extraktionsverfahren

7.2.1 Aceton, C_2H_4O .

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

ANMERKUNG Hexanähnliche Lösemittel mit einem Siedebereich zwischen 30 °C und 68 °C sind zulässig.

7.2.3 Toluol, C_7H_8 .

7.2.4 Natriumsulfat, wasserfrei, 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, $NaCl$, wasserfrei.

7.3 Reagenzien für Reinigungsverfahren

7.3.1 Reinigungsverfahren mit Aluminiumoxid

7.3.1.1 Aluminiumoxid, Al_2O_3

Basisch oder neutral, spezifische Oberfläche 200 m²/g, Aktivität Super I nach Brockmann¹⁾.

1) Aktivitätsskala nach Brockmann: Maß für den Prozentsatz an Wasser, der dem Adsorbens, basierend auf dem Gewichtsverhältnis Wasser/Adsorbens, zugesetzt wurde. Aktivitätsstufe 1 entspricht 0 % zugesetztem Wasser, H. Brockmann und H. Schroder; Ber. Deut. Chem. Ges. 74, 73 (1941)
J. W. Hampson, W. F. Bleam, Thermochimica Acta 288 (1996) 179 189

7.3.1.2 Deaktiviertes Aluminiumoxid

Deaktiviert mit 10 % Wasser.

Zu 90 g Aluminiumoxid (7.3.1.1) 10 g Wasser (7.2.5) hinzufügen. Schütteln, bis alle Klumpen aufgelöst sind. Das Aluminiumoxid vor der Verwendung luftdicht verschlossen etwa 16 h den Gleichgewichtszustand erreichen lassen und höchstens 2 Wochen verwenden.

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

7.3.2 Reinigungsverfahren mit Silicagel 60 für Säulenchromatographie

7.3.2.1 Silicagel 60, Partikelgröße 63 µm bis 200 µm.

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

Silicagel 60, mindestens 3 h auf 450 °C erhitzt und in einem Exsikkator mit Magnesiumperchlorat oder einem anderen geeigneten Trockenmittel abgekühlt und gelagert. Vor der Verwendung mindestens 5 h auf 130 °C in einem Trockenschrank erhitzen. Anschließend in einem Exsikkator abkühlen lassen, das Silicagel in einen Kolben überführen und 10 % Wasser (Masseanteil) hinzufügen. Den Kolben 5 min intensiv per Hand schütteln, bis alle Klumpen gelöst sind, und anschließend 2 h auf einer Schüttelmaschine schütteln. Das deaktivierte Silicagel unter Luftabschluss lagern und höchstens 2 Wochen verwenden.

Silicagel 60 ist längstens 2 Wochen stabil.

7.3.3 Reinigungsverfahren mit Gelpermeationschromatographie (GPC)

7.3.3.1 Bio-Beads^{®2)} S-X3

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

7.3.3.3 Cyclohexan, C_6H_{12} .

7.3.3.4 Kugelförmiges poröses Styren-Divinylbenzen-Harz

Vorbereitung für 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) 1 : 1 (Volumen) zum Quellen der Perlen hinzufügen; nach kurzem Umrühren, bis keine Klumpen mehr vorhanden sind, den Kolben 24 h verschlossen lagern. Den dünnflüssigen Brei in die GPC-Chromatographiesäule füllen. Nach etwa 3 Tagen die Druckstempel der Säule so eindrücken, dass eine Füllhöhe von etwa 35 cm erreicht ist. Um das Gel weiter zu komprimieren, etwa 2 l Elutionsgemisch durch die Säule bei einer Durchflussrate von 5 ml/min durchpumpen und die Druckstempel so eindrücken, dass eine Füllhöhe von etwa 33 cm erreicht ist.

7.3.4 Reinigungsverfahren mit Flüssig/Flüssig-Verteilung DMF/Cyclohexan

7.3.4.1 Dimethylformamid (DMF), $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$.

7.3.4.2 Dimethylformamid/Wasser: 9 : 1.

2) Bio-Beads ist ein Beispiel für ein geeignetes handelsübliches Produkt. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieser Europäischen Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produktes durch CEN.

7.4 Reagenzien für chromatographische Analyse

7.4.1 Gaschromatographische Analyse

Trärgas für die Gaschromatographie-MS: Helium oder Wasserstoff von hoher Reinheit und nach Anforderungen des Herstellers.

7.4.2 HPLC-Analyse

7.4.2.1 Mobile Phase.

7.4.2.2 Acetonitril, CH₃CN oder **Methanol**, CH₃OH, HPLC-Reinheitsgrad.

7.4.2.3 Reinstwasser, HPLC-Reinheitsgrad.

7.4.2.4 Helium, He, von geeigneter Reinheit für die Entgasung von Lösemitteln.

7.5 Standards

7.5.1 Referenzsubstanzen, interne Standards

Die internen Standards wählen, deren physikalische und chemische Eigenschaften (wie Extraktionsverhalten und Retentionszeit) denen der zu analysierenden Substanzen ähnlich sind. Es sollten mindestens fünf markierte interne Standards als interne Standards beim GC-MS-Verfahren für die Beurteilung der Ergebnisse verwendet werden. Die Stabilität der internen Standards ist regelmäßig zu überprüfen. In Tabelle 3 sind native und deuterierte PAK aufgeführt, die für die Kalibrierung der spezifischen Analyte zu verwenden sind.

Tabelle 3 — Native PAK und deuterierte PAK

PAK-Referenzsubstanzen	Interne Standards (deuterierte PAK)
Naphthalen (CAS Nr. 91-20-3)	Naphthalen-D ₈
Acenaphthen (CAS Nr. 83-32-9)	Acenaphthen-D ₁₀
Acenaphthylen (CAS Nr. 208-96-8)	Acenaphthylen-D ₈
Fluoren (CAS Nr. 86-73-7)	Fluoren-D ₁₀
Anthracen (CAS Nr. 120-12-7)	Anthracen-D ₁₀
Phenanthren (CAS Nr. 85-01-8)	Phenanthren-D ₁₀
Fluoranthren (CAS Nr. 206-44-0)	Fluoranthren-D ₁₀
Pyren (CAS Nr. 129-00-0)	Pyren-D ₁₀
Benzo(a)anthracen (CAS Nr. 56-55-3)	Benzo(a)anthracen-D ₁₂
Chrysen (CAS Nr. 218-01-9)	Chrysen-D ₁₂
Benzo(b)fluoranthren (CAS Nr. 205-99-2)	Benzo(b)fluoranthren-D ₁₂
Benzo(k)fluoranthren (CAS Nr. 207-08-9)	Benzo(k)fluoranthren-D ₁₂
Benzo(a)pyren (CAS Nr. 50-32-8)	Benzo(a)pyren-D ₁₂
Benzo(e)pyren ^a (CAS Nr. 192-97-2)	