

DIN EN 16181



ICS 13.030.01; 13.080.10

Entwurf

Einsprüche bis 2017-12-27
Vorgesehen als Ersatz für
DIN CEN/TS 16181
(DIN SPEC 91243):2013-12

**Boden, behandelter Bioabfall und Schlamm –
Bestimmung von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK)
mittels Gaschromatographie (GC) und
Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC);
Deutsche und Englische Fassung prEN 16181:2017**

Soil, treated biowaste and sludge –

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

German and English version prEN 16181:2017

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2017-10-27 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und
Stellungnahme vorgelegt.

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

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an naw@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW), 10772 Berlin, 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 97 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 16181:2017) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 444 „Prüfverfahren für die umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NEN (Niederlande) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitskreis NA 119-01-02-02-05 AK „Organische Analytik“ des Unterausschusses NA 119-01-02-02 UA „Chemische und physikalische Verfahren“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

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

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

Änderungen

Gegenüber DIN CEN/TS 16181 (DIN SPEC 91243):2013-12 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Überarbeitung des Abschnitt 3 „Begriffe“;
- b) die Daten in Anhang A „Daten für die Wiederhol- und Vergleichpräzision“ wurden überarbeitet;
- c) alle Abschnitte wurden redaktionell überarbeitet.

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 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 —

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

Soil, treated biowaste and sludge — 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

STD Version 2.8l

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung	8
5 Störungen	9
5.1 Störungen bei Probenahme und Extraktion	9
5.2 Störungen bei GC-MS	9
5.3 Störungen bei HPLC	9
6 Sicherheitshinweise	10
7 Reagenzien	10
8 Geräte	15
9 Probenlagerung und Probenkonservierung	17
9.1 Probenlagerung	17
9.2 Probenvorbehandlung	17
10 Durchführung	18
10.1 Blindwertbestimmung	18
10.2 Extraktion	18
10.2.1 Allgemeines	18
10.2.2 Extraktionsverfahren 1: Extraktion mittels Aceton/hexanähnlichen Lösemittels und Schütteln	19
10.2.3 Extraktionsverfahren 2: Soxhlet-Extraktion (trockene Proben)	20
10.2.4 Extraktionsverfahren 3: Aceton/Petrolether/Natriumchlorid und Schütteln	20
10.3 Einengen oder Verdünnen	21
10.3.1 Allgemeines	21
10.3.2 Für die HPL-Analyse	21
10.4 Reinigen des Extrakts	21
10.4.1 Allgemeines	21
10.4.2 Reinigungsverfahren A — Aluminiumoxid	22
10.4.3 Reinigungsverfahren B — Kieselgel	23
10.4.4 Reinigungsverfahren C — Gelpermeationschromatographie (Styren-Divinylbenzen-Harz)	23
10.4.5 Reinigungsverfahren D — DMF/Cyclohexan-Verteilung zur Entfernung aliphatischer Kohlenwasserstoffe	23
10.5 Zugabe des Injektionsstandards	24
10.6 Gaschromatographische Analyse (GC)	24
10.6.1 Gaschromatographische Analyse mit massenspektrometrischer Detektion	24
10.6.2 Kalibrierung des Verfahrens unter Anwendung eines internen Standards	25
10.6.3 Messung	26
10.6.4 Identifizierung	26
10.6.5 Prüfung der Verfahrensleistung	26
10.6.6 Berechnung	27

10.7	Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)	28
10.7.1	Allgemeines	28
10.7.2	Chromatographische Trennung	28
10.7.3	Detektion	28
10.7.4	Kalibrierung	29
10.7.5	Messungen an Proben	30
10.7.6	Berechnung	30
11	Verfahrenskennndaten	31
12	Präzision	31
13	Analysenbericht	31
Anhang A (informativ) Daten für die Wiederhol- und Vergleichpräzision		32
A.1	Im Ringversuch verwendete Materialien	32
A.2	Ergebnisse des Ringversuches	32
Anhang B (informativ) Beispiel für gerätetechnische Bedingungen und Chromatogramme		35
B.1	Messung von PAK mit GC-MS	35
B.2	Messung von PAK mit HPLC-Fluoreszenz	41
Literaturhinweise		45

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 16181:2017) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 444 „Prüfverfahren für die umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NEN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird CEN/TS 16181:2013 ersetzen.

Dieses Dokument wurde unter einem Normungsauftrag erarbeitet, der durch die Europäische Kommission und die Europäische Handelsorganisation an CEN erteilt wurde.

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

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. Diese beiden Verfahren sind in der vorliegenden horizontalen Norm enthalten.

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 der Durchführung des gewählten Extraktions- und Reinigungsverfahrens beschrieben. Das Verfahren stimmt weitgehend mit dem für PCB beschriebenen Verfahren überein (siehe EN 16167).

Dieses Dokument 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 Entwicklungen bei der Beurteilung von PAK in Schlamm, Boden, behandeltem Bioabfall und benachbarten Bereichen zu bewerten. Nach einer zu Bewertungszwecken durchgeführten Untersuchung, bei der die Robustheit des Verfahrens geprüft wurde, erfolgte eine europaweite 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 Europäische Norm ist für verschiedene Arten von Matrices, wie in Tabelle 1 angegeben, anwendbar und validiert (siehe auch Anhang A für die Ergebnisse der Validierung).

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

Matrix	Für die Validierung verwendete Materialien
Schlamm	kommunaler Klärschlamm
Bioabfall	frischer Kompost
Boden	sandiger Boden

WARNUNG — Anwender dieser Europäischen Norm sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Diese Europäische Norm beansprucht nicht, sämtliche mit ihrer Anwendung verbundenen Sicherheitsprobleme, soweit diese gegeben sind, zu behandeln. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die angemessenen Maßnahmen in Bezug auf den Gesundheits- und Arbeitsschutz einzuleiten und die Einhaltung jeglicher nationaler gesetzlicher Vorschriften sicherzustellen.

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

1 Anwendungsbereich

Diese 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 B) 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
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, den verwendeten Geräten, der Qualität der für die Extraktion der Probe 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, Boden und behandelter Bioabfall können sich in ihren Eigenschaften sowie in den erwarteten Kontaminationsniveaus von PAK und der Anwesenheit von störenden Substanzen unterscheiden. Aufgrund dieser Unterschiede ist es unmöglich, ein allgemeines Verfahren darzulegen. Die vorliegende Europäische Norm enthält Entscheidungstabellen, die auf den Probeneigenschaften und den anzuwendenden Extraktions- und Reinigungsverfahren basieren. Es werden zwei allgemeine Richtungen verfolgt — ein Schüttelverfahren oder die Anwendung der 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 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 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*

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

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

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*

ISO 18512, *Soil quality — Guidance on long and short term storage of soil samples*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

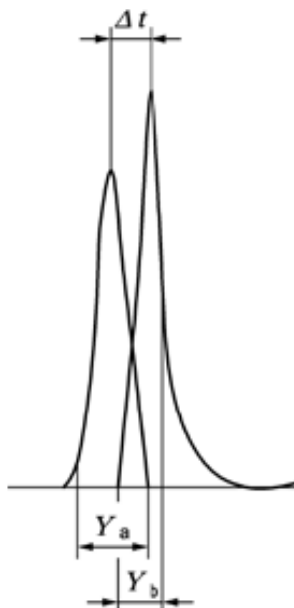
3.1

kritisches Paar

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

[QUELLE: EN 15308:2016, 3.6]

Anmerkung 1 zum Begriff: Siehe Bild 1.



Legende

- Δt Differenz der Retentionszeiten der beiden Peaks a und b, in Sekunden (s)
 Y_a Peakbreite an der Basis des Peaks a, in Sekunden (s)
 Y_b Peakbreite an der Basis des Peaks b, in Sekunden (s)

Bild 1 — Beispiel eines Chromatogramms eines kritischen Paares

3.2
interner Standard
isotopenmarkierter oder anderer PAK, der wahrscheinlich nicht in der Probe vorliegt, den Proben vor der Extraktion zugesetzt wird und anhand dessen die Konzentrationen der nativen Substanzen berechnet werden

3.3
Injektionsstandard
PAK, der wahrscheinlich nicht in den Proben vorliegt, wird dem Probenextrakt vor der Injektion in den Gaschromatographen zugesetzt, um die Variabilität des Geräteresponses und die Wiederfindungsrate der internen Standards zu überwachen

[QUELLE: EN 15527:2008, 3.5, modifiziert — der Wortlaut der Definition wurde überarbeitet.]

3.4
Surrogat
PAK, der wahrscheinlich nicht in den Proben vorliegt, wird der Probe vor der Analyse zugesetzt und zur Korrektur von Verlusten an PAK-Analyten während der Probenextraktion oder Reinigung verwendet

4 Kurzbeschreibung

Wegen des Multi-Matrix-Charakters (horizontalen Charakters) der vorliegenden Europäischen Norm dürfen auf verschiedene Schritte (Module) verschiedene Verfahren angewendet werden. Welche Module angewendet werden sollten, hängt von der Probe ab. Diesbezüglich wird in dieser Europäischen Norm eine Empfehlung gegeben. Die Leistungskriterien sind beschrieben und es liegt in der Verantwortung der Laboratorien, die diese Europäische Norm anwenden, zu zeigen, dass diese Kriterien erfüllt werden. Die Anwendung von Aufstockstandards (internen Standards) erlaubt eine Gesamtprüfung der Effizienz einer spezifischen Modulkombination für eine bestimmte Probe. Sie liefert jedoch nicht zwangsläufig Informationen über die umfassende Effizienz der Extraktion der matrixgebundenen nativen PAK.

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 an unpolarem 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 Umkehrphasen-Säule (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 Glas) 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 zusammen eluieren, können die PAK-Bestimmung stören. Diese Störungen können unvollständig aufgelöste Signale nach sich ziehen und, in Abhängigkeit von deren Größenordnung, die Genauigkeit und Präzision der Analysenergebnisse 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 Dibenz[*a,h*]anthracen und Indeno[1,2,3-*cd*]pyren ist zumeist kritisch. Aufgrund deren unterschiedlicher molekularer Massen kann eine quantitative Bestimmung mittels massenselektiver Detektion vorgenommen werden. Tritt eine unvollständige Auflösung auf, muss die Peakintegration geprüft und, falls erforderlich, korrigiert werden.

Eine chromatographische Auflösung von $R > 0,8$ ist für Benzo[*b*]fluoranthren, Benzo[*k*]fluoranthren und Benzo[*k*]fluoranthren ($m/z = 252$) erforderlich. Wenn das Kriterium für Benzo[*j*]fluoranthren nicht erfüllt wird, muss das Ergebnis im Bericht als die Summe der gemeinsam eluierten PAK angegeben werden.

5.3 Störungen bei HPLC

Substanzen, bei denen Fluoreszenz oder Quenching (Löschung der Fluoreszenz) 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 Größenordnung, die Genauigkeit und Präzision der Analysenergebnisse 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 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.

Üblicherweise wird Perylen nicht vollständig vom Benzo[b]fluoranthren getrennt, 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. Der Kontakt mit Feststoffen, Lösemittlextrakten und PAK-Standardlösungen ist zu vermeiden.

PAK können mit dem Lösemittel mit destilliert werden und außerhalb von mit Stopfen verschlossenen Flaschen gelangen. Alle Behälter mit PAK-Lösungen müssen deshalb 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 stehend 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 zu einer Staubgefahr führen. 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 herzustellen oder von Lieferanten zu beziehen, die auf deren Herstellung spezialisiert sind.

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

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

7 Reagenzien

Alle Reagenzien müssen von anerkannter Analysenreinheit sein. Die Reinheit der verwendeten Reagenzien muss durch eine Blindwertbestimmung nach 10.1 geprüft werden. Der Blindwert muss weniger als 50 % der niedrigsten Angabegrenze betragen.

7.1 Reagenzien für die Extraktion:

7.1.1 Aceton, C_3H_6O .

7.1.2 Hexanähnliches Lösemittel, Siedebereich 40 °C bis 60 °C.

ANMERKUNG Hexanähnliche Lösemittel mit einem Siedebereich zwischen 40 °C und 89 °C sind zulässig.

7.1.3 Toluol, C_7H_8 .

7.1.4 Wasserfreies Natriumsulfat, Na_2SO_4 .

Das wasserfreie Natriumsulfat muss sorgfältig verschlossen aufbewahrt werden.

7.1.5 Destilliertes Wasser oder Wasser gleichwertiger Qualität, H₂O.

7.1.6 Natriumchlorid, NaCl, wasserfrei.

7.2 Reagenzien für die Reinigung:

7.2.1 Reinigung mit Aluminiumoxid:

7.2.1.1 Aluminiumoxid, Al₂O₃.

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

ANMERKUNG Aktivitätsskala nach Brockmann: Maß für den Prozentsatz an Wasser, der dem Adsorbens, basierend auf dem Massenverhältnis Wasser/Adsorbens, zugesetzt wurde. Aktivitätsstufe 1 entspricht 0 % zugesetztem Wasser. Siehe [15], [16].

7.2.1.2 Deaktiviertes Aluminiumoxid.

Deaktiviert mit etwa 10 % Wasser.

Zu 90 g Aluminiumoxid (7.2.1.1) etwa 10 g Wasser (7.1.5) hinzufügen. 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.

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

7.2.2 Reinigung mit Kieselgel 60 für Säulenchromatographie:

7.2.2.1 Kieselgel 60, Partikelgröße 63 µm bis 200 µm.

7.2.2.2 Kieselgel 60, Wassergehalt: Massenanteil w(H₂O) = 10 %.

Kieselgel 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 Kieselgel in einen Kolben überführen und 10 % Wasser (Massenanteil) hinzufügen. Den Kolben 5 min intensiv per Hand schütteln, bis alle Klumpen gelöst sind, und anschließend 2 h auf einer Schüttelvorrichtung (8.1.2) schütteln. Das deaktivierte Kieselgel unter Luftabschluss lagern und höchstens zwei Wochen verwenden.

Kieselgel 60 ist höchstens zwei Wochen haltbar.

7.2.3 Reinigung mit Gelpermeationschromatographie (GPC):

7.2.3.1 Bio-Beads® S-X3¹⁾

7.2.3.2 Ethylacetat, C₄H₈O₂.

7.2.3.3 Cyclohexan, C₆H₁₂.

1) Bio-Beads® ist ein Beispiel für ein geeignetes handelsübliches Produkt. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung dieses genannten Produktes durch CEN. Gleichwertige Produkte dürfen verwendet werden, wenn sie nachweisbar zu identischen Ergebnissen führen.

7.2.3.4 Kugelförmiges poröses Styren-Divinylbenzen-Harz:

Vorbereitung für GPC, z. B.: 50 g Bio-Beads® S-X3 (7.2.3.1) in einen 500-ml-Erlenmeyerkolben geben und 300 ml Elutionsgemisch aus Cyclohexan (7.2.3.3) und Ethylacetat (7.2.3.2) 1 : 1 (Volumenanteil) 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 drei 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 wird.

7.2.4 Reinigung mit Flüssig/Flüssig-Verteilung DMF/Cyclohexan:

7.2.4.1 Dimethylformamid (DMF), C_3H_7NO .

7.2.4.2 Dimethylformamid : Wasser, 9 : 1.

7.3 Reagenzien für chromatographische Analyse:

7.3.1 GC-Analyse:

7.3.1.1 Trägergas für die GC-MS: Helium oder Wasserstoff von hoher Reinheit und nach Anforderungen des Herstellers.

7.3.2 HPLC-Analyse:

7.3.2.1 Mobile Phase

7.3.2.2 Acetonitril, CH_3CN oder **Methanol**, CH_3OH , HPLC-Reinheitsgrad.

7.3.2.3 Reinstwasser, HPLC-Reinheitsgrad.

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

7.4 Standards:

7.4.1 Referenzsubstanzen, interne Standards und Surrogate:

Die Substanzen für die internen Standards wählen, deren physikalische und chemische Eigenschaften (wie Extraktionsverhalten, Retentionszeit) denen der zu analysierenden Verbindungen ähnlich sind. Es müssen mindestens fünf markierte interne Standards als interne Standards beim GC-MS-Verfahren für die Beurteilung der Ergebnisse verwendet werden. Die Stabilität der internen Standards regelmäßig prüfen. 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		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[a]pyren	(CAS-RN 50-32-8)	Benzo[a]pyren-d12	(CAS-RN 63466-71-7)
Benzo[e]pyren ^a	(CAS-RN 192-97-2)		
Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyren	(CAS-RN 193-39-5)	Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]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 Prüfung der Auflösung anhand der Trennung 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 einzelne feste PAK mit zertifizierter Reinheit können von einer begrenzten Anzahl von Lieferanten bezogen werden.

Bei der Analyse von stark verunreinigten Proben wird oft eine Aliquote des Extrakts für die weitere Reinigung verwendet.

Bei der HPLC muss die extraktionsbezogene Wiederfindungsrate geprüft werden, indem ein Surrogat, das die Zielanalyten nicht stört, zugesetzt wird. Ein nicht im Anwendungsbereich angegebener geeigneter nativer PAK, wie z. B. 6-Methylchrysen, wird der Probe vor der Extraktion zugesetzt. Der Bereich der Wiederfindungsrate sollte zwischen 70 % und 110 % liegen.

7.4.2 Injektionsstandard (GC-MS):

Ein deuterierter PAK, wie z. B. 1-Methylnaphthalen-d10, Triphenylen-d12 und Perylen-d12, muss dem Endextrakt vor der GC-MS-Injektion zugesetzt werden, um die Wiederfindungsrate der deuterierten internen Standards zu prüfen.

7.4.2.1 HPLC.

7.5 Herstellung der Standardlösungen:

Wegen der gefährlichen Eigenschaften der zu verwendenden Substanzen sollten handelsübliche, vorzugsweise zertifizierte Standardlösungen verwendet werden. Hautkontakt vermeiden.

Alle Standardlösungen müssen im Dunkeln aufbewahrt werden. Stammlösungen müssen bei etwa -18 °C bis -15 °C aufbewahrt werden, verdünnten Standardlösungen bei $(5 \pm 3)\text{ °C}$. Stammlösungen sind etwa ein Jahr stabil, wenn sie vor Licht und Verdunstung geschützt werden. Die Stabilität der Standardlösung muss regelmäßig durch einen Vergleich mit einer unabhängigen, vorzugsweise zertifizierten Standardlösung geprüft werden.

7.5.1 Standardlösungen für die HPLC-Analyse:

7.5.1.1 Einzelkomponenten-Stammlösungen:

Lösungen der einzelnen Substanzen (siehe Tabelle 3) in Acetonitril (7.3.2.2) mit einer Massenkonzentration von 10 µg/ml herstellen. Diese Lösungen werden zur Bestätigung und Identifizierung von einzelnen PAK im Chromatogramm verwendet.

7.5.1.2 Mehrkomponenten-Stammlösung:

Lösungen der Referenzsubstanzen (siehe Tabelle 3) in Acetonitril (7.3.2.2) mit einer Massenkonzentration der entsprechenden einzelnen Substanzen von 10 µg/ml herstellen.

7.5.1.3 Kalibrierlösungen:

Mindestens fünf Kalibrierlösungen durch eine entsprechende Verdünnung der Stammlösung (7.5.1.1 oder 7.5.1.2) mit Acetonitril (7.3.2.2) oder Methanol (7.3.2.2) als Lösemittel herstellen. Die Wahl des Lösemittels hängt von der Zusammensetzung der mobilen Phase ab.

50 µl Stammlösung in einen 5-ml-Messkolben überführen und diesen bis zur Marke mit Acetonitril auffüllen. 1 µl dieser Referenzlösung enthält 100 pg der entsprechenden einzelnen Substanzen.

Die Stabilität der Referenzlösungen regelmäßig prüfen.

Die PAK-Massenkonzentrationen in der Stammlösung durch einen Vergleich mit einer unabhängigen, vorzugsweise zertifizierten Standardlösung prüfen.

7.5.2 Standardlösungen für die GC-MS-Analyse:

7.5.2.1 Einzelkomponenten-Stammlösung:

Lösungen der einzelnen nativen und deuterierten PAK (siehe Tabelle 3) in Toluol (7.1.3) oder Cyclohexan (7.2.3.3) mit einer Massenkonzentration von 10 µg/ml herstellen. Diese Lösungen werden zur Bestätigung und Identifizierung von einzelnen PAK im Chromatogramm verwendet.

7.5.2.2 Mehrkomponenten-Stammlösung von nativen PAK:

Die Lösungen der Referenzsubstanzen, d. h. der nativen PAK (siehe Tabelle 3), in Toluol (7.1.3) oder Cyclohexan (7.2.3.3) auf eine Massenkonzentration der entsprechenden einzelnen Substanzen, d. h. 10 µg/ml , verdünnen.

7.5.2.3 Mehrkomponenten-Stammlösung von deuterierten oder markierten PAK (interner Standard):

Mehrere deuterierte oder markierte PAK-Standards, die als interner Standard verwendet werden und die auch als Mischungen in einem geeigneten Lösemittel zur Verfügung stehen, können auf die gleiche Massenkonzentration, d. h. 10 µg/ml für jeden einzelnen deuterierten Standard, verdünnt werden.

7.5.3 Kalibrierstandardlösungen:

Eine Reihe von Kalibrierstandardlösungen (mindestens fünf), die einen geeigneten Konzentrationsbereich abdecken, herstellen, indem unterschiedliche Volumina der Mehrkomponenten-Stammlösung von nativen PAK-Standards (7.5.2.2) und ein konstantes Volumen der Lösung von internen Standards (7.5.2.3) in einen Messkolben überführt werden und dieser mit Cyclohexan (7.2.3.3) bis zur Marke aufgefüllt wird.

7.6 Herstellung der Lösungen von internen Standards:

Die Mehrkomponenten-Stammlösung von deuterierten oder markierten PAK (7.5.2.3) kann zum Aufstocken der Probe vor der Extraktion verwendet werden. Die Menge der zum Aufstocken verwendeten internen Standards muss so gewählt werden, dass deren Konzentration im Endextrakt bei der GC-MS-Bestimmung die gleiche ist, wie die in den Kalibrierlösungen (z. B. 100 pg/µl). Bei der HPLC-Analyse, bei der eine externe Kalibrierung angewendet wird, wird ein PAK, der nicht den Ziel-PAK stört, z. B. 6-Methylchrysen, vor der Extraktion der Probe zugesetzt, um die Wiederfindungsrate dieser Substanz im Verlaufe des gesamten Verfahrens zu prüfen.

7.7 Herstellung der Lösung des Injektionsstandards:

Das ist erforderlich, um die Wiederfindungsrate der deuterierten internen Standards zu prüfen.

Es kann eine Einzelkomponenten-Stammlösung (7.5.2.1), wie z. B. deuteriertes Benzo[e]pyren, die den Zielanalyten nicht stört, verwendet werden.

Ein deuterierter oder $^{13}\text{C}_{12}$ -markierter PAK, der nicht in Tabelle 3 aufgeführt ist, wird dem Extrakt vor der Injektion in das GC-System zugesetzt, um die Variabilität des Geräteresponses zu überwachen. Die Wiederfindungsrate der internen Standards im Verlauf des gesamten Verfahrens kann mithilfe des Verhältnisses des Responses des internen Standards zu dem des Injektionsstandards berechnet werden. Es wird eine solche Menge zugesetzt, dass ein Peak mit einer messbaren Peakfläche im Chromatogramm (mindestens 10-fache Nachweisgrenze) erhalten wird.

8 Geräte

8.1 Extraktions- und Reinigungsverfahren:

Übliche Laborgeräte aus Glas.

Sämtliche Glasgeräte und Materialien, die mit der Probe oder dem Extrakt in Berührung kommen, müssen sorgfältig gereinigt werden.

8.1.1 Probenflaschen, aus Glas, nichtrostendem Stahl oder Aluminium, mit Glasstopfen oder Schraubverschluss und Polytetrafluorethylen-(PTFE-)Dichtung mit geeignetem Fassungsvermögen.

ANMERKUNG Glas ist für Schlammproben nicht geeignet.

WARNUNG — Aus Sicherheitsgründen dürfen biologisch aktive Schlammproben nicht in einem dicht geschlossenen Behälter gelagert werden.

8.1.2 Schüttelvorrichtung, mit horizontaler Bewegung (200 Hübe bis 300 Hübe je min).

8.1.3 Wasserbad, auf bis zu 100 °C einstellbar.

8.1.4 Scheidetrichter, mit geeignetem Volumen.

8.1.5 Erlenmeyer-Kolben, mit geeignetem Volumen.

8.1.6 Soxhlet-Extraktionsapparat, bestehend aus Rundkolben, z. B. 100 ml, Soxhlet-Extraktoren und Soxhlet-Extraktionshülsen, z. B. 27 mm × 100 mm, senkrechten Kühlern, z. B. 300 mm, Heizgerät.

8.1.7 Verdampfer, nach Kuderna-Danish.

Weitere Verdampfer, z. B. Rotationsverdampfer, dürfen verwendet werden, sofern sich diese als gleichermaßen geeignet erwiesen haben.

8.1.8 Siedesteinchen, Glas oder Porzellanperlen.

8.1.9 Quarzwolle oder silanisierte Glaswolle.

WARNUNG — Beim Arbeiten mit Quarzwolle besteht ein Gesundheitsrisiko durch die Freisetzung feiner Quarzpartikel. Das Einatmen dieser Partikel sollte durch Arbeiten unter einem Abzug oder Tragen einer Staubschutzmaske verhindert werden.

8.1.10 Graduierte Reagenzgläser, mit einem Nenn-Fassungsvermögen von 10 ml bis 15 ml und Schliffstopfen.

8.1.11 Chromatographiesäulen. Chromatographiesäule, aus Glas, 5 mm bis 10 mm Innendurchmesser, Länge z. B. 600 mm.

8.2 Gaschromatograph:

8.2.1 Allgemeines:

Gaschromatograph, ausgestattet mit einem nicht diskriminierenden Injektionssystem, Kapillarsäule und einem massenspektrometrischen Detektor (GC-MS).

8.2.2 Kapillarsäulen, aus Quarzglas, beschichtet mit einer stationären Phase aus 5 % Phenyl-Methylsilicon oder gleichwertige Säulen mit chemisch gebundener Phase.

Deren Maße sollten ausreichend für die Trennung der nachstehend angegebenen kritischen Paare sein. Im Allgemeinen sollte die Säulenlänge mindestens 30 m, der Innendurchmesser 0,25 mm und die Filmdicke 0,2 µm betragen.

Eine chromatographische Auflösung von $R > 0,8$ ist für Benzo[b]fluoranthen und Benzo[k]fluoranthen ($m/z = 252$) erforderlich. Wenn dieses Kriterium für Benzo[j]fluoranthen nicht erfüllt werden kann, muss als Qualitätskriterium für die Kapillarsäule festgelegt werden.

8.3 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatograph:

8.3.1 Allgemeines:

Ein HPLC-System, das entsprechend den Anforderungen mit einem ultravioletten (UV) und einem fluoreszierenden (FD) Detektionssystem und einem Datenauswertungssystem ausgestattet ist, einschließlich:

- Entgasungseinheit, z. B. zur Entgasung mit Vakuum oder Helium;
- analytische Pumpen, die binäre Gradientenelution ermöglichen;
- Säulenthermostat, der eine Temperaturkonstanz innerhalb von $\pm 0,5$ °C ermöglicht;
- Fluoreszenzdetektor, der eine Programmierung von mindestens sechs Wellenlängenpaaren einschließlich Dämpfung/Verstärkung ermöglicht, vorzugsweise mit (einem) Monochromator(en) ausgestattet;
- UV-Detektor (mit variierender Wellenlänge) oder Diodenarray-Detektor.

8.3.2 Analytische Trennsäule.

Eine Umkehrphasen-HPLC-Säule, die die in Anhang B beschriebenen Trennungsanforderungen erfüllt.

9 Probenlagerung und Probenkonservierung

9.1 Probenlagerung

Grundsätzlich müssen die Proben möglichst rasch nach der Probenahme analysiert werden. Das gilt insbesondere für die Untersuchung mikrobiologisch aktiver Feststoffe.

Falls erforderlich, müssen Schlammproben nach EN ISO 5667-15 gelagert werden.

Getrocknete Proben können an einem dunklen Ort bei Raumtemperatur bis zu einem Monat gelagert werden. Bodenproben müssen nach ISO 18512 gelagert werden.

9.2 Probenvorbehandlung

Die Proben nach EN 16179 unter Beachtung des in Tabelle 4 festgelegten besonderen Trocknungsverfahrens zum Erhalten einer Prüfprobe vorbehandeln, sofern nicht anders festgelegt.

Die Vorbehandlung ist erforderlich, um den Feuchtegehalt zu reduzieren, die Extraktion der PAK zu ermöglichen und die Homogenität zu erhöhen.

Vollständiges Trocknen der Probe ist erforderlich, wenn die Soxhlet-Extraktion angewendet wird oder um die Homogenität zu erhöhen.

Vollständiges Trocknen wird ebenfalls empfohlen, wenn die Probe über einen langen Zeitraum gelagert werden muss.

Falls erforderlich, den Feststoffgehalt in der Probe durch Zentrifugieren und/oder Filtration erhöhen (siehe Anmerkungen 1 und 2).

ANMERKUNG 1 Zentrifugieren ist bei mehreren Proben möglich, jedoch nicht realisierbar bei Materialien, die etwa die gleiche Dichte wie Wasser aufweisen.

ANMERKUNG 2 Filtration ist möglich, jedoch kann die Handhabung einiger Proben wegen Filterverstopfungen, zu hohem Wassergehalt oder der Aufnahme von Zielanalyten durch das Filterpapier problematisch sein.

Tabelle 4 — Trocknungsverfahren für Proben unterschiedlicher Matrices für die anschließende Analyse von PAK

Matrix	Trocknungsverfahren		
	Gefriertrocknen (EN ISO 16720)	Na ₂ SO ₄	kein Trocknen
Schlamm	x ^a	x ^b	
Bioabfall (Kompost, Mischabfall)	x	x	x
Boden (z. B. Sand, Ton)	x	x	x
^a Verlust flüchtiger PAK ist möglich. ^b Na ₂ SO ₄ kann zur Konservierung von hygroskopischem getrocknetem Schlamm verwendet werden.			

10 Durchführung

10.1 Blindwertbestimmung

Eine Blindwertbestimmung unter Einhaltung des angewendeten Verfahrens (ausgewähltes Extraktions- und Reinigungsverfahren) durchführen, wobei die gleiche Menge an Reagenzien, die für die Vorbehandlung, Extraktion, Reinigung und Analyse der Probe zum Einsatz kommt, zu verwenden ist. Die Blindwertbestimmung unmittelbar vor der Analyse der Proben durchführen, um nachzuweisen, dass die Kontamination ausreichend gering ist. Der Blindwert muss weniger als 50 % der niedrigsten Angabegrenze betragen.

10.2 Extraktion

10.2.1 Allgemeines

In Abhängigkeit von der Prüfprobe (Matrix und Feuchtegehalt) ein geeignetes Extraktionsverfahren (siehe Tabelle 5) wählen. Für die Extraktion von PAK aus den Matrices ist die Wahl des Extraktionslösemittels entscheidender als das Extraktionsverfahren und die Extraktionsvorrichtungen an sich. Da einige Ziel-PAK in den üblichen unpolaren Lösemitteln, wie z. B. hexanähnlichen Lösemitteln und weiteren Kohlenwasserstoffen relativ unlöslich sind, müssen die Lösemittel entsprechend dem erwarteten Kontaminationsniveau gewählt werden.

Das Extraktionsverfahren 1 (10.2.2) wird empfohlen, wenn es wichtig ist, Aggregate in der Probe aufzubrechen, um an die PAK heranzukommen. Besonders wichtig ist es für Tonpartikel enthaltende Bodenproben. Auf die feuchten Proben müssen diese Verfahren angewendet werden, um das vorhandene Wasser zu entfernen.

Falls das Lösen der PAK der entscheidende Schritt ist (Abfall, hochkontaminierter Boden und Materialien, die reich an organischen Stoffen sind) und die Probe trocken ist, wird das Extraktionsverfahren 2 (10.2.3) unter Anwendung der Soxhlet-Extraktion empfohlen. Für Schlämme wurde die Anwendbarkeit der Soxhlet-Extraktion oder der Hochdruck-Flüssigextraktion (PLE) nachgewiesen. Da die Proben Aggregate, organische Stoffe und (Kunststoff-)Abfall enthalten können, kann jedoch keine allgemeine Regel aufgestellt werden.

Weitere Extraktionsverfahren, wie z. B. Ultraschallextraktion, Mikrowellenextraktion oder Hochdruckextraktion, dürfen unter der Voraussetzung angewendet werden, dass:

- das Laboratorium nachweisen kann, dass die Extraktionseffizienz einem der in dieser Europäischen Norm beschriebenen Extraktionsverfahren 1 (10.2.2) oder 2 (10.2.3) äquivalent ist, oder

- die Proben eine andere Herangehensweise erfordern, wie vom Laboratorium nachgewiesen ist, und die mit dem Verfahren erzielten Ergebnisse den in Abschnitt 11 festgelegten Leistungskriterien entsprechen.

ANMERKUNG Bei der Anwendung dieser Europäischen Norm auf einige Abfallarten hat sich der Zusatz von Aceton bei der Soxhlet-Extraktion als wirksam erwiesen.

Die in dieser Europäischen Norm beschriebenen Extraktionsverfahren lassen eine Extraktion von bis zu 20 g trockener Probe zu. Hat die Prüfprobe eine geringe Dichte (d. h. einige Matrices) oder ist die Probe homogen, kann in Abhängigkeit von dem erwarteten PAK-Gehalt und der Homogenität der Probe weniger Probenmaterial verwendet werden. Im Allgemeinen können die folgenden Mengen verwendet werden: 10 g bis 20 g bei Boden, 2 g bis 10 g bei Klärschlamm, 5 g bis 20 g bei Kompost bzw. 2 g bis 20 g bei (Bio-)Abfall. Die Probenmenge muss mit einer Messunsicherheit von mindestens 1 % gewogen werden.

Tabelle 5 — Extraktionsverfahren, die auf unterschiedliche Matrices anzuwenden sind

Feuchte- zustand der Prüfprobe	Matrix	Extraktions- mittel	Extraktions- technik	Extraktions- verfahren	Bemerkungen
Trocken	Bodenähnliche Materialien, Schlamm, Bioabfall, Kompost	Aceton/ Petrolether	Schütteln	Extraktions- verfahren 1 (siehe 10.2.2)	auch anwendbar auf feldfeuchte Proben mit einem Trockenmassegehalt > 75 %.
	Hochkontaminierter Boden, Schlamm, Bioabfall, Kompost	Toluol	Soxhlet- Extraktion, Hochdruck- Flüssig- extraktion	Extraktions- verfahren 2 (siehe 10.2.3)	
Feucht	Bodenähnliche Materialien, Bioabfall, Kompost, Schlamm	Aceton/ Petrolether NaCl	Schütteln	Extraktions- verfahren 3 (siehe 10.2.4)	Es liegen Einschränkungen in Bezug auf den Wassergehalt der Probe vor.

10.2.2 Extraktionsverfahren 1: Extraktion mittels Aceton/hexanähnlichen Lösemittels und Schütteln

Für die GC-MS-Analyse mit interner Kalibrierung ein vorgegebenes Volumen an Lösung des internen Standards zusetzen. 50 ml Aceton (7.1.1) zur Prüfprobe hinzufügen und durch gründliches Schütteln mit der Schüttelvorrichtung (8.1.2) 30 min extrahieren, um die in der Probe vorliegenden Aggregate aufzubrechen. 50 ml hexanähnliches Lösemittel (7.1.2) hinzufügen und erneut mindestens 12 h gründlich schütteln. Nachdem sich die Festphase abgesetzt hat, die überstehende Lösung dekantieren. Die Festphase mit 50 ml hexanähnlichem Lösemittel (7.1.2) waschen und die Lösung erneut dekantieren. Die Extrakte in einem Scheidetrichter (8.1.4) sammeln und das Aceton durch zweimaliges Ausschütteln mit 400 ml Wasser entfernen. Den Extrakt über wasserfreiem Natriumsulfat (7.1.4) trocknen. Das Natriumsulfat mit hexanähnlichem Lösemittel (7.1.2) spülen und die Spülflüssigkeiten zum Extrakt hinzufügen.

ANMERKUNG 1 Es wurde nachgewiesen, dass Leitungswasser für das Entfernen von Aceton eingesetzt werden kann, da die Zielverbindungen nicht darin enthalten sind.

Dieses Verfahren kann angewendet werden, wenn die Probe bis zu 25 % Wasser enthält. Ist der Wassergehalt der Probe größer als 25 %, so ist dieses Verfahren weniger wirksam, und die Menge an Aceton muss erhöht werden. Das Verhältnis Aceton : Wasser sollte mindestens 9 : 1 betragen. Das Verhältnis Aceton : hexanähnliches Lösemittel sollte konstant auf 2 : 1 gehalten werden.

Die genaue Menge an internem Standard, der in allen Extraktionsverfahren zugesetzt wird, muss so gewählt sein, dass dessen Konzentration im Endextrakt unter den Arbeitsbereich des Messverfahrens fällt. Die übliche Konzentration der einzelnen internen Standards im Endextrakt ist 0,1 µg/ml. Um die Gesamtprobe zu durchfeuchten, wird eine Mindestmenge von 100 µl an internem Standard empfohlen.

Für die HPLC-Analyse, bei der eine externe Kalibrierung angewendet wird, sollte der Probe nur das Surrogat, wie z. B. 6-Methylchrysen, vor der Extraktion zugesetzt werden.

ANMERKUNG 2 In Matrices mit einem hohen Gehalt an organischen Substanzen (z. B. einige Schlämme) können längere Extraktionsverfahren erforderlich sein. Für diese Proben ist möglicherweise das Extraktionsverfahren 2 (10.2.3) zu bevorzugen.

10.2.3 Extraktionsverfahren 2: Soxhlet-Extraktion (trockene Proben)

Für die nachfolgende GC-MS-Analyse mit interner Kalibrierung ein vorgegebenes Volumen an Lösung des internen Standards zusetzen. Die Probe mit etwa 70 ml Toluol (7.1.3) mithilfe des Soxhlet-Extraktionsapparates (8.1.6) extrahieren. Die Dauer der Extraktion sollte ausgehend von mindestens 100 Extraktionszyklen berechnet werden.

Nur für die nachfolgende HPLC-Analyse wird der Probe vor der Extraktion eine Surrogatlösung zugesetzt.

Hochdruck-Flüssigextraktion (PLE) darf ebenfalls angewendet werden.

10.2.4 Extraktionsverfahren 3: Aceton/Petrolether/Natriumchlorid und Schütteln

Eine bestimmte Menge einer feuchten Probe in ein 1 000-ml-Glasgefäß mit Schraubverschluss oder einen 1 000-ml-Erlenmeyerkolben einwiegen.

Für die nachfolgende GC-MS-Analyse mit interner Kalibrierung ein vorgegebenes Volumen an Aufstocklösung des internen Standards zusetzen. Die Menge an deuterierten Substanzen, die zugesetzt werden, muss so gewählt sein, dass deren Konzentrationen im Endextrakt unter den Arbeitsbereich des Messverfahrens fallen.

Nur für die nachfolgende HPLC-Analyse wird der Probe vor der Extraktion eine Surrogatlösung zugesetzt.

Falls die Probe trocken ist, 50 ml Wasser hinzufügen. Bei feuchten Proben wird die Menge an Wasser, die zuzufügen ist, nach Gleichung (1) berechnet:

$$m_w = 50 - \frac{m_E \cdot m_{H_2O}}{100} \quad (1)$$

Dabei ist

m_w die zuzufügende Masse an Wasser, angegeben in Gramm (g);

m_E die Masse an durchgesiebter Probe, angegeben in Gramm (g);

m_{H_2O} der Wassergehalt der Probe nach EN 15934, angegeben als Massenanteil in Prozent (%).

40 g Natriumchlorid (7.1.6), 100 ml Aceton (7.1.1) und 50 ml hexanähnliches Lösemittel (7.1.2) zu den angefeuchteten Proben geben, den Behälter verschließen und auf einer Schüttelvorrichtung (8.1.2) mindestens 12 h schütteln.

Die organische Phase muss, falls erforderlich, in einer Zentrifuge mit verschließbaren Zentrifugengläschen abgetrennt werden. Aceton und polare Verbindungen müssen aus der organischen Phase durch zweifaches Schütteln mit 150 ml Wasser in einem Scheidetrichter entfernt werden.

10.3 Einengen oder Verdünnen

10.3.1 Allgemeines

In Abhängigkeit vom erwarteten Kontaminationsniveau kann der Extrakt, falls der Reinigungsschritt nicht erforderlich ist, für die nachfolgende Analyse eingengt oder mit einem geeigneten Lösemittel verdünnt werden. Falls geeignet, den Extrakt mit einem Verdampfer (8.1.7) auf etwa 10 ml einengen. Den eingengten Extrakt in ein graduiertes Reagenzglas überführen und mithilfe eines schwachen Stroms von Stickstoff oder einem anderen inerten Gas bei Raumtemperatur weiter auf 1 ml einengen.

ANMERKUNG Zu hohe Temperaturen und ein zu hoher Durchfluss von Stickstoff können Verluste von flüchtigeren PAK verursachen.

Die Extrakte dürfen nicht bis zur Trockne eingedampft werden, weil Verluste an 2- und 3-Ringverbindungen auftreten können. Eine kleine Menge (z. B. 100 µl) an hochsiedendem Lösemittel sollte als Keeper für die GC-M-Analyse zugesetzt werden (siehe 10.6).

Sofern keine Reinigung erforderlich ist, den Extrakt auf ein vorgegebenes Volumen einengen; vor der GC-M-Injektion wird ein deuterierter PAK als Injektionsstandard für die Überprüfung der Wiederfindungsrate der internen Standards dem Endextrakt zugefügt (siehe 10.5).

10.3.2 Für die HPL-Analyse

Sofern keine Reinigung erforderlich ist, muss das Lösemittel des Endextrakts [Extraktionsverfahren 1 (10.2.2) und 2 (10.2.3)] von einem hexanähnlichen Lösemittel zu einem Lösemittel, wie z. B. Acetonitril (7.3.2.2), das mit der mobilen Phase des HPL-Systems kompatibel ist, gewechselt werden. Zum Beispiel zu einer Aliquote von 1 ml hexanähnlichem Lösemittel (7.1.2) 0,8 ml Acetonitril (7.3.2.2) hinzufügen und mithilfe eines schwachen Stickstoffstroms bei Raumtemperatur einengen, bis das gesamte hexanähnliche Lösemittel entfernt ist, d. h. bis ein Volumen von 0,8 ml erreicht ist. Mit Acetonitril (7.3.2.2) bis zur Markierung von 1,0 ml für die nachfolgende HPL-Analyse auffüllen.

Der angereicherte Extrakt sollte keine Rückstände von Aceton enthalten, weil die Anwesenheit dieses Lösemittels in der Messlösung Störungen bei der HPLC verursacht.

ANMERKUNG Beim Extraktionsverfahren 3 (10.2.3) kann der Endextrakt mit Toluol als Lösemittel mit Acetonitril (7.3.2.2) entsprechend dem erwarteten Kontaminationsniveau vor der HPLC-Analyse verdünnt werden.

10.4 Reinigen des Extrakts

10.4.1 Allgemeines

Das Reinigen muss angewendet werden, wenn Verbindungen vorliegen, die die interessierenden PAK im GC-MS-Chromatogramm oder HPLC-Chromatogramm stören können, oder falls diese die Messdurchführung beeinflussen können (d. h. Kontamination von Injektorsystem, Säule und Detektor). Sofern keine oder nur vernachlässigbare Störsubstanzen vorliegen, ist keine Reinigung erforderlich. Zur Wahl des Reinigungsverfahrens in Abhängigkeit von den zu entfernenden Substanzen kann Tabelle 6 herangezogen werden.

Tabelle 6 — Reinigungsverfahren

Verfahren	Reinigung	zur Entfernung von	geeignet für	Bemerkungen
Reinigungs- verfahren A	Aluminiumoxid	polaren Verbindungen		schwierig, den Wasser- gehalt einzustellen und diesen konstant zu halten
Reinigungs- verfahren B	Kieselgel	polaren Verbindungen		
Reinigungs- verfahren C	Gelpermeation	hochmolekularen Verbindungen, Fetten und Ölen	MS	
Reinigungs- verfahren D	DMF/Cyclohexan	aliphatischen Kohlenwasserstoffen, Fetten und Ölen	MS	
ANMERKUNG Hinzufügen des Keeper-Lösemittels beim endgültigen Einengen nach dem Reinigen.				

Bevor die Reinigung auf die eigentlichen Prüfproben angewendet wird, muss das Laboratorium sicherstellen, dass die Wiederfindungsraten für einen Standard nach Anwendung des Reinigungsverfahrens mindestens 80 % für alle zutreffenden PAK (einschließlich Standards zum Aufstocken und interne Standards) betragen.

ANMERKUNG Die PAK sind im Gegensatz zu den PCB nicht sehr stabil und beständig (persistent), daher sind extremen Reinigungsbedingungen (z. B. Schwefelsäure) nicht angebracht.

Weitere Reinigungsverfahren sind ebenfalls zulässig, vorausgesetzt, die Störpeaks im Chromatogramm werden dadurch entfernt und die Wiederfindungsraten für alle zutreffenden PAK (einschließlich Standards zum Aufstocken und interne Standards) nach Anwendung des Reinigungsverfahrens betragen mindestens 80 %.

Der in 10.3 oder einem vorangehenden Reinigungsschritt erhaltene Extrakt oder aliquote Anteil muss quantitativ ins Reinigungssystem überführt werden.

10.4.2 Reinigungsverfahren A — Aluminiumoxid

Eine Adsorptionssäule vorbereiten, indem ein kleiner Pfropfen Quarzwolle (8.1.9) in die Chromatographiesäule (8.1.11) hineingebracht wird und diese mit $(2,0 \pm 0,1)$ g Aluminiumoxid (7.2.1.1) trocken gepackt wird.

Vor der Verwendung sollten das Elutionsmuster jeder Reihe von Aluminiumoxidsäulen und das erforderliche Elutionsvolumen mithilfe einer PAK-Standardlösung geprüft werden.

Den Extrakt mit einer Pipette in die trocken gepackte Adsorptionssäule überführen. Das Reagenzglas zweimal mit 1 ml hexanähnlichem Lösemittel (7.1.2) spülen und die Spülflüssigkeiten mit derselben Pipette in die Säule überführen, sobald die Flüssigkeit den oberen Rand der Säulenpackung erreicht hat. Mit etwa 10 ml hexanähnlichem Lösemittel (7.1.2) eluieren.

Dem Eluat wird Keeper-Substanz (siehe 10.3.1) zugegeben, anschließend wird das Eluat bei einer Temperatur von höchstens 40 °C mittels einer geeigneten Anreicherungsanordnung auf etwa 0,5 ml eingengt.

Handelsübliche Einwegsäulen dürfen alternativ verwendet werden, wenn sich diese als gleichermaßen geeignet erwiesen haben.

10.4.3 Reinigungsverfahren B — Kieselgel

Zum Reinigen Glaswolle und 10 g Kieselgel in die Glassäule hineinbringen. Anschließend 1 cm wasserfreies Natriumsulfat (7.1.4) darauf schichten und mit 20 ml des Lösemittelgemisches für Kieselgel (7.2.2.2), das zum Auflösen des Probenrückstandes verwendet wird, konditionieren. Die Probe auf die Säule geben, wenn das Lösemittelgemisch auf etwa 0,5 cm über der Säulenpackung abgesunken ist.

Der eingeeengte Extrakt oder das im vorangehenden Reinigungsschritt erhaltene Eluat bzw. die Aliquote muss quantitativ in die Säule überführt werden.

Die Elution wird mit insgesamt 100 ml des Lösemittelgemisches für die Kieselgelsäule (7.2.2.2) durchgeführt. Dem Eluat wird Keeper-Substanz (siehe 10.3.1) zugegeben, anschließend wird das Eluat durch die Entfernung von Lösemittel eingeeengt.

10.4.4 Reinigungsverfahren C — Gelpermeationschromatographie (Styren-Divinylbenzen-Harz)

Den erhaltenen Extrakt mithilfe eines schwachen Stickstoffstromes vorsichtig einengen. Der Rückstand wird sofort in 15 ml des Lösemittelgemisches (7.2.3.4) gelöst. 5 ml des aufgelösten Rückstandes auf die GPC-Säule geben.

Die typischen Einstellungen des GPC-Systems sind folgende:

- Durchfluss: 5 ml/min;
- Volumen der Probenschleife: 5 ml;
- erste Fraktion: 120 ml (24 min);
- PAK-Elution: 155 ml (31 min);
- letzte Fraktion: 20 ml (4 min).

Die Elutionsvolumina der ersten Fraktion, des Eluats und der letzten Fraktion sind empfohlene Werte und sollten regelmäßig mit der Mehrkomponenten-Stammlösung (7.5.1.2) überprüft werden.

Dem Eluat wird Keeper-Substanz (siehe 10.3.1) zugeben, anschließend wird das Eluat auf das gewünschte Volumen eingeeengt (siehe 10.3).

ANMERKUNG Im Laufe der Verwendung der Gelpermeationssäule kann eine geringe Veränderung des aufzufangenden Volumens eintreten. Das lässt sich an der Abnahme der Wiederfindungsraten der internen Standards erkennen. Ist das der Fall, kann eine Neueinstellung des Probenvolumens erforderlich sein.

10.4.5 Reinigungsverfahren D — DMF/Cyclohexan-Verteilung zur Entfernung aliphatischer Kohlenwasserstoffe

Extrakte von Proben, die einen hohen Gehalt an aliphatischen Verbindungen haben, benötigen eine zusätzliche Reinigung durch Dimethylformamid/Cyclohexan-Verteilung, besonders für die GC-MS-Messung.

Eine Aliquote des Extrakts (z. B. 1 ml) in einen 100-ml-Scheidetrichter (8.1.4), der 10 ml DMF/Wasser 9 : 1 (7.2.4.2) enthält, überführen und die aliphatischen Kohlenwasserstoffe durch Extraktion mit 10 ml Cyclohexan (7.2.3.3) entfernen. Den Vorgang zweimal wiederholen. Die DMF/Wasser-9 : 1-Phase in einen 500-ml-Scheidetrichter überführen, 100 ml reines Wasser hinzufügen und die PAK mit 10 ml Cyclohexan (7.2.3.3) extrahieren. Den Vorgang einmal wiederholen. Die Cyclohexan-Extrakte vereinen. Den Extrakten wird Keeper-Substanz (siehe 10.3.1) zugegeben, anschließend wird das Volumen des Extrakts mittels einer geeigneten Anreicherungs Vorrichtung auf etwa 0,5 ml eingeeengt.

10.5 Zugabe des Injektionsstandards

Eine geeignete Menge des Injektionsstandards dem nach dem Reinigen erhaltenen Extrakt zusetzen. Diese muss mit der Konzentration des Kalibrierstandards übereinstimmen. Das Endvolumen V aufzeichnen.

10.6 Gaschromatographische Analyse (GC)

10.6.1 Gaschromatographische Analyse mit massenspektrometrischer Detektion

10.6.1.1 Einstellungen des Gaschromatographen

Den Gaschromatographen so einstellen, dass eine ausreichende Trennung von PAK erreicht wird. Den Gaschromatographen ausgehend von den nachfolgenden üblichen Bedingungen optimieren:

- Trennsäule: Kapillarsäule, z. B. DB5 MS 30 m, Filmdicke 0,25 μm , Innendurchmesser 0,25 mm (siehe 8.2.2);
- Temperaturprogramm des Ofens: 60 °C, 2 min;
30 °C/min bis 120 °C;
5 °C/min bis 300 °C;
300 °C, 15 min;
- Injektortemperatur: 260 °C;
- Splitlose Injektion: 1 μl , Split 1,8 min geschlossen halten;
- Trägergas: Helium 0,8 ml/min bis 1 ml/min.

10.6.1.2 Massenspektrometrische Bedingungen (MS-Bedingungen)

Das Massenspektrometer nach den Anweisungen des Herstellers einstellen. Die Chromatogramme werden im Full-Scan-Modus (vollständige Abtastung) oder im Selected-Ion-Monitoring/Recording-Modus (SIM/SIR) (Modus der selektiven Ionenregistrierung) aufgenommen. Die folgenden Massenzahlen (siehe Tabelle 7) können für die quantitative Analyse im Selected-Ion-Monitoring-Modus verwendet werden.

Tabelle 7 — Diagnose-Ionen zur Identifizierung mit GC/MS nach EN ISO 22892

Verbindung	CAS-RN	Quantifier-Ion m/z	Qualifier-Ion 1 m/z	Qualifier-Ion 2 m/z
Naphthalen	91-20-3	128 (100)	102 (11)	—
Acenaphthen	83-32-9	154 (70)	153 (100)	76 (10)
Acenaphthylen	208-96-8	152 (100)	150 (3)	[76] (0)
Fluoren	86-73-7	166 (81)	165 (100)	[139] (4)
Anthracen	120-12-7	178 (100)	152 (12)	[76] (0)
Phenanthren	85-01-8	178 (100)	152 (9)	[76] (3)
Fluoranthren	206-44-0	202 (100)	200 (31)	[100] (3)
Pyren	129-00-0	202 (100)	200 (2)	[101] (4)
Benz[<i>a</i>]anthracen	56-55-3	228 (100)	226 (3)	[114] (2)
Chrysen	218-01-9	228 (100)	226 (6)	[113] (4)

Verbindung	CAS-RN	Quantifier-Ion <i>m/z</i>	Qualifier-Ion 1 <i>m/z</i>	Qualifier-Ion 2 <i>m/z</i>
Benzo[<i>b</i>]fluoranthen	205-99-2	252 (100)	250 (22)	126 (5)
Benzo[<i>k</i>]fluoranthen	207-08-9	252 (100)	250 (22)	126 (5)
Benzo[<i>a</i>]pyren	50-32-8	252 (100)	250 (18)	[113] (11)
Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyren	193-39-5	276 (100)	138 (12)	[274] (4)
Dibenz[<i>a,h</i>]anthracen	53-70-3	278 (100)	139 (9)	[276] (5)
Benzo[<i>ghi</i>]perylene	191-24-2	276 (100)	138 (12)	[274] (4)

10.6.2 Kalibrierung des Verfahrens unter Anwendung eines internen Standards

10.6.2.1 Allgemeines

Das ist ein unabhängiges Verfahren für die Bestimmung der Massenkonzentrationen und wird nicht durch Injektionsfehler, Volumen von Wasser in der Probe oder Matrixeffekte in der Probe beeinflusst, vorausgesetzt die Wiederfindungsraten der zu analysierenden Verbindungen sind etwa denen des Standards gleich.

Eine bestimmte Masse des internen Standards (10 µg) der Prüfprobe und den Kalibrierlösungen zusetzen. Die Massenkonzentration des Standards muss für die Kalibrierung und die Analyse gleich sein. Die GC-MS-Analyse mit den Kalibrierlösungen, die nach 7.5 hergestellt sind, durchführen. Nachdem eine Kalibrierkurve durch das Auftragen des Verhältnisses der Massenkonzentrationen gegen das Verhältnis der Peakflächen (oder Peakhöhen) erhalten wurde, das relative Responseverhältnis für die nativen und die deuterierten PAK nach Gleichung (2) berechnen:

$$\frac{A_n}{A_d} = s \times \frac{\rho_n}{\rho_d} + b \quad (2)$$

Dabei ist

A_n der gemessene Response des nativen PAK, z. B. Peakfläche;

A_d der gemessene Response des deuterierten PAK, z. B. Peakfläche;

s der Anstieg der Kalibrierfunktion;

ρ_n die Massenkonzentration des nativen PAK in der Kalibrierlösung, angegeben in Mikrogramm je Liter (µg/l);

ρ_d die Massenkonzentration des deuterierten PAK in der Kalibrierlösung, angegeben in Mikrogramm je Liter (µg/l);

b der Achsenabschnitt der Kalibrierkurve an der Ordinatenachse.

Es werden zwei Arten der Kalibrierung unterschieden: die Erstkalibrierung (10.6.2.2) und die Rekalibrierung (10.6.2.3). Die Rekalibrierung wird auch als tägliche Kalibrierung bezeichnet und dient als Gültigkeitsprüfung der Erstkalibrierung.

Nicht lineare Kalibrierverfahren dürfen angewendet werden.

10.6.2.2 Erstkalibrierung

Die Erstkalibrierung dient dem Festlegen des linearen Arbeitsbereichs der Kalibrierkurve. Diese Kalibrierung wird durchgeführt, wenn das Verfahren zum ersten Mal angewendet wird sowie nach einer Wartung und/oder Reparatur des Geräts.

Ein Gaschromatogramm einer Reihe von mindestens fünf Standardlösungen mit äquidistanten Konzentrationen einschließlich der Lösemittelblindlösung aufzeichnen. Die Peaks identifizieren; dafür die Chromatogramme in Anhang B und, falls erforderlich, die Chromatogramme einzelner Verbindungen heranziehen. Eine Kalibrierkurve für jede Verbindung erstellen.

Die Prüfung der Linearität erfolgt nach ISO 8466-1.

Als Arbeitsstandard diejenige Kalibrierlösung wählen, deren Konzentration am nächsten zur Mitte des linearen Bereichs liegt. Ist der Bereich der Proben niedriger als der ermittelte lineare Bereich, darf ein Arbeitsstandard mit einer niedrigeren Konzentration gewählt werden, der der Mitte des Probenbereichs entspricht.

Es ist zulässig, eine nicht lineare Kalibrierung anzuwenden, die alle fünf Standards verwendet. In diesem Fall müssen jedoch die gleichen fünf Standards für die Rekalibrierung verwendet werden und nicht die Auswahl von zwei Standards, wie nachfolgend beschrieben (siehe 10.6.2.3).

10.6.2.3 Rekalibrierung

Bei der Rekalibrierung wird die Gültigkeit des linearen Arbeitsbereichs der Erstkalibrierkurve geprüft, diese erfolgt vor jeder Probenreihe.

Für jede Probencharge mindestens zwei Kalibrierstandards mit den Konzentrationen von $(20 \pm 10) \%$ und $(80 \pm 10) \%$ des ermittelten linearen Bereichs injizieren und eine Gerade anhand dieser Messungen ermitteln. Fällt diese Gerade in den $\pm 10 \%$ -Bereich der Referenzwerte der Erstkalibrierkurve, wird die Erstkalibrierkurve als gültig angesehen. Ist dies nicht der Fall, muss eine neue Kalibrierkurve nach 10.6.2.2 ermittelt werden.

10.6.3 Messung

Die Gaschromatogramme der unter 10.4 erhaltenen Extrakte aufnehmen. Mithilfe der absoluten Retentionszeiten die Peaks identifizieren, die zur Berechnung der relativen Retentionszeiten heranzuziehen sind. Den Standard verwenden, der möglichst nah an dem quantitativ zu bestimmenden PAK-Peak liegt. Für die übrigen relevanten Peaks in den Gaschromatogramme die relativen Retentionszeiten bestimmen.

10.6.4 Identifizierung

Zur Identifizierung von PAK EN ISO 22892 anwenden.

10.6.5 Prüfung der Verfahrensleistung

Da diese Europäische Norm die Anwendung verschiedener Module zulässt, gilt der Vergleich der gemessenen Responses der internen Standards und der Injektionsstandards in der injizierten Standardlösung zur Bestimmung der Verfahrensleistung und in der injizierten Probe als Überprüfung der Leistung des Gesamtverfahrens.

Für diese Analyse

- das gleiche Endvolumen,
- das gleiche vorgegebene Volumen des internen Standards und