

DIN EN 16619

ICS 67.050

Einsprüche bis 2013-08-24

Entwurf

**Lebensmittelanalytik –
Bestimmung von Benzo[a]pyren, Benz[a]anthracen, Chrysen und
Benzo[b]fluoranthren in Lebensmitteln mit Gaschromatographie und
Massenspektrometrie (GC-MS);
Deutsche Fassung prEN 16619:2013**

Food analysis –

Determination of benzo[a]pyrene, benz[a]anthracene, chrysene and benzo[b]fluoranthene in foodstuffs by gas chromatography mass spectrometry (GC-MS);

German version prEN 16619:2013

Analyse des produits alimentaires –

Détermination de la teneur en benzo[a]pyrène, benzo[a]anthracène, chrysène et benzo[b]fluoranthène dans les produits alimentaires, par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM);

Version allemande prEN 16619:2013

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2013-06-24 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 online im Norm-Entwurfs-Portal des DIN unter www.entwuerfe.din.de 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 nal@din.de möglichst 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 in Papierform an den Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) 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 42 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 16618:2013) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-01-14 AA „Prozesskontaminanten“ im Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN.

Lebensmittelanalytik — Bestimmung von Benzo[a]pyren, Benz[a]anthracen, Chrysen und Benzo[b]fluoranthen in Lebensmitteln mit Gaschromatographie und Massenspektrometrie (GC-MS)

Analyse des produits alimentaires — Détermination de la teneur en benzo[a]pyrène, benzo[a]anthracène, chrysène et benzo[b]fluoranthène dans les produits alimentaires, par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM)

Food analysis — Determination of benzo[a]pyrene, benz[a]anthracene, chrysene and benzo[b]fluoranthene in foodstuffs by gas chromatography mass spectrometry (GC-MS)

ICS:

Deskriptoren

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

Inhalt

Seite

Vorwort	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Kurzbeschreibung	5
4 Chemikalien	6
4.1 Allgemeines	6
5 Herstellung der Standards	10
5.1 Allgemeines	10
5.2 Lösung des Injektionsstandards	10
5.3 Einzelsubstanz-Stammlösungen von nativen PAK	10
5.4 Gemischte Stammlösung aus nativen PAK	11
5.5 Gemischte Stammlösung aus mit einem stabilen Isotop markierten PAK	11
5.6 Gemischte Prozesslösung aus mit einem stabilen Isotop markierten PAK	11
5.7 Gemischte intermediäre Lösungen aus nativen PAK	11
5.8 Herstellung von gemischten PAK-Kalibrierlösungen	12
5.9 Standardlösung für die Beurteilung der chromatographischen Selektivität	13
6 Geräte	13
7 Durchführung	16
7.1 Probenbehandlung	16
7.2 Vorbereitung der Einwaage	17
7.3 Probenextraktion mittels PLE und Vorbereitung für die SEC	17
7.4 Soxhlet-Extraktion als Alternative zur PLE	18
7.5 Reinigung mittels SEC	18
7.6 Einengungsschritt nach der Reinigung mittels SEC	18
7.7 Probenvorbereitung für die Reinigung mittels SPE	18
7.8 Reinigung mittels SPE	19
7.9 Vorbereitung der Probe für die GC-MS-Analyse	19
8 GC-MS-Analyse	19
8.1 GC-MS-Betriebsbedingungen	19
8.1.1 Injektionsbedingungen für den PTV-Injektor	19
8.1.2 Injektionsbedingungen für den Split-/splitlosen Injektor	20
8.1.3 Ofenbezogene Bedingungen	20
8.1.4 Säulenbezogenen Bedingungen	20
8.1.5 Bedingungen bezüglich der Übertragungsleitung	21
8.1.6 Bedingungen bezüglich des Massenspektrometers	21
8.1.7 Erfassungsparameter des Massenspektrometers und Peakidentifizierung	21
8.2 Kalibrierkurve	22
8.3 Probenanalyse	23
9 Berechnung und Berichterstattung	24
9.1 Berechnung	24
9.2 Berichterstattung	24
10 Qualitätskontrolle	25
10.1 Allgemeines	25
10.2 Wiederfindung	25
10.3 Chromatographische Auflösung	26

10.4	Referenzmaterial für die Überprüfung der Verfahrensleistung	26
10.5	Verfahrensbezogene Blindprobe	26
10.6	Überprüfung der Standards auf Unversehrtheit	27
11	Präzisionsdaten	27
11.1	Allgemeines	27
11.2	Wiederholpräzision	27
11.3	Vergleichpräzision.....	28
12	Untersuchungsbericht	30
Anhang A (informativ) Typische Chromatogramme		31
Anhang B (informativ) Präzisionsdaten		33
Anhang C (informativ) Präzisionsdaten der Validierung durch ein einzelnes Laboratorium		38
Literaturhinweise		40

Vorwort

Dieses Dokument (prEN 16619:2013) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wurde unter einem Mandat erarbeitet, das die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelszone dem CEN erteilt haben, und unterstützt grundlegende Anforderungen der EU-Richtlinien.

Die Anhänge A, B und C sind informativ.

WARNUNG — Bei der Anwendung dieses Dokuments ist es möglich, dass gefährliche Substanzen, Arbeitsgänge und Geräte angewendet werden. Dieses Dokument erhebt nicht den Anspruch, dass alle mit seiner Anwendung verbundenen Sicherheitsprobleme angesprochen werden. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieses Dokuments, geeignete Vorkehrungen für den Arbeits- und Gesundheitsschutz zu treffen und vor der Anwendung die Anwendbarkeit einschränkender Vorschriften zu bestimmen.

1 Anwendungsbereich

Die vorliegende Europäische Norm legt ein Verfahren zur Bestimmung von 4 der 15 + 1 von der EU als prioritär eingestuft polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAK) fest, die als Ziel-PAK bezeichnet werden. Diese Verbindungen sind Benz[*a*]anthracen (BaA), Benzo[*a*]pyren (BaP), Benzo[*b*]fluoranthren (BbF) und Chrysen (CHR). Das Verfahren ermöglicht deren quantitative Bestimmung in Gegenwart der anderen 12 von der EU als prioritär eingestuft PAK (Benzo[*j*]fluoranthren (BjF), Cyclopenta[*cd*]pyren (CPP), Benzo[*k*]fluoranthren (BkF), Dibenz[*a,h*]anthracen (DhA), Benzo[*c*]fluoren (BcL), Dibenzo[*a,e*]pyren (DeP), Benzo[*ghi*]perylene (BgP), Dibenzo[*a,h*]pyren (DhP), Dibenzo[*a,i*]pyren (DiP), Dibenzo[*a,l*]pyren (DlP), Indeno[1,2,3-*cd*]pyren (IcP), 5-Methylchrysen (5MC)) in extrudiertem Weizenmehl, geräuchertem Fisch, pulverförmigem Säuglingsnahrungsmittel, Wurstbrät, gefriergetrockneten Muscheln, Speiseöl und Weizenmehl mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS). Die Extraktion von PAK aus Feststoffproben erfolgt durch beschleunigte Lösemittlextraktion (PLE). Als Alternative zur PLE kann die Soxhlet-Extraktion angewendet werden. Die Aufreinigung der Probe erfolgt unter Anwendung der folgenden Techniken in der angegebenen Reihenfolge: Größenausschlusschromatographie (en: size exclusion chromatography, SEC) und Festphasenextraktion (en: solid phase extraction, SPE).

Dieses Verfahren entspricht den in der Verordnung (EU) Nr. 836/2011 der Kommission (siehe [1]) festgelegten Leistungskenngrößen.

Das Verfahren wurde in einem Ringversuch durch die Analyse sowohl natürlich kontaminierter als auch aufgestockter Proben im Bereich von 0,5 µg/kg bis 11,9 µg/kg validiert. Die Linearität des Ansprechverhaltens des Gerätes wurde jedoch für den Konzentrationsbereich von 0,5 µg/kg bis 20 µg/kg nachgewiesen.

Zur Bestimmung von PAK in Speisefetten und -ölen stehen auch zwei andere CEN-Normen zur Verfügung, EN ISO 22959 und EN ISO 15753, hinsichtlich weiterführender Informationen siehe [2] und [3].

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, 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 ISO 3696:1995, *Wasser für analytische Laborzwecke — Spezifikation und Prüfverfahren (ISO 3696:1987)*

EN ISO 1042:1999, *Laborgeräte aus Glas — Messkolben (ISO 1042:1998)*

3 Kurzbeschreibung

Die Probe wird homogenisiert, eine Einwaage wird mit Trockenmittel, Sand und der Lösung des mit einem stabilen Isotop markierten internen Standards gemischt. Anschließend erfolgt eine Extraktion mit *n*-Hexan oder Cyclohexan mittels beschleunigter Lösemittlextraktion oder alternativ mittels Soxhlet-Extraktion. Gegebenenfalls wird das gemeinsam extrahierte Wasser von der organischen Phase des Extrakts abgetrennt. Anschließend wird der organische Extrakt durch Verdampfen auf ein kleines Volumen eingengt, filtriert und unter Verwendung einer Mischung aus Ethylacetat und Cyclohexan als Elutionsmittel mit SEC gereinigt.

Nach der SEC werden 200 µl Toluol als Rückhaltesubstanz der gesammelten SEC-Fraktion hinzugefügt. Die SEC-Fraktion wird anschließend durch Verdampfen auf etwa 200 µl eingengt und mit SPE an Kieselsäure weiter gereinigt, wobei Cyclohexan als Elutionsmittel verwendet wird. Der aufgereinigte Probenextrakt wird erneut durch Verdampfen auf etwa 200 µl eingengt. Abschließend wird vor der Messung mit GC-MS eine Injektionsstandard-Lösung zu der Probe hinzugefügt.

Die Injektion wird mit einem PTV-Injektorblock durchgeführt. Die chromatographische Trennung erfolgt an einer Kapillarsäule mittlerer Polarität mit hoher Selektivität für PAK. Die Analyte werden durch Elektronenionisation bei 70 eV ionisiert. Die Ziel-PAK werden im Modus der Einzelionenregistrierung (en: single ion monitoring, SIM) aufgezeichnet und durch Vergleich mit den mit einem stabilen Isotop markierten Analogen quantitativ bestimmt.

4 Chemikalien

4.1 Allgemeines

Sofern nicht anders festgelegt, sind nur Chemikalien von anerkannter Analysenreinheit und Wasser der Qualität 1 nach EN ISO 3696:1995 zu verwenden. Sämtliche Chemikalien und Standardlösungen müssen nach den vom Lieferanten angegebenen Festlegungen aufbewahrt werden. Die in diesem Verfahren angeführten Festlegungen für geöffnete handelsübliche Lösungen oder im Labor hergestellte Lösungen dienen der Minimierung der Verdunstung des Lösemittels und dem Schutz der Analyte (PAK) vor Abbau.

Die Standardlösungen werden gravimetrisch hergestellt. In Abhängigkeit von der gehandhabten Menge der Substanz werden für die Herstellung von Lösungen sowohl nativer als auch mit einem stabilen Isotop markierter PAK eine Mikrowaage (6.4) und/oder eine Analysenwaage (6.5) verwendet. Sämtliche Konzentrationen sind als Masse je Masseneinheit angegeben. Bei Bedarf können die als Masse je Volumeneinheit angegebenen Konzentrationen unter Anwendung der Gleichung für die Dichte (Gleichung 1) erhalten werden:

$$\rho = \frac{m}{V} \quad (1)$$

Dabei ist

ρ die Dichte, in g/ml;

m die gemessene Masse der Substanz, in g;

V das Volumen der Lösung, in ml.

Die Dichte von Toluol bei 20 °C beträgt 0,866 9 g/ml. Umfassende Informationen zur Dichte von Lösemitteln bei verschiedenen Temperaturen sind im Handbuch der Chemie und Physik, siehe [4], angeführt.

Sämtliche Lösungen und Substanzen werden bei Raumtemperatur verwendet.

WARNUNG 1 — Einige PAK werden als karzinogen angesehen. Personen, die dieses Dokument anwenden, sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieses Dokuments, Vorkehrungen zu treffen, die mit den geltenden Praktiken des Arbeits- und Gesundheitsschutzes übereinstimmen.

WARNUNG 2 — Chemikalienabfälle sind nach den geltenden Umweltschutzregeln und -bestimmungen zu entsorgen.

WARNUNG 3 — PAK werden durch UV-Licht abgebaut. PAK-Lösungen sind vor Licht zu schützen (Aufbewahrung im Dunkeln, Verwendung von Aluminiumfolie oder Glasgeräten aus Braunglas).

4.2 Helium, gereinigtes Druckgas (mit einer Reinheit von 99,995 % oder besser).

4.3 Stickstoff, gereinigtes Druckgas (mit einer Reinheit von 99,995 % oder besser).

4.4 (Di-)Natriumsulfat, (Na₂SO₄), wasserfrei, gekörnt.

4.5 Polyacrylsäure, anteilig Natriumsalz, pfropfpolymerisiert mit Polyethylenoxid, gekörnt, Teilchengröße von 90 µm bis 850 µm.

4.6 Sand, Korngröße 50 mesh bis 70 mesh.

4.7 n-Hexan

4.8 Aceton

4.9 Cyclohexan

4.10 Toluol

4.11 Ethylacetat

4.12 Elutionsmittel für die SEC.

1 Volumenteil Cyclohexan (4.9) wird mit 1 Volumenteil Ethylacetat (4.11) gemischt.

4.13 SPE-Säule

Für die Aufreinigung durch Festphasenextraktion wird eine Kieselgel-SPE-Säule verwendet. Es werden handelsübliche Kartuschen von 500 mg – 4 ml oder selbstgefüllte Kartuschen der gleichen Größe, die 500 mg aktiviertes Kieselgel enthalten, verwendet. Der Oberflächeninhalt des Kieselgels sollte etwa 500 m²/g betragen.

4.14 Referenzmaterial für die Qualitätskontrolle.

Für diesen Zweck kann ein zertifiziertes Referenzmaterial oder ein anderes geeignetes Material zur Qualitätskontrolle (z. B. übrig gebliebenes Material für Eignungsprüfungen) verwendet werden. Als Leitfaden darf der CITAC/Eurachem Guide to Quality in Analytical Chemistry, siehe [5], genutzt werden.

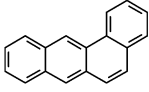
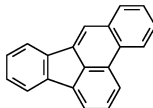
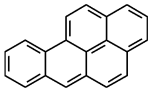
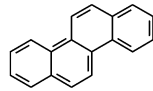
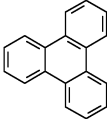
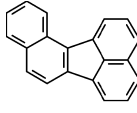
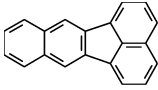
Dieses Material ist mit jeder Probencharge zu analysieren und zur Kontrolle der Verfahrensleistung im Zeitverlauf zu verwenden (siehe 10.4).

4.15 Native Referenzsubstanzen — handelsübliches unverdünntes Material oder Lösungen von PAK.

Die Auflistung der mit diesem Verfahren analysierten nativen Substanzen ist in Tabelle 1 angeführt. Die Ziel-Analyte sind fett gedruckt angegeben. Handelsübliche, vorzugsweise zertifizierte, Standardlösungen sind aufgrund des höheren Maßes an Sicherheit bei der Handhabung vorzuziehen.

Triphenylen, Benzo[*j*]fluoranthren und Benzo[*k*]fluoranthren überlagern sich möglicherweise mit den Ziel-Analyten und werden deshalb für die Bewertung der Selektivität verwendet.

Tabelle 1 — Namen und Strukturen der nativen PAK

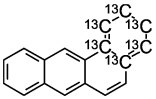
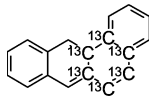
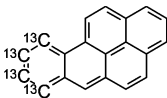
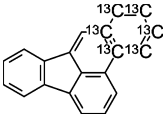
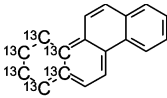
Name ^a	CAS-Nummer	Struktur	Name ^a	CAS-Nummer	Struktur
Benz[a]anthracen (BaA)	56-55-3	 Bild 1	Benzo[b]fluoranthen (BbF)	205-99-2	 Bild 2
Benzo[a]pyren (BaP)	50-32-8	 Bild 3	Chrysen (CHR)	218-01-9	 Bild 4
Triphenylen (TRP)	217-59-4	 Bild 5	Benzo[j]fluoranthen (BjF)	205-82-3	 Bild 6
Benzo[k]fluoranthen (BkF)	207-08-9	 Bild 7			
^a Das Akronym ist in Klammern angegeben, die Ziel-Analyte sind fett gedruckt.					

4.16 Mit einem stabilen Isotop markierte Referenzstandards in Form handelsüblicher Lösungen mit einem stabilen Isotop markierten PAK.

Die für die quantitative Bestimmung der Ziel-PAK verwendeten, mit einem stabilen Isotop markierten Analoge sind in Tabelle 2 aufgeführt. Die in der Validierungsstudie mittels eines Ringversuchs verwendeten handelsüblichen Lösungen enthielten mit einem stabilen Isotop markierte PAK in Nonan in einer Konzentration von etwa 100 µg/kg.

Alternativ zu mit ¹³C markierten Substanzen dürfen deuterierte Analoge der Ziel-Analyte verwendet werden. Die Konzentrationen dieser Lösungen sollten den Konzentrationen ähnlich sein, die für die ¹³C-markierten PAK-Lösungen festgelegt sind.

Tabelle 2 — Namen und Strukturen von mit ^{13}C markierten PAK

Name	CAS-Nummer	Struktur
Benz[<i>a</i>]anthracen- $^{13}\text{C}_6$	nicht verfügbar	 und  Bild 8
Benzo[<i>a</i>]pyren- $^{13}\text{C}_4$	nicht verfügbar	 Bild 9
Benzo[<i>b</i>]fluoranthren- $^{13}\text{C}_6$	nicht verfügbar	 Bild 10
Chrysen- $^{13}\text{C}_6$	nicht verfügbar	 Bild 11

Die Wiederfindungsrate des Verfahrens wird auf der Grundlage der mit einem stabilen Isotop markierten Standards berechnet. Deren physikalisch-chemische Eigenschaften werden denen der nativen PAK als gleichwertig angesehen. In Tabelle 3 ist die Übereinstimmung zwischen jedem nativen PAK und dem mit einem stabilen Isotop markierten Analog, dass zu dessen quantitativer Bestimmung verwendet wird, aufgezeigt.

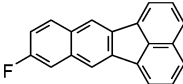
Table 3 — Übereinstimmung der mit einem stabilen Isotop markierten PAK und der nativen PAK

Mit einem stabilen Isotop markierte PAK	Native PAK ^a
Benz[<i>a</i>]anthracen $^{13}\text{C}_6$	Benz[<i>a</i>]anthracen (BaA)
Benzo[<i>a</i>]pyren $^{13}\text{C}_4$	Benzo[<i>a</i>]pyren (BaP)
Benzo[<i>b</i>]fluoranthren $^{13}\text{C}_6$	Benzo[<i>b</i>]fluoranthren (BbF)
Chrysen $^{13}\text{C}_6$	Chrysen (CHR)
^a Das Akronym ist in Klammern angegeben.	

4.17 9-Fluorbenzo[k]fluoranthren, unverdünnt oder in Form einer handelsüblichen Lösung.

9-Fluorbenzo[k]fluoranthren (FBkF) wird als Injektionsstandard verwendet und vor der Injektion in das GC-MS-Gerät zu dem Probenextrakt hinzugefügt. Es dürfen sowohl unverdünntes Material als auch handelsübliche Lösungen verwendet werden. Die Konzentration einer handelsüblichen Lösung liegt vorzugsweise bei 100 µg/kg in Toluol.

Tabelle 4 — Name und Struktur des Injektionsstandards

Name ^a	CAS-Nummer	Struktur
9-Fluorbenzo[k]fluoranthren (FBkF)	113600-15-0	 Bild 12
^a Das Akronym ist in Klammern angegeben.		

5 Herstellung der Standards

5.1 Allgemeines

Sämtliche Standardlösungen werden gravimetrisch hergestellt. Die Leermassen (Eigenmassen) sämtlicher Behälter und die Massen nach jedem Herstellungsschritt werden aufgezeichnet und zur Berechnung der Konzentrationen der Standards verwendet.

Standardlösungen dürfen aus unverdünnten Materialien, handelsüblichen Lösungen einzelner Substanzen oder handelsüblichen Mischungen hergestellt werden. Die Verträglichkeit der Lösemittel der handelsüblichen Lösungen mit Toluol muss jedoch berücksichtigt werden.

Vorzugsweise sollte zur Herstellung der intermediären Standardlösung (5.7) und der Kalibrierstandardlösungen (5.8) eine handelsübliche gemischte PAK-Standardlösung verwendet werden. Die Konzentration dieser Lösung muss die gleiche Größenordnung aufweisen wie die gemischte PAK-Stammlösung (5.4).

5.2 Lösung des Injektionsstandards

Es wird eine Lösung von FBkF (4.17) in Toluol (4.10) mit einer Konzentration von etwa 400 ng/g hergestellt. Die Umrechnung der Masse-je-Masse-Einheiten (ng/g) in Masse-je-Volumen-Einheiten (ng/ml) erfolgt anhand der Gleichung für die Dichte (Gleichung 1). Für Toluol wird ein Dichtewert von 0,866 9 g/ml angewendet.

Diese Lösung wird zum Aufstocken des Probenextrakts vor der Messung mit GC-MS verwendet (siehe 7.9), um die Wiederfindungsrate von einem stabilen Isotop markierten PAK abzuschätzen.

Diese Lösung ist im Dunkeln bei einer Temperatur von weniger als 10 °C aufzubewahren. Eine auf diese Weise aufbewahrte Lösung ist mindestens sechs Monate stabil. Wenn eine längere Stabilität nachgewiesen ist, kann die Lösung weiterhin verwendet werden.

5.3 Einzelsubstanz-Stammlösungen von nativen PAK

Falls für die Herstellung der Kalibriermittel unverdünnte Referenzmaterialien verwendet werden, muss für jeden der in Tabelle 1 aufgeführten nativen PAK eine Lösung in Toluol (4.10) mit einer Konzentration im Bereich von 50 µg/g bis 150 µg/g hergestellt werden. Diese einzelnen Standard-Stammlösungen werden durch Einwägen von 1 mg bis 5 mg jeder unverdünnten Substanz in Glaszylinder zum Einwägen (6.1) unter Anwendung einer Mikrowaage (6.4) hergestellt. Der Glaszylinder zum Einwägen (6.1) wird mit einer Pinzette in einen

100-ml-Messkolben aus Braunglas (6.2) überführt. Es werden etwa 40 ml Toluol hinzugefügt und mit einer Analysenwaage (6.5) gewogen. Andere Behälter aus Braunglas dürfen eingesetzt werden, vorausgesetzt, die Verdunstung des Lösemittels wird während der Herstellung des Standards minimiert. Jeder Kolben ist für ein paar Minuten mit Ultraschall zu behandeln, um ein vollständiges Lösen der nativen PAK im Lösemittel zu erreichen.

Sobald die Lösungen homogen sind, werden sie zur Aufbewahrung in 40-ml-Braunglasfläschchen (6.3) überführt. Diese Lösungen werden zur Herstellung der gemischten PAK-Stammlösung (5.4) und schließlich der Kalibrierlösungen (siehe 5.8) verwendet.

Diese Lösungen sind im Dunkeln bei einer Temperatur von weniger als 10 °C aufzubewahren. Eine auf diese Weise aufbewahrte Lösung ist mindestens 12 Monate stabil. Wenn eine längere Stabilität nachgewiesen ist, kann die Lösung weiterhin verwendet werden.

5.4 Gemischte Stammlösung aus nativen PAK

Aus den Einzelsubstanz-Stammlösungen der nativen PAK (5.3) wird eine Lösung in Toluol (4.10) mit einer Konzentration von etwa 2 µg/g hergestellt. Zu diesem Zweck werden sowohl die einzelnen Standard-Stammlösungen (5.3) als auch das Toluol (4.10) mit einer Analysenwaage (6.5) eingewogen.

Die Lösung wird zur Herstellung der gemischten intermediären Lösungen der nativen PAK (5.7) und schließlich der Kalibrierstandards (siehe 5.8) verwendet.

Diese Lösung ist im Dunkeln bei einer Temperatur von weniger als 10 °C aufzubewahren. Eine auf diese Weise aufbewahrte Lösung war nachweislich mindestens 12 Monate stabil. Wenn eine längere Stabilität nachgewiesen ist, kann die Lösung weiterhin verwendet werden.

5.5 Gemischte Stammlösung aus mit einem stabilen Isotop markierten PAK

Aus den einzelnen Lösungen der in Tabelle 2 aufgeführten, mit einem stabilen Isotop markierten PAK (4.16) wird eine Lösung in Toluol (4.10) mit einer Konzentration von etwa 700 ng/g hergestellt. Für diesen Zweck wird eine Analysenwaage verwendet.

Die Lösung wird zur Herstellung der gemischten Prozesslösung mit einem stabilen Isotop markierten PAK (5.6) verwendet.

Diese Lösung ist im Dunkeln bei einer Temperatur von weniger als 10 °C aufzubewahren. Eine auf diese Weise aufbewahrte Lösung ist mindestens 12 Monate stabil. Wenn eine längere Stabilität nachgewiesen ist, kann die Lösung weiterhin verwendet werden.

5.6 Gemischte Prozesslösung aus mit einem stabilen Isotop markierten PAK

Aus der gemischten Stammlösung mit einem stabilen Isotop markierten PAK (5.5) wird eine Lösung in Toluol (4.10) mit einer Konzentration von etwa 150 ng/g hergestellt. Diese Konzentration wird durch Zugabe von 4,5 ml der gemischten Stammlösung mit einem stabilen Isotop markierten PAK (5.5) zu 16 ml Toluol (4.10) erhalten. Die genauen Mengen der beiden Bestandteile werden gravimetrisch mit einer Analysenwaage (6.5) bestimmt.

Diese Lösung wird zum Aufstocken der Einwaage verwendet (siehe 7.2).

Diese Lösung ist im Dunkeln bei einer Temperatur von weniger als 10 °C aufzubewahren. Eine auf diese Weise aufbewahrte Lösung ist mindestens sechs Monate stabil. Wenn eine längere Stabilität nachgewiesen ist, kann die Lösung weiterhin verwendet werden.

5.7 Gemischte intermediäre Lösungen aus nativen PAK

Aus der gemischten PAK-Stammlösung (5.4) werden durch Verdünnung in Toluol (4.10) die intermediären Lösungen hergestellt, die für die Kalibrierung verwendet werden.

Diese Lösungen werden zur Herstellung der Kalibrierstandards verwendet (siehe 5.8).