

DIN EN 17503



ICS 13.030.01; 13.080.10

Entwurf

Einsprüche bis 2020-07-15
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN 15527:2008-09 und
DIN EN 16181:2019-08

**Feststoffe in der Umwelt –
Bestimmung von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK)
mittels Gaschromatographie (GC) und
Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC);
Deutsche und Englische Fassung prEN 17503:2020**

Environmental solid matrices –

Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) by gas chromatography (GC) and high performance liquid chromatography (HPLC);
German and English version prEN 17503:2020

Matrices solides environnementales –

Determination des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) par chromatographie en phase gazeuse (GC) et chromatographie liquide à haute performance (HPLC);
Version allemande et anglaise prEN 17503:2020

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2020-05-15 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 oder Saatwinkler Damm 42/43, 13627 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 111 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17503:2020) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 444 „Prüfverfahren für die umweltbezogene Charakterisierung fester Matrices“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NEN (Niederlande) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 119-01-02-02-05 AK „Organische Analytik“ 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 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

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

Änderungen

Gegenüber DIN EN 15527:2008-11 und DIN EN 16181:2019-08 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) die Inhalte von DIN EN 15527:2008-11 und DIN EN 16181:2019-08 wurden zusammengeführt und somit der Anwendungsbereich erweitert;
- b) unter Berücksichtigung der verschiedenen Matrices enthält dieses Dokument nicht eine einzige mögliche Arbeitsweise. Es sind unterschiedliche Reinigungs- und Extraktionsverfahren beschrieben;
- c) die Bestimmung von PAK ist durch GC-MS-Detektion als auch mit HPLC-DAD-UV/FLD beschrieben.

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*

Feststoffe in der Umwelt — Bestimmung von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) mittels Gaschromatographie (GC) und Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)

Matrices solides environnementales — Détermination des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) par chromatographie en phase gazeuse (GC) et chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Environmental solid matrices — 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 2.10b

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung	9
5 Störungen	9
5.1 Störungen bei Probenahme und Extraktion	9
5.2 Störungen bei der GC-MS	9
5.3 Störungen bei der HPLC	10
6 Sicherheitshinweise	10
7 Reagenzien	11
7.1 Allgemeines	11
7.2 Reagenzien für die Extraktion	11
7.3 Reagenzien für die Reinigung	11
7.3.1 Reinigung A mit Aluminiumoxid	11
7.3.2 Reinigung B mit Kieselgel 60 für Säulenchromatographie	11
7.3.3 Reinigung C mit Gelpermeationschromatographie (GPC)	12
7.4 Reagenzien für die chromatographische Analyse	12
7.4.1 GC-Analyse	12
7.4.2 HPLC-Analyse	12
7.5 Standards	12
7.5.1 Allgemeines	12
7.5.2 Kalibriersubstanzen und interne Standards	13
7.5.3 Injektionsstandard	14
7.6 Herstellung der Standardlösungen	14
7.6.1 Allgemeines	14
7.6.2 Herstellung der Kalibrierstandardlösungen für die GC-MS	14
7.6.3 Herstellung der internen Standardlösung für die GC-MS	14
7.6.4 Herstellung der Injektionsstandardlösung für die GC-MS	15
7.6.5 Herstellung der Kalibrierstandardlösungen für die HPLC	15
7.6.6 Herstellung der Extraktionsstandardlösung für die HPLC	15
8 Geräte	15
8.1 Extraktions- und Reinigungsverfahren	15
8.2 Gaschromatograph	16
8.2.1 Allgemeines	16
8.2.2 Kapillarsäulen	16
8.3 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatograph (HPLC-System)	16
8.3.1 Allgemeines	16
8.3.2 Analytische Trennsäule	17
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: Aceton/hexanähnliches Lösemittel und Schütteln oder Beschallen	20
10.2.3	Extraktionsverfahren 2: Soxhlet-Extraktion	20
10.2.4	Extraktionsverfahren 3: Hochdruck-Flüssigextraktion (PLE).....	20
10.2.5	Extraktionsverfahren 3: Aceton/hexanähnliches Lösemittel/Natriumchlorid und Schütteln.....	21
10.3	Einengen	21
10.3.1	Allgemeines	21
10.3.2	Für die HPLC-Analyse.....	22
10.4	Reinigung des Extrakts.....	22
10.4.1	Allgemeines	22
10.4.2	Reinigungsverfahren A – Aluminiumoxid	23
10.4.3	Reinigungsverfahren B – Kieselgel	23
10.4.4	Reinigung C – Gelpermeationschromatographie	24
10.5	Zugabe des Injektionsstandards.....	24
10.6	GC-MS-Analyse (GC-MS).....	24
10.6.1	Einstellungen des Gaschromatographen	24
10.6.2	Massenspektrometrische Bedingungen (MS-Bedingungen)	25
10.6.3	Kalibrierung des Verfahrens mithilfe eines internen Standards	26
10.6.4	Messung	27
10.6.5	Identifizierung.....	27
10.6.6	Überprüfung der Verfahrensleistung	27
10.6.7	Berechnung.....	29
10.7	Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC).....	29
10.7.1	Allgemeines	29
10.7.2	Einstellung des HPLC-Systems.....	29
10.7.3	Detektion	30
10.7.4	Kalibrierung.....	31
10.7.5	Messung	31
10.7.6	Berechnung.....	32
11	Verfahrenskennndaten.....	32
12	Präzision.....	32
13	Prüfbericht.....	33
Anhang A (informativ)	Daten zur Wiederhol- und Vergleichpräzision.....	34
A.1	Für den Ringversuch verwendete Materialien.....	34
A.2	Ergebnisse des Ringversuchs	34
Anhang B (informativ)	Beispiele für Chromatogramme und gerätetechnische Bedingungen.....	41
B.1	Messung von PAK mittels GC-MS.....	41
B.2	Messung von PAK mittels HPLC-Fluoreszenz.....	47
B.3	Beispielbedingungen für die Messung von PAK mittels GC-MS/MS.....	51
Literaturhinweise.....		53

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17503:2020) 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 EN 15527:2008 und EN 16181:2018 ersetzen.

Einleitung

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

Dieses Dokument entstand aus der Zusammenführung der Norm EN 16181:2018 [1], die ursprünglich als Technische Spezifikation des CEN im Rahmen des europäischen Projekts „HORIZONTAL“ erarbeitet und von CEN/TC 400 mit Unterstützung der BAM validiert wurde, und der Norm EN 15527 [2], die von CEN/TC 292 veröffentlicht wurde.

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

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

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

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

WARNUNG — Personen, die dieses Dokument anwenden, sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Dieses Dokument erhebt nicht den Anspruch, auf alle Sicherheitsprobleme hinzuweisen, die gegebenenfalls mit der Anwendung des Dokuments verbunden sind. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, angemessene Sicherheits- und Schutzmaßnahmen zu treffen und sicherzustellen, dass die nationalen gesetzlichen Rahmenbedingungen erfüllt werden.

WARNUNG — Es ist unbedingt erforderlich, dass für die Durchführung von Prüfungen nach diesem Dokument entsprechend geschultes Fachpersonal eingesetzt wird.

1 Anwendungsbereich

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

Bei Anwendung der Fluoreszenzdetektion kann Acenaphthylen nicht gemessen werden.

Tabelle 2 — Zielanalyte dieses Dokuments

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

^a CAS-RN Chemical Abstracts Service Registry Number.

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

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

Schlamm, Abfall und behandelter Bioabfall können sich in Bezug auf ihre Eigenschaften sowie auf die erwarteten PAK-Kontaminationsniveaus und das Vorhandensein von Störsubstanzen unterscheiden. Aufgrund dieser Unterschiede ist es unmöglich, ein allgemeines Verfahren darzulegen. Dieses Dokument enthält Entscheidungstabellen, die auf den Eigenschaften der Probe und den anzuwendenden Extraktions- und Reinigungsverfahren basieren.

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

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

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

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

ISO 8466-1, *Water quality — Calibration and evaluation of analytical methods 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*

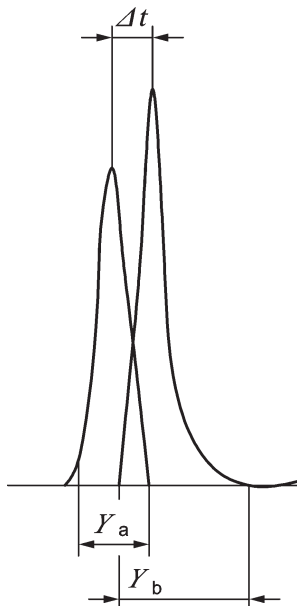
3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

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

- IEC Electropedia: verfügbar unter <http://www.electropedia.org/>
- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <http://www.iso.org/obp>

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



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

Dabei ist

R die Peaktrennung;

Δt die Differenz zwischen den Retentionszeiten der beiden Peaks a und b in Sekunden (s);

Y_a die Peakbreite an der Basis von Peak a in Sekunden (s);

Y_b die Peakbreite an der Basis von Peak b in Sekunde (s).

Bild 1 — Beispiel eines Chromatogramms eines kritischen Paares

3.2 interner Standard

isotopenmarkierter, zumeist deuterierter PAK oder nativer PAK, der wahrscheinlich nicht in der Probe vorliegt, den Proben vor der Extraktion zugesetzt wird und für die quantitative Bestimmung des PAK-Gehalts verwendet wird

3.3 Injektionsstandard

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

3.4 Extraktionsstandard

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

3.5

Sediment

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

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

4 Kurzbeschreibung

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

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

Der Extrakt wird durch Verdampfung eingeengt. Falls erforderlich, wird vor dem Einengen ein für die jeweilige Matrix geeignetes Reinigungsverfahren angewendet, um Störverbindungen zu entfernen.

Falls für die HPLC-Analyse ein Lösemittelaustausch erforderlich ist, wird der konzentrierte Extrakt von einem geeigneten, weniger flüchtigen und mit Wasser mischbaren polaren Lösemittel aufgenommen, wobei die unpolaren Extraktreste entfernt werden.

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

Bei der GC-MS erfolgt die Identifizierung und Quantifizierung von PAK durch einen Vergleich der relativen Retentionszeiten und relativen Peakhöhen (oder Peakflächen) mit denen der zugesetzten internen Standards, bei der HPLC werden die entsprechenden Variablen der Extraktionsstandardlösungen verwendet. 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 des Kontakts nicht beeinträchtigen. Kunststoffe und andere organische Materialien bei der Probenahme, Probenlagerung und Extraktion vermeiden. Die Proben vor direkter Sonneneinstrahlung und längerer Lichteinwirkung schützen.

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

5.2 Störungen bei der GC-MS

Substanzen, die mit 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. Asymmetrische 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 Quantifizierung mittels massenselektiver Detektion vorgenommen werden. Tritt eine unvollständige Auflösung auf, muss die Peakintegration geprüft und, falls erforderlich, korrigiert werden.

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

5.3 Störungen bei der HPLC

Substanzen, bei denen Fluoreszenz oder Quenching (Löschung der Fluoreszenz) zu beobachten ist und die mit den zu bestimmenden PAK 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. Asymmetrische Peaks und Peaks, die breiter als die entsprechenden Peaks der Referenzsubstanzen sind, deuten auf Störungen hin. Dieses Problem kann bei Naphthalen und Phenanthren in Abhängigkeit von der Selektivität der verwendeten Phasen auftreten.

Eine unvollständige Entfernung der für die Probenextraktion und -reinigung verwendeten Lösemittel kann zu einer geringen Vergleichspräzision der Retentionszeiten und breiteren oder doppelten Peaks führen, insbesondere bei 2- und 3-Ring-PAK. Bei der HPLC-Analyse müssen die Extrakte in ausreichendem Maße mit Acetonitril verdünnt werden, um Störungen bei der Bestimmung von Naphthalen und 3-Ring-PAK durch einen breiten Toluol-Peak zu vermeiden.

Üblicherweise wird Perylen von Benzo[*b*]fluoranthen nicht vollständig entfernt, der Perylen-Peak kann jedoch durch die Auswahl einer selektiven Wellenlänge unterdrückt werden.

6 Sicherheitshinweise

Bestimmte PAK sind hochkarzinogen; mit diesen Substanzen muss besonders vorsichtig umgegangen werden. Den Kontakt mit Feststoffen, Lösemittelextrakten und PAK-Standardlösungen vermeiden. Jegliche Berührung mit den Standardlösungen sollte vermieden werden. Es wird dringend empfohlen, die Standardlösungen zentral in entsprechend ausgestatteten Labors herzustellen oder von Lieferanten zu beziehen, die auf deren Herstellung spezialisiert sind.

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

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

Aufgrund der neurotoxischen Eigenschaften von Hexan müssen beim Umgang mit dieser Substanz geeignete Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden.

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

7 Reagenzien

7.1 Allgemeines

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

7.2 Reagenzien für die Extraktion

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

7.2.2 Toluol, C_7H_8 .

7.2.3 Petrolether, Siedebereich 40 °C bis 60 °C

Hexanähnliche Lösemittel mit einem Siedebereich zwischen 40 °C und 98 °C sind zulässig.

7.2.4 Natriumsulfat, Na_2SO_4 .

Das wasserfreie Natriumsulfat muss sorgfältig verschlossen aufbewahrt werden.

7.2.5 Destilliertes Wasser oder Wasser gleichwertiger Qualität, H_2O .

7.2.6 Natriumchlorid, NaCl

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

7.3 Reagenzien für die Reinigung

7.3.1 Reinigung A mit Aluminiumoxid

7.3.1.1 Aluminiumoxid, Al_2O_3

Basisch oder neutral, spezifische Oberfläche 200 m²/g, Aktivität Super I [11].

7.3.1.2 Deaktiviertes Aluminiumoxid

Deaktiviert mit etwa 10 % Wasser.

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

ANMERKUNG 1 Die Aktivität hängt vom Wassergehalt ab. Es kann erforderlich sein, den Wassergehalt anzupassen.

ANMERKUNG 2 Es können auch handelsübliche Aluminiumoxide mit einem Wassergehalt von 10 % (Massenanteil) verwendet werden.

7.3.2 Reinigung B mit Kieselgel 60 für Säulenchromatographie

7.3.2.1 Kieselgel 60, Korngröße 63 µm bis 200 µm

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

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

7.3.3 Reinigung C mit Gelpermeationschromatographie (GPC)

7.3.3.1 Bio-Beads® S-X3

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

7.3.3.2 Ethylacetat (Essigsäureethylester), C₄H₈O₂

7.3.3.3 Cyclohexan, C₆H₁₂

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

7.4 Reagenzien für die chromatographische Analyse

7.4.1 GC-Analyse

7.4.1.1 Trägergas für die GC-MS

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

7.4.2 HPLC-Analyse

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

7.4.2.2 Reinstwasser, HPLC-Reinheitsgrad.

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

7.5 Standards

7.5.1 Allgemeines

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

7.5.2 Kalibriersubstanzen und interne Standards

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

Tabelle 3 — Native PAK und deuterierte PAK

PAK-Referenzsubstanzen		Substanzen interner Standards (deuterierte PAK)	
Naphthalen	(CAS-RN 91-20-3)	Naphthalen-d8	(CAS-RN 1146-65-2)
Acenaphthen	(CAS-RN 83-32-9)	Acenaphthen-d10	(CAS-RN 15067-26-2)
Acenaphthylen	(CAS-RN 208-96-8)	Acenaphthylen-d8	(CAS-RN 93951-97-4)
Fluoren	(CAS-RN 86-73-7)	Fluoren-d10	(CAS-RN 81103-79-9)
Anthracen	(CAS-RN 120-12-7)	Anthracen-d10	(CAS-RN 1719-06-8)
Phenanthren	(CAS-RN 85-01-8)	Phenanthren-d10	(CAS-RN 1517-22-2)
Fluoranthren	(CAS-RN 206-44-0)	Fluoranthren-d10	(CAS-RN 93951-69-0)
Pyren	(CAS-RN 129-00-0)	Pyren-d10	(CAS-RN 1718- 52-1)
Benz[<i>a</i>]anthracen	(CAS-RN 56-55-3)	Benz[<i>a</i>]anthracen-d12	(CAS-RN 1718-53-2)
Chrysen	(CAS-RN 218-01-9)	Chrysen-d12	(CAS-RN 1719-03-5)
Benzo[<i>b</i>]fluoranthren	(CAS-RN 205-99-2)	Benzo[<i>b</i>]fluoranthren-d12	(CAS-RN 93951-98-5)
Benzo[<i>k</i>]fluoranthren	(CAS-RN 207-08-9)	Benzo[<i>k</i>]fluoranthren-d12	(CAS-RN 93952-01-3)
Benzo[<i>j</i>]fluoranthren ^a	(CAS-RN-205-82-3)		
Benzo[<i>a</i>]pyren	(CAS-RN 50-32-8)	Benzo[<i>a</i>]pyren-d12	(CAS-RN 63466-71-7)
Benzo[<i>e</i>]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[<i>a,h</i>]anthracen	(CAS-RN 53-70-3)	Dibenz[<i>a,h</i>]anthracen-d14	(CAS-RN 13250-98-1)
Benzo[<i>ghi</i>]perylene	(CAS-RN 191-24-2)	Benzo[<i>ghi</i>]perylene-d12	(CAS-RN 93951-66-7)
^a Gehört nicht zu den 16 Zielanalyten, ist jedoch zur Überprüfung der Auflösung anhand der Abtrennung von Benzo[<i>a</i>]pyren bei den GC-Messungen anwendbar			

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

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

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

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

7.5.3 Injektionsstandard

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

7.6 Herstellung der Standardlösungen

7.6.1 Allgemeines

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

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

Die Arbeitsstandardlösungen müssen dasselbe Lösemittel enthalten wie der Extrakt.

Die primäre und die verdünnte Standardlösung an einem dunklen Ort bei einer Temperatur von $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ lagern. Die Lösungen sind mindestens ein Jahr lang stabil, sofern die Verdunstung des Lösemittels vernachlässigbar ist.

Die Komponenten von Standardlösungsgemischen sollten durch die verwendeten Chromatographiesäulen getrennt werden.

7.6.2 Herstellung der Kalibrierstandardlösungen für die GC-MS

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

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

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

7.6.3 Herstellung der internen Standardlösung für die GC-MS

Eine konzentrierte primäre interne Standardlösung, die mindestens vier verschiedene Komponenten (7.5.2, Tabelle 3, rechte Spalte) enthält, mit einer Konzentration von etwa 0,4 mg/ml in einem der für die Extraktion verwendeten Lösemittel (Liste der geeigneten Lösemittel in Tabelle 4) herstellen. Dazu etwa 10 mg jedes ausgewählten internen Standards mit einer Genauigkeit von 0,1 mg abwägen und in 25 ml hexanähnlichem Lösemittel auflösen. Daraus eine sekundäre interne Standardlösung herstellen, die so konzentriert ist, dass die hinzugefügte Menge einen Peak mit einer messbaren Peakfläche oder Peakhöhe im Chromatogramm (mindestens das 10-Fache der Nachweisgrenze) erzeugt.

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

7.6.4 Herstellung der Injektionsstandardlösung für die GC-MS

Eine konzentrierte primäre Injektionsstandardlösung, die mindestens eine Verbindung (7.5.3) enthält, mit einer Konzentration von etwa 0,4 mg/ml in einem geeigneten Lösemittel – wie das für den Extrakt verwendete – herstellen. Dazu etwa 10 mg des ausgewählten Injektionsstandards mit einer Genauigkeit von 0,1 mg abwägen und in 25 ml auflösen. Daraus eine sekundäre interne Lösung herstellen, die so konzentriert ist, dass die hinzugefügte Menge einen Peak mit einer messbaren Peakfläche oder Peakhöhe im Chromatogramm (mindestens das 10-Fache der Nachweisgrenze) erzeugt.

7.6.5 Herstellung der Kalibrierstandardlösungen für die HPLC

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

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

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

7.6.6 Herstellung der Extraktionsstandardlösung für die HPLC

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

8 Geräte

8.1 Extraktions- und Reinigungsverfahren

8.1.1 Allgemeines

Übliche Laborgeräte aus Glas.

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

8.1.2 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.

8.1.3 Schüttelvorrichtung, mit horizontaler Bewegung (200 Hübe bis 300 Hübe je min) oder ein Überkopfschüttler.

8.1.4 Wasserbad, auf bis zu 100 °C einstellbar

8.1.5 Scheidetrichter mit geeignetem Volumen

8.1.6 Erlenmeyerkolben mit geeignetem Volumen

8.1.7 Soxhlet-Extraktionsgerät, 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

8.1.8 Verdampfer, nach Kuderna-Danish

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

8.1.9 Siedesteinchen, Glas- oder Porzellanperlen.

8.1.10 Quarzwolle oder silanisierte Glaswolle

WARNUNG — Bei der Arbeit mit Quarzwolle besteht ein Gesundheitsrisiko durch die Freisetzung feiner Quarzpartikel. Das Einatmen dieser Partikel sollte durch die Nutzung eines Abzugs und das Tragen einer Staubschutzmaske verhindert werden.

8.1.11 Graduierte Reagenzgläser, mit einem Nennvolumen von 10 ml bis 15 ml und einem Schliffstopfen aus Glas.

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

8.1.13 Beschallungsgerät

8.1.14 PLE-System (Hochdruck-Flüssigextraktionssystem), für die Extraktion der Analyte aus der festen Matrix mittels einer Kombination aus erhöhter Temperatur, erhöhtem Druck und flüssigen Lösemitteln

8.2 Gaschromatograph

8.2.1 Allgemeines

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

8.2.2 Kapillarsäulen

Kapillarsäulen mit geringem oder mittlerem Durchfluss, z. B. Kapillarsäulen aus Quarzglas, beschichtet mit einer stationären Phase aus 5 % Phenyl-Methylsilicon, oder gleichwertige Säulen mit chemisch gebundener Phase.

Deren Abmessungen sollten ausreichend für die Trennung der in 5.2 angegebenen kritischen Paare sein. Im Allgemeinen beträgt die Säulenlänge 25 m bis 60 m, der Innendurchmesser 0,18 mm bis 0,325 mm und die Filmdicke 0,1 µm bis 0,5 µm.

8.3 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatograph (HPLC-System)

8.3.1 Allgemeines

Ein HPLC-System, das entsprechend den Anforderungen mit einem System für die Detektion durch ultraviolette Strahlung (UV-Strahlung) und die Fluoreszenzdetektion (FD) sowie einem Datenauswertungssystem ausgestattet ist, einschließlich:

- Entgasungseinheit, z. B. zur Entgasung mittels Vakuum oder Helium;
- analytische Pumpen, die binäre Gradientenelution ermöglichen;
- Säulenthermostat, der in der Lage ist, die Temperatur auf $\pm 0,5$ °C konstant zu halten;
- 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 einen Monat lang gelagert werden. Bodenproben müssen nach ISO 18512 gelagert werden.

Während der Probenlagerung können infolge einer Adsorption in die Behälterwände PAK-Verluste auftreten. Der Umfang der Verluste hängt von der Lagerungszeit ab.

9.2 Probenvorbehandlung

Sofern keine anderweitigen Festlegungen bestehen, die Proben einer geeigneten Vorbehandlung nach EN 16179 (Schlamm, Bioabfall und Boden) oder EN 15002 (Abfall) unterziehen. Dabei die in Tabelle 4 festgelegten spezifischen Trocknungsverfahren zur Herstellung von Prüfungsproben beachten.

Falls für die Extraktion die Soxhlet- oder PLE-Technik angewendet wird, ist eine vollständige Trocknung der Probe unbedingt erforderlich. Eine vollständige Trocknung wird ebenfalls empfohlen, falls die Probe über einen langen Zeitraum gelagert werden muss.

Tabelle 4 — Trocknungsverfahren für Proben unterschiedlicher Matrices für anschließende PAK-Analysen

Matrix	Trocknungsverfahren		
	Gefriertrocknung (EN ISO 16720)	Na ₂ SO ₄	Keine Trocknung
Schlamm	x ^a	x ^b	
Bioabfall (Kompost, Mischabfall)	x	x	x
Boden Sediment	x	x	x
Abfall	x	x	x
^a Der Verlust flüchtiger PAK ist möglich. ^b Zur Konservierung von hygroskopischem getrocknetem Schlamm kann Na ₂ SO ₄ verwendet werden.			

Zur Herstellung einer homogenen und repräsentativen Messprobe ist möglicherweise eine Verringerung der Korngröße in einem oder mehreren Schritten notwendig. Die Auswahl des Verfahrens ist abhängig von der Beschaffenheit der Probe und der erforderlichen Korngröße. Typischerweise handelt es sich bei der Verringerung der Korngröße um einen mehrstufigen Vorgang, bei dem eine Reihe verschiedener Verfahren wie Zerstoßen, Zerspanen oder Mahlen angewendet wird.

Zum Mahlen von Proben mit einer plastischen oder pastösen Konsistenz sind eine Versprödung unter Verwendung von flüssigem Stickstoff und eine Verringerung der Korngröße auf weniger als 0,5 mm, z. B. mithilfe einer Ultra-Zentrifugalmühle, erforderlich.

10 Durchführung

10.1 Blindwertbestimmung

Eine Blindwertbestimmung nach dem angewendeten Verfahren (ausgewähltes Extraktions- und Reinigungsverfahren) durchführen, wobei die gleiche Menge an Reagenzien verwendet wird, die für die Vorbehandlung, Extraktion, Reinigung und Analyse der Probe zum Einsatz kommt. 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 Prüfungsprobe (Matrix und Feuchtegehalt) ein geeignetes Extraktionsverfahren (siehe Tabelle 5) auswählen. Für die Extraktion von PAK aus den Matrices ist die Wahl des Extraktionslösemittels von größerer Bedeutung als das Extraktionsverfahren und die Extraktionsvorrichtungen an sich. Da einige Ziel-PAK in den üblichen unpolaren Lösemitteln, wie z. B. hexanähnliche Lösemittel, Ether und andere Kohlenwasserstoffe, relativ unlöslich sind, müssen die Lösemittel in Abhängigkeit von dem erwarteten Kontaminationsniveau ausgewählt werden.

Das Extraktionsverfahren 1 (10.2.2) wird empfohlen, wenn es wichtig ist, Aggregate in der Probe aufzubrechen, um an die PAK heranzukommen. Dies ist besonders wichtig bei tonhaltigen Bodenproben. Feuchte Proben müssen diesen Verfahren unterzogen werden, um das vorhandene Wasser zu entfernen.

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

Andere Extraktionsverfahren, wie z. B. Mikrowellenextraktion, dürfen unter der Voraussetzung angewendet werden, dass:

- das Labor nachweisen kann, dass das Verfahren im Hinblick auf die Extraktionseffizienz einem der in dieser Europäischen Norm beschriebenen Extraktionsverfahren 1, 2 oder 3 gleichwertig ist, oder
- das Labor nachgewiesen hat, dass für die Probe eine andere Herangehensweise erforderlich ist, und die mit dem Verfahren erzielten Ergebnisse den in 10.6.6 und Abschnitt 11 festgelegten Leistungskriterien entsprechen.

ANMERKUNG Bei der Anwendung dieses Dokuments für 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. Falls die Prüfungsprobe eine geringe Dichte aufweist (d. h. einige Matrices) oder die Probe homogen ist, 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 Klärschlamm, 10 g bis 25 g Abfall, 5 g bis 20 g Kompost bzw. 2 g bis 20 g Boden oder Sediment. Die Probenmenge muss mit einer Genauigkeit von mindestens 1 % abgewägt werden.

Tabelle 5 — Für unterschiedliche Matrices anzuwendende Extraktionsverfahren

Feuchte- zustand der Prüfungs- probe	Matrix	Extraktions- lösemittel	Extraktions- technik	Extraktions- verfahren	Bemerkungen
trocken	Boden, Sediment, Schlamm, Bioabfall, Abfall	Aceton/Petroleth er oder hexan- ähnliches Lösemittel	Schütteln, Überkopfschütteln, Beschallung	Extraktions- verfahren 1 (siehe 10.2.2)	
	kunststoffreicher Abfall	Petrolether oder hexanähnliches Lösemittel	Schütteln, Überkopfschütteln, Beschallung	Extraktions- verfahren 1 (siehe 10.2.2)	
	hochkonta- minierter Boden, Sediment, Schlamm, Bioabfall, Kompost	Toluol, Petrol- ether oder hexanähnliches Lösemittel	Soxhlet-Extraktion, Hochdruck- Flüssigextraktion	Extraktions- verfahren 2 (siehe 10.2.3)	
feucht	Boden, Sediment, Schlamm, Bioabfall, Abfall	Aceton/Petroleth er oder hexan- ähnliches Löse- mittel/NaCl	Schütteln, Überkopfschütteln, Beschallung		auch anwend- bar auf feld- feuchte Proben mit einem Trockenmasse- gehalt > 75 %
	Boden, Sediment, Schlamm, Bioabfall	Aceton/Petroleth er oder hexan- ähnliches Löse- mittel/NaCl	Schütteln	Extraktions- verfahren 3 (siehe 10.2.4)	

10.2.2 Extraktionsverfahren 1: Aceton/hexanähnliches Lösemittel und Schütteln oder Beschallen

Die Probe in eine Probenflasche (8.1.2) geben. Ein festgelegtes Volumen der sekundären internen Standardlösung (7.6.3 oder 7.6.6) hinzufügen. 50 ml Aceton (7.2.1) zu der Prüfungsprobe geben und durch gründliches Schütteln oder Beschallen mit der Schüttelvorrichtung (8.1.3) 30 min lang extrahieren, um die in der Probe vorliegenden Aggregate aufzubrechen. Anschließend 50 ml Petrolether oder hexanähnliches Lösemittel (7.2.3) hinzufügen und erneut gründlich mindestens 1 h lang schütteln oder beschallen. Eine horizontale Schüttelvorrichtung oder einen Überkopfschüttler (8.1.3) verwenden und die Bewegung des Lösemittels in der Probenflasche so lang wie möglich machen (horizontale Position). Nachdem sich die Feststoffe abgesetzt haben, den Überstand dekantieren. Die Festphase mit 50 ml Petrolether oder hexanähnlichem Lösemittel (7.2.3) waschen und die Lösung erneut dekantieren. Die Extrakte in einem Scheidetrichter (8.1.5) auffangen und das Aceton durch zweimaliges Ausschütteln mit 400 ml Wasser (7.2.4) entfernen. Den Extrakt über Natriumsulfat (7.2.4) trocknen. Das Natriumsulfat mit Petrolether oder hexanähnlichem Lösemittel (7.2.3) spülen und die Spülflüssigkeiten zu dem Extrakt geben.

Im Falle von Abfällen mit einem hohen Kunststoffanteil, z. B. Kunststoffschnitzel, kommt es bei der Extraktion mit einem acetonhaltigen Lösemittel zu einem hohen Maß an Co-Extraktion. In solchen Fällen sollte die Extraktion zweimal mit 50 ml hexanähnlichem Lösemittel (7.2.3) durchgeführt werden.

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 zwischen Aceton und Wasser sollte mindestens 1 : 9 betragen. Das Verhältnis zwischen Aceton und hexanähnlichem Lösemittel sollte konstant auf 1 : 2 gehalten werden.

Die festgelegte Menge an internem Standard, der in allen Extraktionsverfahren zugesetzt wird, muss so gewählt werden, dass dessen Konzentration im Endextrakt im Arbeitsbereich des Detektionsverfahrens liegt. Typischerweise liegt die Konzentration der verschiedenen internen Standards im Endextrakt bei 0,1 µg/ml. Zur Durchfeuchtung der gesamten Probe wird eine Mindestmenge von 100 µl an internem Standard empfohlen.

ANMERKUNG 2 Bei Matrices mit einem hohen Gehalt an organischen Substanzen (z. B. einige Schlämme) können längere Extraktionsverfahren erforderlich sein. Für diese Proben kann das Extraktionsverfahren 2 (10.2.3) vorzuziehen sein.

10.2.3 Extraktionsverfahren 2: Soxhlet-Extraktion

Die getrocknete Prüfungsprobe (9.2) in die Extraktionshülse (8.1.7) geben. Die festgelegte Menge an sekundärer interner Standardlösung (7.6.3 oder 7.6.6) und etwa 70 ml des Extraktionslösemittels (7.2.2 oder 7.2.3) in das Extraktionsgefäß geben. Die Probe mithilfe des Soxhlet-Extraktionsgeräts (8.1.8) extrahieren. Die Dauer der Extraktion sollte ausgehend von mindestens 100 Extraktionszyklen berechnet werden.

ANMERKUNG Falls die Probe hygroskopisch ist und nicht direkt vor der Analyse getrocknet wird, Na_2SO_4 zu der Probe geben, um ein frei fließendes Material zu erhalten.

ANMERKUNG Ein Aceton/Petrolether-Gemisch ist in Kombination mit einer Soxhlet-Extraktion ebenfalls zulässig, sofern die Siedepunkte so nah wie möglich aneinander liegen, um eine konsistente Zusammensetzung des Extraktionsgemisches in der flüssigen und gasförmigen Phase sicherzustellen.

10.2.4 Extraktionsverfahren 3: Hochdruck-Flüssigextraktion (PLE)

Das Gerät (8.1.14) wird nach den Anweisungen des Herstellers vorbereitet. Das Volumen der PLE-Zelle wird in Abhängigkeit von dem Kontaminationsniveau und dem Volumen der zu analysierenden Probe ausgewählt. Einen Zellulosefilter unten in die Zelle einlegen und die Probe oder ein Gemisch aus der Probe und Kieselgur

oder Seesand in die Extraktionszelle geben. Die festgelegte Menge an sekundärer interner Standardlösung (7.6.3 oder 7.6.6) hinzufügen. Falls erforderlich, eine zusätzliche Menge an Kieselgur oder Seesand hinzufügen, bis die Zelle vollständig gefüllt ist. Die Zelle fest verschließen und die Anweisungen des Herstellers befolgen. In Abhängigkeit vom Feuchtegehalt ein hexanähnliches Lösemittel (7.2.3) oder ein Gemisch aus hexanähnlichem Lösemittel (7.2.3) und Aceton (7.2.1) auswählen.

Beispiel für die Einstellung des PLE-Systems:

- Temperatur: 100 °C;
- Druck: 10^7 Pa (100 bar)
- Statische Phase: 10 min;
- Anzahl der Zyklen: 2;
- Spülen: 20 ml (4 min).

Nach dem Abschluss der Extraktion wird das Volumen des Extrakts gemessen oder auf ein definiertes Volumen aufgefüllt.

10.2.5 Extraktionsverfahren 3: Aceton/hexanähnliches Lösemittel/Natriumchlorid und Schütteln

Eine bestimmte Menge der feuchten Probe in eine 1-l-Probenflasche (8.1.2) geben. Die festgelegte Menge an sekundärer interner Standardlösung (7.6.3 oder 7.6.6) hinzufügen. Falls die Probe trocken ist, 50 ml Wasser hinzufügen. Bei feuchten Proben wird die hinzuzufügende Menge an Wasser nach Gleichung (2) berechnet:

$$m_w = 50 - \frac{m_E \cdot m_{H_2O}}{100} \quad (2)$$

Dabei ist

- m_w die hinzuzufügende Masse an Wasser, angegeben in Gramm (g);
- m_E die Masse der durchgesiebten Probe, angegeben in Gramm (g);
- m_{H_2O} der Wassergehalt der Probe nach EN 15934, angegeben als Massenanteil in Prozent (%).

40 g Natriumchlorid (7.2.6), 100 ml Aceton (7.2.1) und 50 ml Petrolether oder hexanähnliches Lösemittel (7.2.3) zu den angefeuchteten Proben geben, den Behälter verschließen und mithilfe einer Schüttelvorrichtung (8.1.3) mindestens 12 h lang schütteln.

Die organische Phase muss, falls erforderlich, in einer Zentrifuge mit verschließbaren Zentrifugengläschen abgetrennt werden. Den Extrakt in einem Scheidetrichter mit einem Fassungsvermögen von 1 l auffangen. Den Extrakt über Natriumsulfat (7.2.4) trocknen und den getrockneten Extrakt in den Verdampfer (8.1.8) überführen. Das Natriumsulfat mit Petrolether oder hexanähnlichem Lösemittel (7.2.3) spülen und die Spülflüssigkeiten zu dem Extrakt geben.

10.3 Einengen

10.3.1 Allgemeines

Falls erforderlich, den Extrakt mithilfe eines Verdampfers (8.1.8) auf etwa 10 ml einengen. Falls erforderlich, ein Siedesteinchen (8.1.9) hinzugeben. Den eingeeengten Extrakt in ein graduiertes Reagenzglas (8.1.11) überführen und mithilfe eines schwachen Stroms von Stickstoff oder einem anderen inerten Gas bei Raumtemperatur weiter auf 1 ml einengen. Falls erforderlich, auf 1 ml auffüllen.

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

Um Verluste der flüchtigsten PAK zu verhindern, ist eine Verdampfung bis zu vollständiger Trockenheit nicht zulässig. Es ist ratsam, eine kleine Menge (ein Tropfen) Keeper-Substanz (7.2.7) hinzuzufügen.

Bei stark kontaminierten Proben wird für die weitere Reinigung ein Aliquot verwendet. Die Fraktion f des für die weitere Reinigung verwendeten Extrakts herstellen. Falls nicht markierte PAK als Extraktionsstandard zu der Probe gegeben wurden, eine festgelegte Menge der internen Standardlösung, die deuterierte PAK enthält, hinzufügen.

Sofern eine Reinigung nicht erforderlich ist, den Extrakt auf ein festgelegtes Volumen bringen.

10.3.2 Für die HPLC-Analyse

Sofern keine Reinigung erforderlich ist, muss das hexanähnliche Lösemittel des Endextrakts durch ein Lösemittel ersetzt werden, das mit der mobilen Phase des HPLC-Systems kompatibel ist, wie z. B. Acetonitril oder Methanol (7.4.2.1). Zum Beispiel: 0,8 ml Acetonitril in ein Aliquot aus 1 ml des konzentrierten Extrakts geben 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. Für die nachfolgende HPLC-Analyse bis zur 1,0-ml-Markierung mit Acetonitril auffüllen.

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

Falls Toluol für die Extraktion verwendet wird, kann der Toluol-Endextrakt mit Acetonitril oder Methanol (7.4.2.1) verdünnt werden.

10.4 Reinigung des Extrakts

10.4.1 Allgemeines

Eine Reinigung muss durchgeführt werden, falls Verbindungen vorliegen, die die relevanten PAK im GC-MS-Chromatogramm bzw. HPLC-Chromatogramm stören können oder die Messung beeinflussen könnten (d. h. Kontamination des Chromatographiesystems). Falls keine oder nur vernachlässigbare Störsubstanzen vorliegen, ist keine Reinigung erforderlich. In Abhängigkeit von den zu entfernenden Substanzen kann Tabelle 6 herangezogen werden.

Bei der Analyse von stark kontaminierten Proben wird oft ein Aliquot des Extrakts für die weitere Reinigung verwendet.

Tabelle 6 — Reinigungsverfahren

Verfahren	Reinigung	Zur Entfernung von	Geeignet für	Bemerkungen
Reinigungs- verfahren A	Aluminiumoxid	polaren Verbindungen	GC-MS und HPLC	schwierig, den Wasser- gehalt einzustellen und diesen konstant zu halten
Reinigungs- verfahren B	Kieselgel	polaren Verbindungen	GC-MS und HPLC	
Reinigungs- verfahren C	Gelpermeation	hochmolekularen Verbindungen, Fetten und Ölen	MS	
ANMERKUNG Zugabe einer Keeper-Substanz beim endgültigen Einengen nach der Reinigung.				

ANMERKUNG PAK sind im Gegensatz zu PCB nicht sehr stabil und beständig (persistent); daher sind extreme Reinigungsbedingungen (z. B. Schwefelsäure) nicht angebracht.

Andere Reinigungsverfahren, wie z. B. polymerbasierte Festphasenextraktion, oder andere Materialien, wie z. B. modifiziertes Kieselgel, dürfen ebenfalls verwendet werden, sofern sie für eine Entfernung der Störpeaks im Chromatogramm sorgen und die Wiederfindungsraten für alle relevanten PAK (einschließlich interner Standards) nach Anwendung des Reinigungsverfahrens mindestens 80 % betragen.

Der Extrakt oder das in 10.3 erhaltene Aliquot muss quantitativ in das Reinigungssystem überführt werden.

10.4.2 Reinigungsverfahren A – Aluminiumoxid

Eine Adsorptionssäule herstellen. Dazu einen kleinen Pfropfen Quarzwolle (8.1.10) in die Chromatographiesäule (8.1.12) geben und diese mit $(2,0 \pm 0,1)$ g Aluminiumoxid (7.3.1.2) trocken packen. Falls erforderlich, eine Schicht Natriumsulfat (7.2.4) aufbringen.

Den Extrakt mithilfe einer Pipette in die trocken gepackte Adsorptionssäule geben. Das Reagenzglas zweimal mit 1 ml Petrolether oder hexanähnlichem Lösemittel (7.2.3) spülen und die Spülflüssigkeiten quantitativ in die Säule überführen, sobald die Flüssigkeit den oberen Rand der Säulenpackung erreicht hat. Mit etwa 20 ml Petrolether oder hexanähnlichem Lösemittel (7.2.3) eluieren. Das gesamte Eluat auffangen.

Die Keeper-Substanz (7.2.7) zu dem Eluat geben und anschließend das Eluat auf das gewünschte Volumen einengen (siehe 10.3).

Falls eine neue Charge Aluminiumoxid verwendet wird, muss das Volumen an Lösemittel, das für eine vollständige Eluierung des relevanten PAK aus der Säule benötigt wird, mithilfe einer geeigneten PAK-Standardlösung bestimmt werden.

ANMERKUNG Alternativ können handelsübliche Einwegsäulen verwendet werden, sofern sich diese als gleichermaßen geeignet erwiesen haben. Eine Säule gilt als geeignet, sofern die Leistungsfähigkeit des Verfahrens 5.2, 10.6.6 und Abschnitt 11 entspricht.

10.4.3 Reinigungsverfahren B – Kieselgel

Glaswolle (8.1.10) und 10 g Kieselgel (7.3.2.2) in die Chromatographiesäule (8.1.12) geben. Anschließend eine Schicht Natriumsulfat (7.2.4) aufbringen und mit 20 ml Petrolether oder hexanähnlichem Lösemittel (7.2.3) konditionieren. Den Extrakt in die Säule geben, wenn das Lösemittelgemisch auf etwa 0,5 cm über der Säulenpackung abgesunken ist.

Für die Eluierung werden insgesamt 100 ml Petrolether oder hexanähnliches Lösemittel (7.2.3) verwendet. Die Keeper-Substanz (7.2.7) zu dem Eluat geben und anschließend das Eluat auf das gewünschte Volumen einengen (siehe 10.3).

10.4.4 Reinigung C – Gelpermeationschromatographie

Den erhaltenen Extrakt mithilfe eines schwachen Stickstoffstroms vorsichtig einengen. Die Rückstände werden sofort in 5 ml Lösemittelgemisch [Ethylacetat (7.3.3.2) und Cyclohexan (7.3.3.3) (Volumenanteil 1 : 1)] aufgelöst und anschließend in die GPC-Säule gegeben.

Die typischen Einstellungen des GPC-Systems sind Folgende:

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

Die Eluierungsvolumina der ersten Fraktion, des Eluats und der letzten Fraktion müssen als empfohlene Werte betrachtet und regelmäßig mithilfe der Mehrkomponenten-PAK-Standardlösung überprüft werden.

Die Keeper-Substanz (7.2.7) zu dem Eluat geben und anschließend das Eluat auf das gewünschte Volumen einengen (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 dies der Fall, kann eine erneute Anpassung des Probenvolumens erforderlich sein.

10.5 Zugabe des Injektionsstandards

Falls die Zugabe eines Injektionsstandards erforderlich ist, vor der Injektion eine geeignete Menge des sekundären Injektionsstandards (7.6.4) zu dem Extrakt geben (die Menge muss der Konzentration des Kalibrierstandards entsprechen). Das Endvolumen *V* aufzeichnen.

10.6 GC-MS-Analyse (GC-MS)

10.6.1 Einstellungen des Gaschromatographen

Den Gaschromatographen (8.2) so einstellen, dass eine ausreichende Trennung der PAK erreicht wird (siehe 5.2). Den Gaschromatographen ausgehend von den nachfolgenden Bedingungen optimieren:

- Trennsäule: Kapillarsäule (siehe 8.2.2);
60 °C, 2 min;
- Ofentemperaturprogramm: 30 °C/min bis 120 °C;
5 °C/min bis 310 °C;
300 °C, 6 min;
- Injektortemperatur: 250 °C;
- splitlose Injektion: 1 µl, Split 1,8 min lang geschlossen halten;
- Trägergas: Helium 0,8 ml/min bis 1 ml/min.

10.6.2 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) aufgezeichnet. Die auszuwählenden Ionen sind in Tabelle 7 angegeben.

Tabelle 7 — Bei der GC-MS zu verwendende diagnostische Ionen für PAK

Verbindung	CAS-RN	Diagnostisches Ion 1 <i>m/z</i>	Diagnostisches Ion 2 <i>m/z</i>	Diagnostisches Ion 3 <i>m/z</i>
Naphthalen	91-20-3	128 (100)	102 (11)	–
Naphthalen-d8	1146-65-2	136 (100)	108 (12)	137 (10)
Acenaphthen	83-32-9	154 (70)	153 (100)	76 (10)
Acenaphthen-d10	15067-26-2	162 (100)	164 (96)	80 (27)
Acenaphthylen	208-96-8	152 (100)	150 (3)	[76] (0)
Acenaphthylen-d8	93951-97-4	162 (100)	164 (96)	80 (27)
Fluoren	86-73-7	166 (81)	165 (100)	[139] (4)
Fluoren-d10	81103-79-9	176 (100)	174 (89)	
Anthracen	120-12-7	178 (100)	152 (12)	[76] (0)
Anthracen-d10	1719-06-8	188 (100)	189 (14)	94 (9)
Phenanthren	85-01-8	178 (100)	152 (9)	[76] (3)
Phenanthren-d10	1517-22-2	188 (100)	189 (14)	160 (12)
Fluoranthren	206-44-0	202 (100)	200 (31)	[100] (3)
Fluoranthren-d10	93951-69-0	212 (100)	213 (17)	
Pyren	129-00-0	202 (100)	200 (2)	[101] (4)
Pyren-d10	1718-52-1	212 (100)	213 (17)	
Benz[<i>a</i>]anthracen	56-55-3	228 (100)	226 (3)	[114] (2)
Benz[<i>a</i>]anthracen-d12	1718-53-2	240 (100)	241 (19)	
Chrysen	218-01-9	228 (100)	226 (6)	[113] (4)
Chrysen-d12	1719-03-5	240 (100)	236 (25)	241 (17)
Benzo[<i>b</i>]fluoranthren	205-99-2	252 (100)	250 (22)	126 (5)
Benzo[<i>b</i>]fluoranthren-d12	93951-98-5	264 (100)	260 (19)	
Benzo[<i>k</i>]fluoranthren	207-08-9	252 (100)	250 (22)	126 (5)
Benzo[<i>k</i>]fluoranthren-d12	93952-01-3	264 (100)	260 (19)	
Benzo[<i>a</i>]pyren	50-32-8	252 (100)	250 (18)	[113] (11)
Benzo[<i>a</i>]pyren-d12	63466-71-7	264 (100)	260 (20)	
Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyren	193-39-5	276 (100)	138 (12)	[274] (4)
Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyren-d12	203578-33-0	288 (100)	284 (19)	
Dibenz[<i>a,h</i>]anthracen	53-70-3	278 (100)	139 (9)	[276] (5)

Verbindung	CAS-RN	Diagnostisches Ion 1 <i>m/z</i>	Diagnostisches Ion 2 <i>m/z</i>	Diagnostisches Ion 3 <i>m/z</i>
Dibenz[<i>a,h</i>]anthracen-d14	13250-98-1	292 (100)	279 (23)	
Benzo[<i>ghi</i>]perylene	191-24-2	276 (100)	138 (12)	[274] (4)
Benzo[<i>ghi</i>]perylene-d12	93951-66-7	288 (100)	284 (19)	
m Masse des Ions z Ladungszahl des Ions				

Die Anwendung von GC-MS/MS ist ebenfalls möglich. Ein Beispiel für Messbedingungen ist in Anhang B.3 enthalten.

10.6.3 Kalibrierung des Verfahrens mithilfe eines internen Standards

10.6.3.1 Allgemeines

Dies ist ein unabhängiges Verfahren für die Bestimmung der Massenkonzentrationen, das nicht durch Injektionsfehler, den Volumenanteil von Wasser in der Probe oder Matrixeffekte in der Probe beeinflusst wird, sofern die Wiederfindungsraten der zu analysierenden Verbindungen etwa denen des internen Standards entsprechen.

Eine bestimmte Masse des internen Standards (7.6.3) und des Injektionsstandards (falls erforderlich, 7.6.4) zu Verdünnungen des Kalibrierlösungsgemisches (7.5.2) geben. Die Massenkonzentration beider Standards muss für alle Kalibrierlösungen identisch und mit der Konzentration beider Standards im Endextrakt vergleichbar sein. Die GC-MS-Analyse mit den nach 7.6 hergestellten Kalibrierlösungen durchführen. Nachdem durch das Auftragen des Verhältnisses der Massenkonzentrationen über das Verhältnis der Peakflächen (oder Peakhöhen) eine Kalibrierkurve erzeugt wurde, das relative Responseverhältnis für den nativen PAK und den deuterierten PAK nach Gleichung (3) berechnen:

$$\frac{A_n}{A_d} = s \cdot \frac{\rho_n}{\rho_d} + b \quad (3)$$

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 die Steigung der Kalibrierfunktion;
- ρ_n die Massenkonzentration des nativen PAK in der Kalibrierlösung, angegeben in Mikrogramm je Liter ($\mu\text{g/l}$);
- ρ_d die Massenkonzentration des deuterierten PAK in der Kalibrierlösung, angegeben in Mikrogramm je Liter ($\mu\text{g/l}$);
- b der Schnittpunkt der Kalibrierkurve mit der Ordinate.

Es werden zwei Arten der Kalibrierung unterschieden: die Erstkalibrierung (10.6.3.2) und die tägliche Kalibrierung (Überprüfung der Gültigkeit der Erstkalibrierung); letztere wird als Rekalibrierung (10.6.3.3) bezeichnet.

Nicht lineare Kalibrierverfahren dürfen angewendet werden.

10.6.3.2 Erstkalibrierung

Die Erstkalibrierung dient der Festlegung des linearen Arbeitsbereichs der Kalibrierkurve. Diese Kalibrierung wird durchgeführt, wenn das Verfahren zum ersten Mal angewendet wird sowie nach einer Wartung (z. B. Auswechseln der analytischen Säule, Reinigung des MS-Systems) und/oder Reparatur des Geräts.

Ein Gaschromatogramm einer Reihe von mindestens fünf Standardlösungen mit äquidistanten Konzentrationen, einschließlich der Lösemittelblindlösung, aufzeichnen. Die Peaks identifizieren. Dazu die MS- oder Gaschromatogramme der einzelnen Verbindungen heranziehen. Eine Kalibrierkurve für jede Verbindung erstellen.

Die Linearität nach ISO 8466-1 überprüfen.

Nicht lineare Kalibrierung unter Verwendung aller fünf Standards ist zulässig. In diesem Fall müssen die gleichen fünf Standards für die Rekalibrierung verwendet werden.

10.6.3.3 Rekalibrierung

Bei der Rekalibrierung wird die Gültigkeit des linearen Arbeitsbereichs der Erstkalibrierkurve geprüft. Die Rekalibrierung erfolgt zusammen mit jeder Probenreihe.

Für jede Probencharge mindestens zwei Kalibrierstandards mit Konzentrationen von $(20 \pm 10) \%$ und $(80 \pm 10) \%$ des ermittelten linearen Bereichs injizieren und die Gerade aus diesen Messungen berechnen. Fällt diese Gerade in den Bereich von $\pm 10 \%$ um die Referenzwerte der Erstkalibrierkurve herum, wird die Erstkalibrierkurve als gültig angesehen. Ist dies nicht der Fall, muss eine neue Kalibrierkurve nach 10.6.3.2 erstellt werden.

10.6.4 Messung

Mithilfe der absoluten Retentionszeiten die Peaks identifizieren, die zur Berechnung der relativen Retentionszeiten zu verwenden sind. Den internen Standard verwenden, der möglichst nah an dem quantitativ zu bestimmenden PAK-Peak liegt. Die relativen Retentionszeiten für die anderen relevanten Peaks in den Gaschromatogrammen bestimmen.

Falls die Konzentration über dem Niveau liegt, das für eine ordnungsgemäße Identifizierung oder Quantifizierung erforderlich ist, muss ein verdünnter Extrakt injiziert werden, um eine ordnungsgemäße Identifizierung oder Quantifizierung der relevanten PCB zu ermöglichen. Alternativ wird die Probe unter Verwendung einer kleineren Probenmenge erneut extrahiert.

Falls der interne Standard sich verdünnungsbedingt außerhalb des linearen Bereichs befindet, ist mit Gleichung (5) in 10.6.6 keine ordnungsgemäße Quantifizierung möglich, und die Abweichung von der Linearität muss berücksichtigt werden.

10.6.5 Identifizierung

Zur Identifizierung von PAK EN ISO 22892 anwenden. EN ISO 22892 legt Kriterien für Chromatographie und Massenspektrometrie fest, die für eine ordnungsgemäße Identifizierung erforderlich sind. Die in Tabelle 7 angegebenen diagnostischen Ionen verwenden.

10.6.6 Überprüfung der Verfahrensleistung

Da dieses Dokument die Verwendung verschiedener Module zulässt, gilt der Vergleich der gemessenen Responses der internen Standards und der Injektionsstandards sowohl in der injizierten Standardlösung zur Bestimmung der Verfahrensleistung als auch in der injizierten Probe als Überprüfung der Leistung des Gesamtverfahrens.

Für diese Analyse

- das gleiche Endvolumen,
 - das gleiche festgelegte Volumen des internen Standards und
 - das gleiche festgelegte Volumen des Injektionsstandards
- wie für die Proben verwenden.

Das ist der Standard zur Bestimmung der Verfahrensleistung.

Der Standard zur Bestimmung der Verfahrensleistung darf einer der Kalibrierstandards sein, sofern das Verhältnis der verwendeten Volumina (interner Standard/Injektionsstandard) identisch ist.

Für jeden internen Standard das Verhältnis zwischen der Probe und der Standardlösung zur Bestimmung der Verfahrensleistung unter Verwendung des am nächsten liegenden Injektionsstandards nach Gleichung (4) berechnen:

$$U = \frac{A_1(S)}{A_2(S)} \cdot \frac{A_2(ps)}{A_1(ps)} \cdot 100 \quad (4)$$

Dabei ist

- U die Wiederfindungsrate, angegeben in Prozent (%);
 A_1 der gemessene Response des internen Standards für deuterierte PAK, z. B. Peakfläche;
 A_2 der gemessene Response des Injektionsstandards für deuterierte PAK, z. B. Peakfläche;
 ps der Standard zur Bestimmung der Verfahrensleistung;
 S die Probe.

Die Wiederfindungsrate des internen Standards sollte mindestens 50 % betragen.

Falls für die Zugabe des internen Standards das zweistufige Verfahren angewendet wurde, das Extraktionsverhältnis zwischen dem nicht markierten PAK, der zur Probe gegeben wurde, und dem deuterierten PAK, der zum Extrakt gegeben wurde, nach Gleichung (5) berechnen:

$$E = \frac{A_{1,mean}(S) \cdot f}{A_3} \cdot \frac{A_3(ps)}{A_{1,mean}(ps)} \cdot 100 \quad (5)$$

Dabei ist

- E die Wiederfindungsrate der Extraktion, angegeben in Prozent (%);
 $A_{1,mean}$ der mittlere gemessene Response des internen Standards für deuterierte PAK, z. B. Peakfläche;
 A_3 der gemessene Response des internen Standards für nicht markierte PAK, z. B. Peakfläche;
 f die Fraktion des für die Reinigung verwendeten Ursprungsextrakts;
 ps der Standard zur Bestimmung der Verfahrensleistung;
 S die Probe.

Die für die Konzentration nativer PAK in der Probe berechneten Werte werden nur dann als annehmbar angesehen, wenn die Wiederfindungsraten der internen Standards die zuvor beschriebenen Anforderungen erfüllen. In anderen Fällen sollten die Werte als indikativ dokumentiert werden.

10.6.7 Berechnung

Der Massengehalt der einzelnen PAK wird mithilfe der Gleichung (6) aus der Mehrpunkt-Kalibrierung für das Gesamtverfahren berechnet:

$$w_n = \frac{(A_n/A_d) - b}{s \cdot m \cdot d_s} \cdot \rho_d \cdot f_e \cdot f_t \cdot V \cdot 100 \quad (6)$$

Dabei ist

- w_n der Gehalt der in der Probe vorgefundenen verschiedenen PAK, angegeben in Milligramm je Kilogramm (mg/kg) auf der Grundlage des Trockenmassegehalts;
- A_d der gemessene Response des deuterierten PAK im Probenextrakt;
- A_n der gemessene Response des nativen PAK im Probenextrakt;
- ρ_d die Massenkonzentration des deuterierten PAK im Probenextrakt, angegeben in Mikrogramm je Milliliter ($\mu\text{g/ml}$);
- m die Masse der für die Extraktion verwendeten Prüfungsprobe, angegeben in Gramm (g);
- d_s der Trockenmassenanteil in der feldfeuchten Probe, ermittelt nach EN 15934, angegeben als Massenanteil in Prozent (%);
- f_e das Verhältnis zwischen dem Gesamtvolumen an organischem Lösemittel, das für die Extraktion verwendet wurde, und dem Volumen des Aliquots, das für die Analyse verwendet wurde; $f = 1$ bei Verwendung des gesamten Extrakts;
- f_t der Zugabefaktor;
- V das Volumen der endgültigen Lösung, angegeben in Milliliter (ml);
- s die Steigung der Rekalibrierfunktion;
- b der Schnittpunkt der Rekalibrierkurve mit der Ordinate.

Das Ergebnis muss in Milligramm je Kilogramm (mg/kg) Trockenmasse auf zwei signifikante Stellen gerundet angegeben werden.

10.7 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)

10.7.1 Allgemeines

Das HPLC-System nach den Anweisungen des Herstellers einstellen. Das Untergrundrauschen und die Grundliniendrift regelmäßig anhand der vom Hersteller angegebenen Spezifikationen überprüfen. Falls die Ergebnisse dieser Prüfungen nicht den festgelegten Werten entsprechen, die Ursachen dafür ermitteln und beseitigen.

10.7.2 Einstellung des HPLC-Systems

Das HPLC-System (8.3) so einstellen, dass eine ausreichende Trennung der PAK erreicht wird (siehe 7.5.2). Das HPLC-System ausgehend von den nachfolgenden Bedingungen optimieren:

- Trennsäule: Umkehrphasensäule;
- Lösemittel A: Acetonitril;
- Lösemittel B: Wasser;
- Gradient: 0 min bis 5 min – A: 50 % und B: 50 %;
5 min bis 25 min; A: 50 % bis 90 % und B: 50 % bis 10 %;
25 min bis 45 min; A: 90 % und B: 10 %;
- Injektionsvolumen: 5 µl;
- Ofentemperatur: 25 °C;

ANMERKUNG Beispiele für Chromatogramme einschließlich gerätetechnischer Bedingungen sind in Anhang B aufgeführt.

10.7.3 Detektion

10.7.3.1 Allgemeines

Für die Detektion sind UV-Detektoren, Fluoreszenzdetektoren oder eine Kombination von beiden, die die Nachteile der relevanten Detektoren ausgleicht, geeignet.

10.7.3.2 UV-Detektor

Vorzugsweise sollte ein Diodenarray-Detektor verwendet werden; vergleichbare Ergebnisse können jedoch auch mit einem UV-Detektor mit variabler Wellenlänge erzielt werden.

Diodenarray-Detektoren ermöglichen einen Vergleich des Spektrums der Probensubstanz mit dem der Referenzsubstanz.

ANMERKUNG Der Vorteil von UV-Detektoren ist, dass diese einen größeren linearen Bereich als Fluoreszenzdetektoren aufweisen. Der Nachteil ist, dass sie eine niedrigere Empfindlichkeit und Selektivität als Fluoreszenzdetektoren aufweisen.

10.7.3.3 Fluoreszenzdetektor

Bei Verwendung eines Fluoreszenzdetektors darauf achten, dass dieser eine freie Auswahl der Anregungs- und Emissionswellenlängen ermöglicht und während der chromatographischen Trennung einstellbar ist.

Für die Detektion geeignete Anregungs- und Emissionswellenlängen in Abhängigkeit von der Empfindlichkeit und Selektivität auswählen.

Während der Wellenlängenprogrammierung sollte eine Beeinträchtigung der Grundlinie vermieden werden.

Im Eluent gelöster Sauerstoff kann das Fluoreszenzsignal verringern. Der Eluent sollte entgast werden, z. B. mithilfe von Helium oder mittels Vakuum.

10.7.3.4 Identifizierung einzelner Verbindungen

Eine einzelne Verbindung gilt als vorhanden, wenn die Retentionszeit der Substanz im Chromatogramm der Probe mit der Retentionszeit im Chromatogramm für eine Referenzsubstanz in einer Referenzlösung, gemessen unter den gleichen Bedingungen (Abweichung ± 1 %, höchstens 10 s), übereinstimmt.

Die Bestätigung eines positiven Ergebnisses kann unter Anwendung verschiedener Verfahren erfolgen:

- durch Vergleich des Anregungs- und Emissionsspektrums der Substanz in der Probe, die anhand ihrer Retentionszeit zugeordnet wurde, und des Spektrums der Referenzsubstanz, das unter den gleichen Bedingungen aufgenommen wurde;
- bei höheren Konzentrationen darf die Identifizierung über das Absorptionsspektrum mithilfe eines Diodenarray-Detektors vorgenommen werden. Dieser zweite Detektor darf keine Störung durch Verbreiterung der Fluoreszenzpeaks verursachen;
- durch Anwendung eines unabhängigen Verfahrens, z. B. Gaschromatographie;
- durch die Überprüfung von Ergebnissen, die bei zwei verschiedenen Wellenlängen ermittelt wurden.

10.7.4 Kalibrierung

10.7.4.1 Allgemeines

Für die Kalibrierung externe Standards verwenden. Darauf achten, dass für die Kalibrierung dasselbe Volumen wie für die Probenmessung injiziert wird.

10.7.4.2 Erstkalibrierung

Die Erstkalibrierung dient der Festlegung 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 HPLC-Chromatogramm einer Reihe von mindestens fünf Standardlösungen mit äquidistanten Konzentrationen, einschließlich der Lösemittelblindlösung, aufzeichnen. Die Peaks nach 10.7.3.4 identifizieren. Eine Kalibrierkurve für jede Verbindung erstellen.

Die Linearität nach ISO 8466-1 überprüfen.

10.7.4.3 Rekalibrierung

Bei der Rekalibrierung wird die Gültigkeit des linearen Arbeitsbereichs der Erstkalibrierkurve geprüft. Die Rekalibrierung muss vor jeder Probenreihe erfolgen.

Für jede Probenreihe mindestens zwei Kalibrierstandards mit Konzentrationen von $(20 \pm 10) \%$ und $(80 \pm 10) \%$ des ermittelten linearen Bereichs injizieren und die Gerade aus diesen Messungen berechnen. Fällt diese Gerade in den Bereich von $\pm 10 \%$ um die Referenzwerte der Erstkalibrierkurve herum, wird die Erstkalibrierkurve als gültig angesehen. Ist dies nicht der Fall, muss eine neue Kalibrierkurve nach 10.7.4.2 erstellt werden.

10.7.5 Messung

Vor der Durchführung von Messungen an Proben das Messsystem ins Gleichgewicht bringen und das Wellenlängenprogramm in Abhängigkeit von den ermittelten Retentionszeiten einstellen.

ANMERKUNG Reproduzierbare Retentionszeiten werden üblicherweise nach zwei oder drei Injektionen einer Referenzlösung erreicht.

Mithilfe der Retentionszeiten die Peaks identifizieren.

Sicherstellen, dass die Peaks jeder Probe korrekt integriert wurden. Falls die Konzentration über dem Niveau liegt, das für eine ordnungsgemäße Identifizierung oder Quantifizierung erforderlich ist, muss ein verdünnter Extrakt injiziert werden, um eine ordnungsgemäße Identifizierung oder Quantifizierung der

relevanten PAK zu ermöglichen. Alternativ wird die Probe unter Verwendung einer kleineren Probenmenge erneut extrahiert.

10.7.6 Berechnung

Unter der Voraussetzung, dass die erwartete Peakfläche oder Peakhöhe innerhalb des linearen Messbereichs liegt, kann die Quantifizierung einer identifizierten Substanz mithilfe der Gleichung (7) erfolgen:

$$w_n = \frac{A_n - b}{s \cdot m \cdot d_s} \cdot V \cdot f_i \cdot 100 \quad (7)$$

Dabei ist

- w_n der Gehalt der in der Probe vorgefundenen *einzelnen* PAK, angegeben in Milligramm je Kilogramm (mg/kg) auf der Grundlage der Trockenmasse;
- A_n der gemessene Response des nativen PAK im Probenextrakt;
- f_i der Verdünnungsfaktor bei der HPLC-Analyse oder anderen Verdünnungsschritten;
- V das Volumen des Extrakts, angegeben in Litern (l);
- m die Masse der für die Extraktion verwendeten Prüfungsprobe, angegeben in Kilogramm (kg);
- d_s der Trockenmassenanteil in der feldfeuchten Probe, ermittelt nach EN 15934, angegeben als Massenanteil in Prozent (%);
- s die Steigung der Rekalibrierfunktion;
- b der Schnittpunkt der Rekalibrierkurve mit der Ordinate.

Das Ergebnis muss in Milligramm je Kilogramm (mg/kg) Trockenmasse auf zwei signifikante Stellen gerundet angegeben werden.

ANMERKUNG Falls zwei Signale für die Quantifizierung herangezogen werden, gilt das Ergebnis nur dann als bestätigt, wenn die Ergebnisse nicht mehr als 15 % abweichen, bezogen auf den niedrigsten Wert. Bei Abweichungen von über 15 % wird der niedrigste Wert im Bericht angegeben.

11 Verfahrenskenndaten

Dieses Verfahren ist „leistungsbasiert“. Eine Modifizierung des Verfahrens zur Ausschaltung von Störungen, die in dieser Europäischen Norm nicht behandelt werden, ist zulässig, sofern die Leistungskriterien erfüllt werden. Es müssen interne Standards für GC-MS sowie Extraktionsstandards für GC-MS und HPLC verwendet werden, um die Vorbehandlungs-, Extraktions- und Reinigungsverfahren zu überprüfen. Die Wiederfindungsraten dieser Standards sollten zwischen 50 % und 110 % liegen. Falls die Wiederfindungsrate außerhalb dieser Grenzen liegt (d. h. unter 50 % oder über 110 %), muss das Verfahren durch die Anwendung anderer Module modifiziert werden, die in dieser Europäischen Norm beschrieben werden.

Im Falle niedrigerer Wiederfindungsraten kann bei einigen Proben ein mehrmaliges Reinigen erforderlich sein.

12 Präzision

Die Verfahrenskenndaten wurden ausgewertet (siehe Anhang A).