

WEGLEITUNG

**Bestimmung
von polychlorierten
Biphenylen in Böden
mittels GC/MS**

Methodenempfehlung



WEGLEITUNG

**Bestimmung
von polychlorierten
Biphenylen in Böden
mittels GC/MS**

Methodenempfehlung

Rechtlicher Stellenwert dieser Publikation

Diese Publikation ist eine Vollzugshilfe des BUWAL als Aufsichtsbehörde und richtet sich primär an die Vollzugsbehörden. Sie konkretisiert unbestimmte Rechtsbegriffe von Gesetzen und Verordnungen und soll eine einheitliche Vollzugspraxis ermöglichen. Das BUWAL veröffentlicht solche Vollzugshilfen (oft auch als Richtlinien, Wegleitungen, Empfehlungen, Handbücher, Praxishilfen u.ä. bezeichnet) in seiner Reihe «Vollzug Umwelt».

Die Vollzugshilfen gewährleisten einerseits ein grosses Mass an Rechtsgleichheit und Rechtssicherheit; andererseits ermöglichen sie im Einzelfall flexible und angepasste Lösungen. Berücksichtigen die Vollzugsbehörden diese Vollzugshilfen, so können sie davon ausgehen, dass sie das Bundesrecht rechtskonform vollziehen. Andere Lösungen sind nicht ausgeschlossen, gemäss Gerichtspraxis muss jedoch nachgewiesen werden, dass sie rechtskonform sind.

Herausgeber

Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft (BUWAL)
Das BUWAL ist ein Amt des Eidg. Departements für Umwelt, Verkehr, Energie und Kommunikation (UVEK)

Autor

Michael Oehme, Organische Analytische Chemie
der Universität Basel

Begleitende Expertengruppe

Thomas Bucheli, FAL
Johannes Dettwiler, BUWAL
Georg Karlaganis, BUWAL
Peter Schmid, EMPA
Jürg Zihler, BUWAL

Titelbild

Wolfgang Kunz/Bilderberg

Bezug

Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft
Dokumentation
3003 Bern
Fax + 41 (0)31 324 02 16
E-Mail: docu@buwal.admin.ch
Internet: www.buwalshop.ch

Bestellnummer
VU-4813-D

© BUWAL 2003

INHALTSVERZEICHNIS

ABSTRACTS	5
VORWORT	7
1 Messprinzip	9
11 Vorbemerkungen	9
12 Sicherheitshinweis	9
2 Apparaturen, Chemikalien und Instrumente	9
21 Glasapparaturen und Geräte	9
211 Glasgeräte	9
212 Geräte zur Soxhletextraktion	10
213 Probengläschen	10
214 Diverse Geräte zur Extraktaufarbeitung	10
215 Dosierspritzen	11
216 Andere Ausrüstung	11
217 Reinigung von Glasgeräten	11
218 Reinigung von Soxhlethülsen	11
22 Chemikalien, Adsorbentien und Gase	11
221 Lösemittel	11
222 Verschiedene Chemikalien, Hilfsmittel und besondere Vorbereitungen	12
222.1 Ausgangsmaterial	12
222.2 Reinigung von Baumwolle	12
222.3 Vorbehandlung von Kieselgel	12
222.4 Vorbehandlung von Natriumsulfat	12
223 Gase und Gasnachreinigung	12
223.1 Ausgangsmaterial	12
223.2 Nachreinigung von Helium	12
223.3 Nachreinigung von Stickstoff	13
223.4 Regenerierung Molekularsieb	13
3 Standardlösungen zur Quantifizierung	13
31 Referenzstandards	13
32 Herstellen des Grundstandards	14
33 Herstellen des Internstandards	14
34 Herstellen des Wiederfindungsstandards	15
35 Herstellen des Quantifizierungsstandards	15
36 Lagerung von Standardlösungen	16

4	Probenvorbereitung	16
41	Vorbemerkungen	16
42	Trocknen und Siebfractionieren der Proben	16
43	Probenextraktion	16
44	Entfernen von elementarem Schwefel und von Schwefelverbindungen	16
45	Menge des dem Probenmaterial zugesetzten Internstandards	17
5	Extraktaufarbeitung	17
51	Vorbemerkungen	17
52	Gelpermeationschromatografie	17
521	Packen der GPC-Säule	17
522	Kalibrieren der GPC-Säule	18
523	Aufarbeitung des Probenextraktes mit GPC	18
53	Nachreinigen mit Kieselgel	18
531	Vorbemerkung	18
532	Durchführung der Kieselgelaufarbeitung	19
6	Quantitative Analyse	19
61	Vorbemerkungen	19
62	Gaschromatografische Trennung	19
621	Vorbemerkungen	19
622	Geräte	19
623	Injektionsspritzen	20
624	Trennkapillaren	20
625	Injektions- und Trennbedingungen	20
63	Massenspektrometrische Quantifizierung	21
631	Geräte	21
632	Optimierungs- und Detektionsbedingungen	21
64	Durchführung der Quantifizierung	22
7	Qualitätssicherung	24
71	Kontrolle der Standardlösungen zur Quantifizierung	24
72	Injektionshäufigkeit des Quantifizierungsstandards	24
73	Blindwerte bei Extraktion und Extraktaufarbeitung	24
74	Analyse von Kontrollproben	25
75	Archivierung der Qualitätssicherungsinformation	25
76	Anerkennung der Ergebnisse	25
8	Genauigkeit und Vergleichbarkeit der Methode	26
9	Literatur	26

ABSTRACTS

A method is described for the determination of *polychlorinated biphenyls (PCB)* in soil, which fulfils the criteria of the *quality assurance concept* for the analysis of organic pollutants in soil published by the Swiss Agency for the Environment, Forests and Landscape. The presented method also fulfils the requirements of the quality assurance norm *ISO/IEC 17'025*. It is based on soxhlet extraction of the dried soil samples followed by sample clean-up using column chromatography. The addition of internal standards prior to extraction (so-called extraction standards) allows the automatic correction of compound losses which are calculated for each sample by addition of a recovery standard to the sample extract before quantification. The separation of PCB is carried out by high resolution gas chromatography. Quantification is based on the internal standard method and low resolution mass spectrometry (MS). Detailed working procedures are given as well as information about quality control measures.

Es wird eine Methode zur Bestimmung von *polychlorierten Biphenylen (PCB)* in Böden beschrieben, welche das vom BUWAL veröffentlichte *Qualitätssicherungskonzept für die Analytik organischer Schadstoffe im Boden* erfüllt. Diese Methode erfüllt auch die Anforderungen der Qualitätssicherungsnorm *ISO/IEC 17'025*. Sie beruht auf Soxhletextraktion der getrockneten Bodenproben, gefolgt von einer Probenaufarbeitung mittels Säulenchromatografie. Der Zusatz von internen Standards vor der Probenextraktion (sogenannte Extraktionsstandards) erlaubt die automatische Korrektur von allfälligen Verlusten, die mit Hilfe der Zugabe von Wiederfindungsstandards zum Probenextrakt vor der Quantifizierung für jede einzelne Probe berechnet werden können. Die Trennung der PCB wird mit hochauflösender Gaschromatografie durchgeführt. Die Quantifizierung wird mit niedrigauflösender Massenspektrometrie (MS) in Bezug auf die internen Standards durchgeführt. Es werden sowohl detaillierte Arbeitsvorschriften als auch Informationen über Massnahmen der Qualitätskontrolle vermittelt.

Cette publication décrit une méthode de détection des *biphényles polychlorés (PCB)* dans le sol, qui remplit les exigences posées par le *système d'assurance de la qualité* élaboré par l'OFEFP pour l'analyse des polluants organiques du sol. Cette méthode répond également aux exigences de la norme d'assurance de la qualité *ISO/IEC 17'025*. Elle se base sur une extraction Soxhlet des échantillons de sols séchés, suivie d'une préparation des échantillons réalisée au moyen d'une chromatographie sur colonne. L'addition d'étalons internes (appelés étalons d'extraction) avant l'extraction de l'échantillon permet de corriger automatiquement les éventuelles pertes, qui peuvent être calculées pour chaque échantillon grâce à l'adjonction d'étalons de récupération avant la quantification. La séparation des PCB est effectuée à l'aide d'une chromatographie en phase gazeuse à haute résolution. La quantification se fait par spectrométrie de masse à basse résolution, en se référant aux étalons internes. La publication présente une méthode de travail détaillée ainsi que des informations sur les mesures de contrôle de la qualité.

In questa pubblicazione viene descritto un metodo per la determinazione dei *bifenili policlorurati (PCB)* nel suolo, che soddisfa il *Concetto di "Quality Assurance"* elaborato dall'UFAFP per l'analisi di sostanze organiche inquinanti presenti nel suolo. Il metodo soddisfa pure le esigenze della norma di "*Quality Assurance*" *ISO/CEI 17'025*. Esso è basato sull'estrazione secondo Soxhlet di campioni di suolo essiccati, cui fa seguito una purificazione del campione mediante cromatografia su colonna. L'aggiunta di standard interni prima dell'estrazione del campione (i cosiddetti standard per l'estrazione) consente la correzione automatica di eventuali perdite, che possono essere calcolate per ogni singolo campione. La separazione dei PCB viene eseguita con la cromatografia in fase gassosa ad alta risoluzione. La quantificazione viene effettuata mediante spettrometria di massa a bassa risoluzione con riferimento agli standard interni. Vengono fornite sia prescrizioni dettagliate concernenti l'attività pratica in laboratorio sia informazioni sulle misure inerenti il controllo della qualità.

VORWORT

Polychlorierte Biphenyle (PCB) sind – wie Dioxine, Furane oder polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) – organische Schadstoffe, welche Böden verunreinigen können. Deshalb sind für sie in der *Verordnung vom 1. Juli 1998 über Belastungen des Bodens (VBBo)* Prüf- und Sanierungswerte festgelegt worden. Zudem sind sie Gegenstand der im Jahre 2001 von 127 Ländern unterzeichneten *Stockholm-Konvention* über persistente organische Schadstoffe (POPs).

Die PCB-Analytik ist methodisch recht anspruchsvoll. Untersuchungen werden deshalb in der Praxis meist nur bei konkreten Hinweisen auf problematische Belastungen durchgeführt – beispielsweise Böden industrieller Standorte. Wie bei anderen organischen Schadstoffgruppen ist es wichtig, dass auch hier eine Methode vorliegt, die reproduzier- und vergleichbare Messwerte liefert.

Nach dem Qualitätssicherungskonzept, der Vollzugshilfe zur Bestimmung von Dioxinen und Furanen sowie für PAK legt Herr Prof. M. Oehme von der Organischen Analytischen Chemie der Universität Basel eine Referenzmethode für PCB vor, die dem aktuellen Stand des Wissens entspricht.

Wir stellen sie allen Interessierten zur Verfügung und hoffen, damit einen weiteren Beitrag zur Zuverlässigkeit und Vergleichbarkeit von Messdaten zu leisten. Gleichzeitig erfüllen wir damit einen Auftrag, der uns von der VBBo gestellt ist.

Ich danke allen, die zum guten Gelingen dieser Publikation beigetragen haben, ganz herzlich.

Bundesamt für Umwelt,
Wald und Landschaft

Georg Karlaganis
Chef der Abteilung Stoffe,
Boden, Biotechnologie

ABKÜRZUNGEN UND DEFINITIONEN

CEN	<i>Comité Européen de Normalisation</i> (Europäisches Komitee für Normung – in Brüssel).
DIN	Deutsches Institut für Normung.
EI	Elektronenionisation.
EN	Europäische Norm.
Extraktionsstandard	Verbindung, die vor der Probenextraktion dem Boden zugesetzt wird und mit deren Hilfe Extraktions- und Aufarbeitungsverluste korrigiert werden.
GC-ECD	Gaschromatographie-"Electron Capture Detection".
GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie.
GPC	Gelpermeationschromatographie.
HRGC	Hochauflösende Gaschromatografie.
ISO	International Organization for Standardization (Internationale Standardisierungsorganisation).
Isomer	Verbindung mit identischem Kohlenstoffgerüst und gleicher Anzahl identischer Substituenten an unterschiedlichen Positionen.
ISTD	Interner Standard.
Kongener	Verbindungen mit identischem Kohlenstoffgerüst, aber unterschiedlicher Anzahl von z.B. Chlorsubstituenten.
MS	Massenspektrometrie.
PCB	Polychlorierte Biphenyle.
ppb	"parts-per-billion": Mengenangabe in ng/g oder µg/kg.
SIM	"Selected ion monitoring" (selektive Ionendetektion).
u	Abkürzung für <i>atomic mass unit</i> auf der Grundlage des Kohlenstoffatoms, $^{12}\text{C} = 12.00000$ u.
VBBö	Verordnung vom 1. Juli 1998 über Belastungen des Bodens.
Wiederfindungsstandard	Verbindung, die vor der Quantifizierung dem Bodenextrakt zugesetzt wird und welche die Berechnung der Verluste des Extraktions- und Aufarbeitungsstandards erlaubt.

1 Messprinzip

11 Vorbemerkungen

Polychlorierte Biphenyle (PCB) werden aus der getrockneten Bodenprobe Soxhletextrahiert. ^{13}C -isotopenmarkierte PCB werden als interne Standardverbindungen vor der Probenextraktion zugesetzt. Störende Bestandteile der Probenmatrix werden durch verschiedene flüssigchromatografische Methoden entfernt. Nach Aufkonzentrierung und Zusatz eines Wiederfindungsstandards werden alle relevanten PCB-Verbindungen mit Hilfe der hochauflösenden Gaschromatografie getrennt und durch niedrigauflösende Massenspektrometrie (MS) mit Elektronenionisation quantitativ bestimmt.

Diese Messmethode ist für alle Arten von Böden – unabhängig vom Ausmass der Kontamination – geeignet. Nach VBBo¹ gilt für die Summe von 7 PCB (vgl. Tab. 1, S. 13) ein Prüfwert von 0.1–0.2 mg/kg Trockensubstanz. Dieser muss mit einer ausreichenden Nachweisgrenze noch sicher erfasst werden können. Je nach eingesetzter Bodenmenge liegt die Nachweisgrenze für Einzelverbindungen im Bereich 0.1–0.3 µg/kg (0.1–0.3 ppb); also etwa zwei Grössenordnungen unter diesen Anforderungen.

Hersteller werden mit Firmennamen nur dann angegeben, wenn das dort erhältliche Produkt in seinen Eigenschaften so besonders ist, dass nach derzeitigem Stand der Technik nur dieses in Frage kommt.

12 Sicherheitshinweis

PCB sind sehr toxische, krebserregende Verbindungen. Daher erfordern alle Arbeiten mit dieser Stoffgruppe äusserste Sorgfalt. Alle in der Schweiz zur Zeit geltenden Sicherheitsvorschriften für toxische Verbindungen müssen bei Anwendung dieser Methode strikt eingehalten werden.

2 Apparaturen, Chemikalien und Instrumente

21 Glasapparaturen und Geräte

211 Glasgeräte

Folgende Glasgeräte aus hochwertigem Borsilikatglas werden benötigt:

- *Rundkolben*: 100, 250, 500 und 1'000 mL Volumen, Schliff 24/29.
- *Pasteurpipetten*: 150 und 250 mm Länge.
- *Glasflaschen*: 500 und 1'000 mL (Polypropylendeckel GL 45) zur Probenaufbewahrung.
- *Masskolben mit Glasstopfen*: 10 mL, Qualität A, Genauigkeit ± 0.025 mL bei 20 °C.

¹ Verordnung vom 1. Juli 1998 über Belastungen des Bodens (VBBo, SR 814.12).

- *Erlenmeyerkolben*: 250 mL mit Glasstopfen.
- *Glastrichter*: 30 mm, 150 mm Durchmesser.
- *Chromatografiesäule*: 200 mm Länge, 15 mm Innendurchmesser.
- *Chromatografiesäule*: 600 mm Länge, 25 mm Innendurchmesser, mit Dichtkolben (z.B. Omnifit).
- *Vibrator*: Zum Trockenpacken von Chromatografiesäulen.
- *Petrischalen*: 150 mm Durchmesser.

212 Geräte zur Soxhletextraktion

- *Soxhletextraktor*: 200 mL Volumen, 250 mm lang, Schliff 34/35, Anschlusschliff 24/29.
- *Soxhletextraktor*: 2'000 mL mit Schliffplatte und Anschlusschliff 34/35.
- *Kugelkühler*: 330 mm lang, Schliff 24/29.
- *Schliffadapter*: 24/29 auf 34/35.
- *Extraktionshülsen*: Cellulose, 28 mm Durchmesser, 80 mm lang (bezüglich Vorbehandlung, vgl. Abschn. 218).
- *Polyurethanschaum*: 35 mm dick, 210x210 mm – zum Isolieren von Soxhletextraktoren.

213 Probengläschen

- *Probenfläschchen*: 1.5 mL mit 100 µL Einsatz und Septumkappe, Probenfläschchen 1.5 mL mit Schraubverschluss (Teflonbelegte Dichtung), Probenfläschchen 8 mL mit Schraubverschluss (Teflonbelegte Dichtung).
- *Certan[®] Probengläschen*: Promochem GmbH, 1.5 mL, mit Kapillaröffnung und Schraubverschluss mit Teflondichtung.

214 Diverse Geräte zur Extraktbearbeitung

- *Porzellanschalen*: 180 und 250 mm Durchmesser.
- *Druckminderer*: Metallbalggedichtet, fest eingestellt auf 3–5 bar.
- *Rotationsverdampfer*: Mit automatischer Druckregulierung.
- *Turbovap 500*: Einengapparatur (Zymark).
- *Gelpermeations-Chromatografiesystem*: Chromatografiesäule 600 mm Länge, 25 mm Innendurchmesser, gefüllt mit 50 g BioBeads S-X3, 200–400 mesh, HPLC-Pumpe mit Fluss 5 mL/min bei Gegendruck von ca. 6 bar und Injektor mit 10 mL Probenschlaufe.
- *Trockenschrank*: Temperaturbereich 50–300 °C, Genauigkeit ±3 °C.
- *Rohröfen*: Temperaturbereich 50–1'100 °C, Genauigkeit ±5 °C.
- *Analysenwaage*: Wägebereich 0-160 g, Genauigkeit ±0.001 g.
- *Schalenwaage*: 0–1'200 g, Genauigkeit ±0.1 g.
- *Mikrowaage*: Wägebereich 0–3'000 mg, Genauigkeit ±1 µg.
- *Keramikofen*: 200–1'000 °C, Genauigkeit ±10 °C.
- *Ultraschallbad*: 100 W Leistung.
- *Membranvakuumpumpen*: Lösungsmittelresistent mit Teflonmembranen, 4 oder 8 m³/Std, Endvakuum 8 kPa (80 mbar) für 8 m³/h, 1.5 kPa (15 mbar) für 4 m³/Std.
- *Heizpilze*: Für 500 und 1'000 mL Rundkolben.
- *Porzellanmörser*: Durchmesser 130 mm, Pistill 145x38 mm.
- *Sieb*: Aus rostfreiem Stahl, Maschenweite 2 mm (nach DIN 4188).

215 Dosierspritzen

- *Mit eingegossener Nadel und eingeschliffenem Stahlkolben:* 10, 25, und 1'000 μL .
- *Vollpipette:* 1 mL, Genauigkeit ± 0.01 mL.
- *Glasspritze:* 5 mL, skaliert, mit Luer-Anschluss.
- *GC-Spritze:* 10 μL , mit eingegossener Nadel und eingeschliffenem Stahlkolben für Autosampler.
- *Kalibrierte Mikropipetten:* 10, 20, 50 und 100 μL , Genauigkeit ± 0.25 –1 %.

216 Andere Ausrüstung

- *Lösemittelresistente Handschuhe.*
- *Wegwerfhandschuhe aus Polyethylen.*
- *Korkringe.*
- *Siedesteine:* Vorgereinigt.
- *Schliffklammern:* Für Schliff 14 und 29.

217 Reinigung von Glasgeräten

Alle Typen Rundkolben, Bechergläser, Zentrifugenröhrchen und Chromatografiesäulen werden nach jeder Extraktbearbeitung für 24 h in eine 2.5 % (v/v) Lösung von RBS 25 (vgl. *Abschn. 222*) gelegt und danach zweimal mit warmem Leitungswasser und zweimal mit deionisiertem Wasser z.B. aus einer Millipore MilliQ-Anlage gespült. Nach Lufttrocknung werden die Glasgeräte während 6 h in einem Keramikofen bei 350–450 °C ausgeheizt. So werden eventuelle Reste an organischen Verschmutzungen entfernt. Pasteurpipetten werden vor Gebrauch kurz mit dem gleichen Lösemittel gespült, das nachher verwendet wird.

218 Reinigung von Soxhlethülsen

Bis zu acht Soxhlethülsen werden in einem 2'000 mL Soxhletextraktor mit Dichlormethan 8 h extrahiert. Nach Trocknen in einem Vakuumexsikkator (20 kPa bzw. 0.2 bar bei 100 °C) werden diese in Aluminiumfolie eingepackt.

22 Chemikalien, Adsorbentien und Gase

221 Lösemittel

Alle Lösemittel sind von der Qualität "zur Rückstandsanalyse" und werden ohne zusätzliche Vorreinigung verwendet:

- Cyclohexan
- n-Hexan
- Dichlormethan
- Diethylether
- Ethylacetat
- n-Nonan
- *iso*-Oktan

222 Verschiedene Chemikalien, Hilfsmittel und besondere Vorbereitungen

222.1 Ausgangsmaterial

- *Baumwolle*: Chemisch rein (Reinigung; vgl. *Abschn.* 222.2).
- *Aluminiumfolie*: 450 mm breit.
- *Aluminiumoxid*: basisch, pH 10 Aktivität I, 50–200 µm.
- *Gelpermeationsphase*: Bio Beads S-X3, GPC-Gel, 200–400 mesh, Bio Rad.
- *Kieselgel*: 0.063–0.20 mm (Vorbehandlung; vgl. *Abschn.* 222.3).
- *Silanisierte Glaswolle*: Dimethyldichlorsilan-vorbehandelt.
- *Natriumsulfat*: Zur Analyse (Vorbehandlung; vgl. *Abschn.* 222.4).
- *RBS 25 Laborspülmittel*: Chemical products, Brüssel, Belgien.

222.2 Reinigung von Baumwolle

50 g Baumwolle werden zuerst 8 h mit 600 mL Dichlormethan soxhletextrahiert und anschliessend in einem Exsikkator bei Raumtemperatur unter Vakuum getrocknet. Danach wird die Prozedur mit 600 mL n-Hexan wiederholt.

222.3 Vorbehandlung von Kieselgel

Etwa 100 g Kieselgel werden in eine Porzellanschale von 180 mm Durchmesser überführt und bei 130 °C im Trockenschrank 8 h aktiviert. Danach wird das Material in einer Glasflasche mit Teflon abgedichtetem Schraubdeckel aufbewahrt. Die Haltbarkeit beträgt vier Wochen.

222.4 Vorbehandlung von Natriumsulfat

Zwei Einwaagen von ca. 100 g werden in je einer Porzellanschale mit 180 mm Durchmesser während 8 h bei 600 °C dehydriert und danach in der Originalflasche aufbewahrt. Die Haltbarkeit beträgt drei Monate.

223 Gase und Gasnachreinigung

223.1 Ausgangsmaterial

Helium, 99.995 % (Nachreinigung, vgl. <i>Abschn.</i> 223.2)	Stickstoff, 99.99 % (Nachreinigung; vgl. <i>Abschn.</i> 223.3)
O ₂ /Aktivkohlefilter	Molekularsiebfilter
Eventuell loses Molekularsieb, 0.5–2.0 mm (Vorbehandlung; vgl. <i>Abschn.</i> 223.4)	Aktivkohle, 1.5 mm Partikelgrösse
Leere Metallpatronen, Whitey 304L-HDF4-50 oder 340L-HDF4-75 bzw. äquivalent aus rostfreiem Stahl.	

223.2 Nachreinigung von Helium

Helium, welches als Trägergas für Gaschromatografen dient, wird wie folgt gereinigt:

- Ein Filter, gefüllt mit Molekularsieb, und ein O₂/Aktivkohlefilter werden in Serie direkt nach dem Druckflaschenventil montiert. Diese zwei Einheiten werden nach dem Verbrauch von zwei 50 L Druckflaschen, oder einmal jährlich, ausgetauscht.
- Zwei Metallpatronen in Serie werden direkt vor den Trägergaseingang des Gaschromatografen montiert. Die erste ist mit Molekularsieb (vgl. *Abschn.* 223.4) und die zweite mit

Aktivkohle gefüllt. Diese beiden Patronen werden nur bei Unregelmässigkeiten und Störungen (z.B. vollständige Entleerung einer Druckflasche), oder spätestens nach drei Jahren, gewechselt. Druckflaschen dürfen niemals auf weniger als 1'500 kPa (15 bar) geleert werden. Die O₂/Aktivkohlefilter werden weggeworfen. Der Inhalt der Molekularsiebfilter wird mit regeneriertem Molekularsieb (vgl. *Abschn. 223.4*) ersetzt. Die Aktivkohle in den Metallpatronen wird mit neuer ersetzt.

223.3 Nachreinigung Stickstoff

Stickstoff wird zum Einengen oder als Druckquelle verwendet. Er wird mit einer Metallpatrone nachgereinigt, die zuerst zur Hälfte mit Molekularsieb und dann mit Aktivkohle gefüllt ist (Flussrichtung). Der Inhalt der Patrone wird nach jeder 50 L Druckflasche gewechselt; diese darf nicht unter 1'500 kPa (15 bar) entleert werden.

223.4 Regenerierung Molekularsieb

Das zu regenerierende Molekularsieb wird in eine leere Metallpatrone gefüllt und 3 h bei 300 °C im Rohofen aktiviert (vgl. *Abschn. 214*); die Patrone wird dabei mit nachgereinigtem Stickstoff mit einem Fluss von 20 mL/min gespült. Die Patrone kann nach Abkühlen (unter Stickstofffluss) entweder direkt verwendet werden, oder der Inhalt kann in eine andere Patrone überführt werden (Dichtigkeitskontrolle!).

3 Standardlösungen zur Quantifizierung

31 Referenzstandards

Kalibrier- und Referenzverbindungen sollten wenn immer möglich als kristalline Festkörper zertifizierter Qualität beschafft werden. Ihre Reinheit sollte mindestens 99 % betragen. Benötigt werden die in *Tabelle 1* aufgeführten Verbindungen.

Tabelle 1: Liste der eingesetzten PCB und Internstandards.

Verbindung	Abkürzung und Numerierung nach IUPAC
2,4,4'-Trichlorbiphenyl	PCB 28*
2,2',5,5'-Tetrachlorbiphenyl	PCB 52*
2,2',4,5,5'-Pentachlorbiphenyl	PCB 101
2,3',4,4',5-Pentachlorbiphenyl	PCB 118*
2,2',4,4',5,5'-Hexachlorbiphenyl	PCB 153*
2,2',3,4,4',5'-Hexachlorbiphenyl	PCB 138
2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorbiphenyl	PCB 180*
1,2,3,4-Tetrachlornaphthalin (Wiederfindungsstandard)	TCN

Anmerkung: * Auch als ¹³C-isotopenmarkierte Verbindung benötigt.

Zertifizierte Referenzverbindungen können z.B. vom "Institute for Reference Materials and Measurements, Geel, Belgium, IRMM", von "Dr. Ehrenstorfer" (Augsburg, Deutschland) oder von "Promochem" (Wesel, Deutschland) bezogen werden.

Die Referenzstandards werden bei 4–6 °C aufbewahrt. Auf Grund ihrer chemischen Stabilität haben PCB, die als Festkörper im Dunkeln gelagert werden, unbegrenzte Haltbarkeit. Vor der Einwaage werden alle benötigten Referenzstandards mindesten vier Stunden bei Raumtemperatur aufbewahrt.

32 Herstellen des Grundstandards

Der Grundstandard Std 1 enthält die in *Tabelle 1* aufgelisteten Verbindungen ohne Intern- und Wiederfindungsstandards. Einige der Standardverbindungen sind karzinogen. Deshalb muss bei der Einwaage mit grösster Vorsicht gearbeitet werden. Die Vorschriften für die Verwendung der Analysenwaage müssen eingehalten werden. Ausserdem sollten Wegwerfhandschuhe getragen und der Bereich um die Waage mit Papier oder Aluminiumfolie abgedeckt werden.

Das Wägeschiffchen und der Spatel müssen vor Gebrauch mit n-Hexan gründlich im Ultraschallbad gereinigt werden. Der Grundstandard wird in einem 10 mL Masskolben angesetzt, wobei die Konzentration der einzelnen Verbindungen, die in *Tabelle 1* aufgeführt sind, im Bereich 100 ± 20 ng/ μ L liegen soll. Dies entspricht einer Einwaage von $1'000 \pm 200$ μ g pro Verbindung. Je nach Massenspektrometer sind die Ansprechfaktoren der einzelnen PCB-Kongenere unterschiedlich, so dass die Konzentrationen eventuell angepasst werden müssen. Nach Einwaage jeder Substanz wird der Spatel mit n-Hexan und einer Pasteurpipette abgespült und mit einem Papiertuch abgetrocknet.

Der Inhalt des Wägeschiffchens wird mit n-Hexan in den 10 mL Masskolben gespült und fast bis zur Marke aufgefüllt. Danach wird der Masskolben in ein Ultraschallbad gestellt, bis sich alles gelöst hat. Nach dem Abkühlen wird noch fehlendes Lösungsmittel nachdosiert. Der Masskolben wird bezeichnet und gewogen. Alle Angaben werden im Standardverzeichnis notiert.

33 Herstellen der Internstandards

Das Wägeschiffchen und der Spatel müssen vor Gebrauch mit Hexan gründlich im Ultraschallbad gereinigt werden. Der Internstandard wird in einem 10 mL Masskolben angesetzt. Die Konzentration der ^{13}C -isotopenmarkierten PCB, die als interne Standardverbindung verwendet werden, soll im Bereich von 100 ± 20 ng/ μ L liegen. Dies entspricht einer Einwaage von $1'000 \pm 200$ μ g. Nach Einwaage der Substanz wird der Spatel mit Hexan und einer Pasteurpipette abgespült und mit einem Papiertuch abgetrocknet.

Der Inhalt des Wägeschiffchens wird mit *iso*-Oktan in den 10 mL Masskolben gespült und fast bis zur Marke aufgefüllt. Danach wird er in ein Ultraschallbad gestellt, bis sich alles gelöst hat. Nach dem Abkühlen wird noch fehlendes Lösungsmittel nachdosiert. Der Masskolben wird bezeichnet und gewogen. Alle Angaben und die bei der Entnahme aufgetretenen Massenabnahme werden im Standardverzeichnis notiert.

Zur Herstellung eines Verdünnungsstandards 1:10 bzw. 1:100 wird der Masskolben auf Raumtemperatur temperiert und die Masse kontrolliert. Lösungsmittelverluste werden bis zum letzten Kontrollgewicht ausgeglichen. 1 mL oder 0.1 mL werden in einen 10 mL Masskolben überführt und mit *iso*-Oktan verdünnt. Die Konzentration beträgt jetzt 10 ± 2 ng/ μ L

bzw. 1 ± 0.2 ng/ μ L. Die Haltbarkeit beträgt 24 Monate. Jeweils 1 mL werden als Arbeitsstandard in ein 1.5 mL Probengläschen mit Kapillaröffnung (CERTAN[®]) überführt.

34 Herstellen des Wiederfindungsstandards

Als Wiederfindungsstandard wird 1,2,3,4-Tetrachlornaphthalin verwendet.

Das Wägeschiffchen und der Spatel müssen vor Gebrauch mit n-Hexan gründlich im Ultraschallbad gereinigt werden. Der Internstandard wird in einem 10 mL Masskolben angesetzt. Die Konzentration des Wiederfindungsstandards soll im Bereich von 100 ± 20 ng/ μ L liegen. Dies entspricht einer Einwaage von $1'000 \pm 200$ μ g. Nach Einwaage der Substanz wird der Spatel mit Hexan und einer Pasteurpipette abgespült und mit einem Papiertuch abgetrocknet.

Der Inhalt des Wägeschiffchens wird mit *iso*-Oktan in den 10 mL Masskolben gespült und fast bis zur Marke aufgefüllt. Danach wird er in ein Ultraschallbad gestellt, bis sich alles gelöst hat. Nach dem Abkühlen wird noch fehlendes Lösungsmittel nachdosiert. Der Masskolben wird bezeichnet und gewogen. Alle Angaben und die bei der Entnahme aufgetretenen Massenabnahme werden im Standardverzeichnis notiert.

Zur Herstellung eines Verdünnungsstandards 1:10 bzw. 1:100 wird der Masskolben auf Raumtemperatur temperiert und die Masse kontrolliert. Lösungsmittelverluste werden bis zum letzten Kontrollgewicht ausgeglichen. 1 mL oder 0.1 mL werden in einen 10 mL Masskolben überführt und mit *iso*-Oktan verdünnt. Die Konzentration beträgt jetzt 10 ± 2 ng/ μ L bzw. 1 ± 0.2 ng/ μ L. Jeweils 1 mL werden als Arbeitsstandard in ein 1.5 mL Probengläschen mit Kapillaröffnung (CERTAN[®]) überführt.

35 Herstellen der Quantifizierungsstandards

Der Masskolben mit dem Grundstandard Std 1 wird aus dem Tiefkühler entnommen. Anschliessend wird der Kolben auf Raumtemperatur gebracht und die Masse kontrolliert. Danach wird er 5 min ins Ultraschallbad gesetzt und sichergestellt, dass alles gelöst ist. Andernfalls muss die Ultraschallbehandlung wiederholt werden. Lösungsmittelverluste werden bis zum letzten Kontrollgewicht ausgeglichen.

0.5 mL des Grundstandards Std 1 werden in einen 10 mL Masskolben überführt und mit n-Hexan bis zur Eichmarke aufgefüllt (Verdünnung 1:20). Die Konzentration der Einzelverbindungen beträgt 5 ± 1 ng/ μ L. Der Masskolben wird mit Std 2 bezeichnet, gewogen und bei -20 °C im Tiefkühler aufbewahrt. Die Haltbarkeit beträgt 12 Monate. Alle Angaben und die bei der Entnahme aufgetretenen Massenabnahme werden im Standardverzeichnis notiert.

Für eine Mehrpunktekalisierung werden fünf Quantifizierungsstandards im Bereich 5–500 pg/ μ L hergestellt; so z.B. 10, 20, 50, 200 und 500 pg/ μ L. Die Konzentration der internen Standards und des Wiederfindungsstandards (vgl. *Abschn. 34* und *35*) wird auf etwa 100 pg/ μ L festgelegt. Für einen 10 mL Masskolben entspricht dies einem Zusatz des Standards Std 2 von 0.1 mL, 0.4 mL oder 1 mL für die Konzentrationen 50, 200 und 500 pg/ μ L. Für die restlichen Quantifizierungsstandards muss der Standard Std 2 nochmals um einen Faktor 10 verdünnt werden (Std 3). Für den Intern- und Wiederfindungsstandard werden 1 mL der Verdünnung 1:100 mit 1 ng/mL zugesetzt. Jeweils 1 mL der Kalibrierlösungen werden als Arbeitsstandard in ein 1.5 mL Probengläschen mit Kapillaröffnung (CERTAN[®]) überführt.

Eine Quantifizierung mittels Einpunktkalibrierung kann ausgeführt werden, wenn die Linearität des Massenspektrometers die in *Abschnitt 4* der Wegleitung "*Qualitätssicherungskonzept – Analytik von PAK, PCB und Dioxinen im Boden*" gestellten Bedingungen erfüllt.

36 Lagerung von Standardlösungen

Alle festen Referenzstandards werden bei 4–6 °C im Dunklen aufbewahrt und haben unbegrenzte Haltbarkeit. Alle Grund-, Intern- und Wiederfindungsstandards werden bei –20 °C aufbewahrt. Sie haben 24 Monate Haltbarkeit. Alle anderen Standards werden bei 4–6 °C gelagert. Ihre Haltbarkeit ist auf maximal 12 Monate begrenzt. Arbeitsstandards, die in Probenfläschchen mit Kapillaröffnung (CERTAN[®]) aufbewahrt werden, müssen nicht kontrollgewogen werden (Verdampfungsverlust <1 mg während sechs Monaten). Sie können maximal sechs Monate verwendet werden.

4 Probenvorbereitung

41 Vorbemerkungen

Bodenproben sollten kein biologisches Material enthalten (Wurzeln, Grasreste). Die Proben werden in Weithalsflaschen von 0.5–1 L Volumen aufbewahrt (vgl. *Abschn. 211*). Bereits gebrauchte Flaschen sollen nach *Abschnitt 217* vorgereinigt werden. Neue Flaschen hingegen müssen lediglich bei 350–450 °C ausgeheizt werden.

42 Trocknen und Siebfraktionieren der Proben

Alle Proben werden auf einer Petrischale im Trockenschrank bei 40 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet (24–72 h). Der Wassergehalt wird berechnet. Klumpige Proben werden im Porzellanmörser mit Pistill zerkleinert. Alle Proben werden anschliessend auf eine Korngrösse von 2 mm gesiebt.

43 Probenextraktion

10–25 g der Fraktion ≤ 2 mm werden in eine Soxhlethülse (28x80 mm) eingewogen und 10–50 μ L der internen Standardlösung zugesetzt (vgl. *Abschn. 34* und *45*). Eine kleine Menge gereinigte Baumwolle wird zuoberst in die Hülse gelegt und die Probe danach in einem 200 mL Soxhletextraktor mit 300 mL n-Hexan während 24 h extrahiert. Der Extraktor wird wärmeisoliert (Einpacken in eine Polyurethanschäummatte).

44 Entfernen von elementarem Schwefel und von Schwefelverbindungen

Böden enthalten oft nur wenig Schwefel, der bei einer massenspektrometrischen Detektion nicht stört. Dieser wird zudem durch die Aufarbeitung mittels Gelpermeationschromatografie

(GPC) effektiv entfernt (vgl. *Abschn. 52*). Wird die GPC weggelassen, so muss eventuell eine der Methoden zur Schwefelentfernung verwendet werden, die in der Wegleitung "*Qualitätssicherungskonzept – Analytik von PAK, PCB und Dioxinen im Boden*" unter *Abschnitt 73* erwähnt sind. Weil die vorliegend beschriebene Methode mit GPC validiert wurde, muss dieser Methodenschritt allenfalls neu validiert werden.

45 Menge des dem Probenmaterial zugesetzten Internstandards

Die Menge an Internstandard, welche dem Probenmaterial zugesetzt werden soll, hängt sowohl von der aufzuarbeitenden Probenmenge als auch von der erwarteten Konzentration ab. Die nachfolgende Mengenangabe entspricht einem Richtwert, welcher allenfalls den Erfordernissen der Probe angepasst werden muss. Es gilt grundsätzlich die Regel, dass die zugesetzte Menge an Internstandard etwa dem Durchschnitt der zu erwartenden Einzelmengen an PCB entsprechen sollte.

Richtwerte für Menge an zugesetztem Internstandard

- **Nicht kontaminiertes Material:** Menge an Probenmaterial 40–50 g (eventuell 2 Soxhlet-extraktionen), zugesetzte Menge Internstandard 20 µL der 1:10 Verdünnung mit 10 ng/µL (ca. 200 ng pro PCB), zugesetzte Menge Wiederfindungsstandard 20 µL der 1:10 Verdünnung mit 10 ng/µL (ca. 200 ng).
- **Kontaminiertes Material:** Menge Probenmaterial 5–10 g (allenfalls grössere Menge, aber nur ein Aliquot des Extrakts aufarbeiten), Internstandard 20 µL der 1:10 Verdünnung mit 10 ng/µL (ca. 200 ng pro PCB), zugesetzte Menge Wiederfindungsstandard 20 µL der 1:10 Verdünnung mit 10 ng/µL (ca. 200 ng).

5 Extraktbearbeitung

51 Vorbemerkungen

Bodenproben können Matrixkomponenten enthalten, welche den Nachweis von PCB mit GC-ECD oder GC-MS stören können. Der Hauptanteil kann durch Gelpermeationschromatografie (GPC) entfernt werden. Diese Methode entfernt störende Komponenten mit Molekulargewichten, welche nicht denjenigen der PCB entsprechen. Beispiele sind elementarer Schwefel und Huminstoffe.

52 Gelpermeationschromatografie

521 Packen der GPC-Säule

50 g Bio Beads S-X3 (vgl. *Abschn. 222*) werden in einen 250 mL Erlenmeyerkolben eingewogen und der Adsorbent wird vollständig mit Cyclohexan/Ethylacetat 1+1 bedeckt und 24 h quellen gelassen. Die Suspension wird in eine Säule von 600 mm Länge und 25 mm ID gefüllt, in die der untere Kolben eingesetzt ist. Nachdem das Säulenmaterial sich abgesetzt

hat, wird das überflüssige Lösemittel durch den Teflonschlauch abgelassen und der Vorgang so oft wiederholt, bis die Säule vollständig gefüllt ist. Danach wird der obere Dichtungskolben eingesetzt und so weit hinuntergepresst, dass kein Totvolumen mehr zwischen Packmaterial und Kolben besteht. Die Säule darf nie trocken laufen! Sie wird konditioniert, indem Cyclohexan/Ethylacetat 1+1 während 2 h mit einem Fluss von ca. 2 mL/min durchgepumpt wird. Danach kann das Packmaterial normalerweise nochmals mit dem Kolben komprimiert werden.

522 Kalibrierung der GPC-Säule

Jede neu gepackte Säule muss in bezug auf Abtrenneigenschaften und Probenmatrixkapazität sowie Wiederfindung der PCB getestet werden. Zu diesem Zweck werden 500 mg einer sehr matrixreichen Probe wie Fischöl (z.B. Lebertran) in 5 mL Cyclohexan/Ethylacetat 1+1 gelöst. Die gesamte Probe wird dann mit einer 5 mL Glasspritze mit Luer-Anschluss eingespritzt. Sie wird anschliessend mit Cyclohexan/Ethylacetat 1+1 mit einem Fluss von 5 mL/min eluiert. 20 Fraktionen à je 10 mL (d.h. ca. 2 min pro Fraktion) werden in tarierte Reagenzgläser aufgesammelt. Alle Fraktionen werden bei 50 °C eingedampft und gewogen. Nach 20 min sollte mehr als 90 % des Fettes eluiert sein. Sonst ist die Trennung der Säule zu schlecht, und diese muss neu gepackt werden.

Die Wiederfindung der PCB wird mit einer Totalmenge von ca. 10–50 ng pro PCB-Einzelkongener (entspricht ca. 1–5 ng/g bei einer Probenmenge von 10 g Boden) und einer entsprechenden Menge an Internstandard kontrolliert. Hierbei werden vier Fraktionen à je 5 min genommen. Das Aufsammeln beginnt nach 20 Minuten. Jede Fraktion wird nach Zusatz des Wiederfindungsstandards (10–50 ng) quantifiziert. Die Summe der totalen Wiederfindungen der einzelnen Fraktionen sollte >90 % sein. An Hand der Verteilung der PCB-Kongener in den einzelnen Fraktionen wird das Zeitfenster der endgültigen Sammelfraktion bestimmt und durch einen erneuten Wiederfindungstest kontrolliert.

523 Aufarbeitung des Probenextraktes mit GPC

Der Rohextrakt wird am Turbovap auf ca. 1 mL konzentriert und 5 mL Cyclohexan/Ethylacetat 1+1 zugesetzt. Danach wird mit den durch die Kalibrierung festgestellten Aufarbeitungsparameter gereinigt.

53 Nachreinigen mit Kieselgel

531 Vorbemerkung

Nach der Vorreinigung mittels GPC wird der Probenextrakt anschliessend noch auf Kieselgel nachgereinigt. Bei Proben, die wenig Probenmatrix und Schwefel enthalten kann dieser Aufarbeitungsschritt direkt nach der Extraktion vorgenommen werden.

Der Cyclohexan/Ethylacetatextrakt wird in einen Rundkolben überführt. Danach werden 50 µL n-Nonan als "keeper" zugesetzt und der Extrakt am Turbovap auf etwa 0.5–1 mL eingengt. Er darf nicht mehr nach Ethylacetat riechen. Ansonsten muss die Prozedur wiederholt werden.

532 Durchführung der Kieselgelaufarbeitung

Eine Glassäule von 200 mm Länge und 15 mm Innendurchmesser wird am Boden mit etwas Baumwolle bedeckt. Danach wird sie mit n-Hexan zu etwa 50 % gefüllt und 4 g Kieselgel (vgl. *Abschn. 222.3*) zugegeben. Das Packmaterial wird mit einem Vibrator verdichtet und 1 g Na₂SO₄ zugegeben. Danach wird die Säule mit 30 mL 10 % Diethyleter in n-Hexan gewaschen. Die Säule darf nie trockenlaufen! Der Probenextrakt wird nun auf die Säule gegeben. Der Probenkolben wird mit 2–3 mL 10 % Diethyleter in n-Hexan gespült; dieses Volumen wird ebenfalls auf die Säule überführt.

Die Säule wird anschliessend mit 30 mL 10 % Diethyleter in n-Hexan eluiert. Diese Fraktion wird in einem Turbovapglas aufgesammelt; dieser werden 20 µL n-Nonan als "keeper" zugesetzt. Die Probe wird am Turbovap auf 0.5 mL eingengt. Anschliessend wird der Extrakt in ein Probenfläschchen überführt. Das Turbovapgefäss wird dreimal mit einem Volumen von ca. 0.15 mL n-Hexan gespült, welches ebenfalls ins Probengläschen überführt wird. Das Volumen kann anschliessend mit einem Stickstoffstrom auf das gewünschte Endvolumen (ca. 200 µL) eingengt werden. Die Lösemitteloberfläche darf dabei vom Gasstrom nicht gekräuselt werden. Die Probe ist nun bereit für die Quantifizierung.

6 Quantitative Analyse

61 Vorbemerkungen

Allen Probenextrakten muss vor der quantitativen Analyse mittels einer Dosierspritze oder Wegwerf-Mikropipette die in *Abschnitt 45* angegebene Menge an Wiederfindungsstandard zugesetzt werden. Das Probenvolumen wird, falls nötig, durch vorsichtiges Abblasen mit gereinigtem Stickstoff auf ca. 200 µL verkleinert. Anschliessend können die in *Abschnitt 624* genannten Probenmengen injiziert werden.

62 Gaschromatografische Trennung

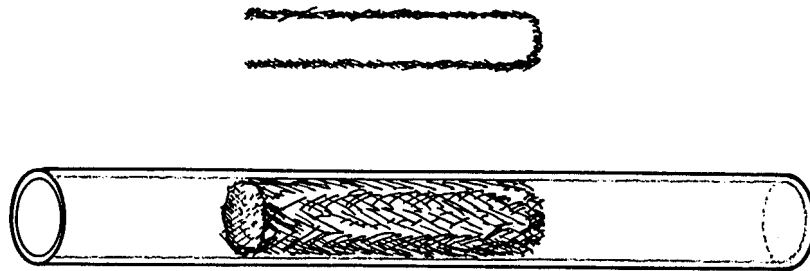
621 Vorbemerkungen

Speziell kritische Trennungen sind PCB 28 von 31 sowie PCB 138 von 163. Die letztere Trennung gelingt nur auf speziellen Phasen (vgl. Kommentare und Literatur in der Wegleitung "*Qualitätssicherungskonzept – Analytik von PAK, PCB und Dioxinen im Boden*").

622 Geräte

- Gaschromatograf.
- Injektor für die splitlose oder "on-column" Injektion, allenfalls Autoinjektor. Volumen des Verdampfer Röhrchens mindestens 1 mL. Sofern ein Autoinjektor verwendet wird, muss das Röhrchen mit silanisierter Glaswolle gefüllt werden; diese wird wie eine kleine Soxhlet-hülse geformt (vgl. *Abb. 1*).

Abbildung 1: Positionieren und Struktur der Glaswolle beim Verwenden des Autoinjektors.



623 Injektionsspritzen

Zur manuellen Injektion werden 5 oder 10 μL Spritzen mit fester, nicht austauschbarer Nadel, und Metallkolben verwendet. Das Gleiche gilt für den Autoinjektor.

624 Trennkapillaren

Folgende Trennkapillare können verwendet werden:

- *5-%-Phenyl-95-%-methylpolysiloxan*: z.B. DB5, Ultra 2, CP-Sil 8, RTx5 oder vergleichbar, immobilisiert, Filmdicke 0.1 μm .
- *14-%-Cyanopropylphenyl-86-%-methylpolysiloxan*: z.B. DB1701, HP-1701, CP-Sil 19, RTx1701 oder vergleichbar, immobilisiert, Filmdicke 0.1 μm .
- *90-%-Biscyanopropyl-10-%-Phenylcyanopropylpolysiloxan*: z.B. RTx2330, SP-2330, CP-Sil 84 oder vergleichbar, immobilisiert, Filmdicke 0.1 μm .
- *Kapillardimensionen*: Polyimidbelegte Quarzkapillare, 25 oder 30 m Länge, 0.20 oder 0.25 mm Innendurchmesser.

625 Injektions- und Trennbedingungen

- *Trägergas*: He, Flussgeschwindigkeit 35–45 cm/s.
- *Gasfluss am Splitauslass*: 50 \pm 10 mL He/min.
- *Septumspülung*: 0.8–1.0 mL He/min.
- *Injektortemperatur*: 280 °C.
- *GC/MS-Interfacetemperatur*: 260 °C.

Injektionsbedingungen: Splitlose Injektion (Autoinjektor oder Heissnadelinjektion) von 1–3 μL Probe, 2 min Wartezeit vor Öffnen des Splitventils.

Temperaturprogramm: Nur informativ, muss je nach Kapillardimension und Phase angepasst werden. 60 °C, 2 min Wartezeit, 60 °C bis 150–190 °C mit 30 °C/min, von 150–190 °C auf 230–280 °C mit ca. 3 °C/min, isotherm (6.5–15 min).

Manuelle Heissnadelinjektion: Selbst schwerflüchtige PCB werden mit dieser Technik praktisch quantitativ in die Kapillare überführt:

- Die Probe in die Spritze hochziehen bis die Nadel leer ist (Luftvolumen von 2–3 mm sichtbar).
- Die leere Nadel einführen und 5–10 s warten (die Nadel wird aufgeheizt).
- Probe injizieren, Überdruck infolge verdampfendem Lösemittel schleudert die Probe als Aerosoltröpfchen aus der Nadel.

Alternativ kann "on-column"-Injektion verwendet werden – in desaktivierte, aber nicht belegte, Vorsäule ("retention gap") von etwa 2 m Länge und 0.32–0.53 mm ID.

Der korrekte Messzeitbereich für jede Gruppe von Ionen (vgl. *Abschn. 632*) muss mit einer dotierten Probe oder einem Standardgemisch kontrolliert werden. Eine genaue Kontrolle aller Messzeitbereiche ist nur notwendig, wenn eine neue Trennkapillare erstmals eingesetzt wird oder wenn sich die Retentionszeiten wesentlich (>30 s) verändert haben. Normalerweise genügt es, die Retentionszeitbereiche der einzelnen Gruppen – entsprechend der Retentionszeitdifferenz für PCB 118 – zu korrigieren.

63 Massenspektrometrische Quantifizierung

631 Geräte

Es wird ein Massenspektrometer mit Elektronenionisation (EI) eingesetzt. Bei den in *Abschnitt 632* beschriebenen Detektionsbedingungen müssen folgende typische Nachweisgrenzen für die gesamte Probenmenge erreicht werden (Signal/Rauschverhältnis 3:1 für das GC-Signal): Bei Injektion von 1 µL des Probenextrakts etwa 10–20 pg. Bei einem Probenvolumen von z.B. 200 µL entspricht dies etwa einer Totalmenge von 2–4 ng pro Probe.

632 Optimierungs- und Detektionsbedingungen

- Manuelle Optimierung der Ionenausbeute der Ionenquelle und der Transmission des Massenfilters (Quadrupol) mit Perfluortributylamin (PFTBA) mit Hilfe der Fragmentmassen m/z 219.0, 264.0 und 414.0. Die Signalbreite wird bei halber Höhe auf 0.55 ± 0.03 u eingestellt und die Massenskala auf ± 0.05 u Genauigkeit geeicht.

Elektronenenergie: 70 eV (EI), Ionenquellentemperatur 200 °C.

- Detektion des M^+ - und des $[M+2]^+$ -, bzw. des $[M+2]^+$ - und des $[M+4]^+$ -Ions. Das Massenspektrometer wird im SIM-Modus ("Selected Ion Monitoring") angesteuert. Messzeit ("dwell time") 50 ms/Ion oder mindestens 10–12 Messpunkte pro chromatografisches Signal – total ≤ 11 Ionen pro Gruppe.

Zur Quantifizierung wird das in *Tabelle 2* aufgelistete SIM-Programm verwendet. Die genaue Masse, die das beste Signal/Rauschverhältnis ergibt, muss durch eine dynamische Masseneichung bestimmt werden (Signal/Rauschverhältnisse bei etwa -0.2 bis +0.2 u der nominellen Masse).

Tabelle 2: Massen der Ionengruppen zur Quantifizierung der PCB mit GC/MS. Das Ion mit der höchsten Masse wird zur Quantifizierung verwendet. Die Gruppen müssen eventuell je nach stationärer Phase verändert werden.

Gruppe Nr.	PCB Nr.	M ⁺	[M+2] ⁺
1	PCB 28, PCB 31	255,9	257,9
	1,2,3,4-TCN	263,9	265,9
	¹³ C-PCB 28	267,9	269,9
2	PCB 52	289,9	291,9
	¹³ C-PCB 52	301,9	303,9
	1,2,3,4-TCN	263,9	265,9
3	PCB 101, PCB 118	325,8*)	327,8*)
	¹³ C-PCB 118	337,9*)	339,9*)
4	PCB 138, PCB 153	359,8*)	361,8*)
	¹³ C-PCB 153	371,8*)	373,8*)
5	PCB 180	393,8*)	395,8*)
	¹³ C-PCB 180	405,7*)	407,7*)

*) [M+2]⁺- bzw. [M+4]⁺-Ion

64 Durchführung der Quantifizierung

Nach Abschluss der Analyse werden für die einzelnen PCB alle integrierten Flächen und Massenfragmentogramme ausgedruckt. Die Qualität der Analyse wird anschliessend an Hand folgender Punkte visuell beurteilt (vgl. *Abschn. 7; Qualitätssicherung*):

- Enthalten die Massenfragmentogramme interferierende Signale? Fehlen PCB-Verbindungen, die in den Proben vorhanden sein müssten, oder sind Extrasignale vorhanden, die nicht dazu gehören?
- Sind die Retentionszeiten der PCB-Verbindungen in Bezug auf diejenigen des Referenzstandards korrekt (vgl. *Abschn. 76*)?
- Ist die gaschromatografische Trennung ausreichend (vgl. *Wegleitung "Qualitätssicherungskonzept – Analytik von PAK, PCB und Dioxinen im Boden"*)
- Ist das Signal/Rauschverhältnis für eine quantitative Bestimmung ausreichend?
- Stimmen die Intensitätsverhältnisse der Massenfragmentogramme mit der entsprechenden Isotopenverteilungen, die für Kalibrierlösungen bestimmt wurden, innerhalb von ±15 % überein?

Ausserdem müssen alle entsprechenden Anforderungen, welche in der *Wegleitung "Qualitätssicherungskonzept – Analytik von PAK, PCB und Dioxinen im Boden"* erwähnt sind, erfüllt sein.

Erst wenn alle vorstehenden Punkte als korrekt befunden worden sind, werden die Konzentrationen in der Probe berechnet. Zu diesem Zweck wird ein Tabellenberechnungs-Programm verwendet, das auf einem entsprechenden, kommerziellen Programm aufbaut; andernfalls wird das vom MS-Hersteller mitgelieferte Quantifizierungsprogramm eingesetzt.

Alle Berechnungen werden nach dem folgenden Prinzip durchgeführt:

- Die relativen Ansprechfaktoren rf_i der einzelnen PCB-Verbindungen i werden hinsichtlich der entsprechenden internen Standardverbindung (ISTD) berechnet. Dazu werden die integrierten Einzelflächen und Konzentrationen des Quantifizierungsstandards verwendet:

$$rf_i = \frac{\text{Konz. PCB}_i \times \text{Fläche ISTD}}{\text{Konz. ISTD} \times \text{Fläche PCB}_i}$$

rf_i : Ansprechfaktor bezogen auf PCB_i und den internen Standard ISTD
 Konz.: Konzentration im Quantifizierungsstandard

- Die totale Menge der PCB-Verbindung i in der Probe wird berechnet. Dazu werden die integrierten Flächen des PCB_i und des internen Standards ISTD sowie die zur Probe zugesetzte Gesamtmenge des ISTD benötigt:

$$M_i = \frac{\text{Menge ISTD} \times \text{Fläche PCB}_i \times rf_i}{\text{Fläche ISTD}}$$

M_i : Gesamtmenge des PCB i in der Probe
 Menge ISTD: Zur Probe zugesetzte Gesamtmenge an ISTD

- Die Probenkonzentration wird mittels Dividieren der Gesamtmenge M_i durch die aufgearbeitete Probenmenge errechnet.
- Die Wiederfindungsrate W_i des ISTD (vor der Extraktbearbeitung als Internstandard zugesetzt) in % wird an Hand des Wiederfindungsstandards (Wiederf.STD) berechnet. Dieser wird der Probe unmittelbar vor der Quantifizierung zugesetzt:

$$rf_w = \frac{\text{Konz. ISTD} \times \text{Fläche Wiederf.STD}}{\text{Konz. Wiederf.STD} \times \text{Fläche ISTD}}$$

rf_w : Ansprechfaktor des ISTD in Bezug auf den Wiederfindungsstandard

$$W(\%)_i = \frac{\text{Menge Wiederf.STD} \times \text{Fläche ISTD} \times rf_w \times 100}{\text{Zuges. Totalmenge ISTD} \times \text{Fläche Wiederf.STD}}$$

$W(\%)_i$: Wiederfindung in % des zugesetzten ISTD
 Menge Wiederf.STD: Zur Probe zugesetzte Totalmenge des Wiederfindungsstandards
 Zuges. Totalmenge ISTD: Zur Probe zugesetzte Totalmenge des ISTD

7 Qualitätssicherung

71 Kontrolle der Standardlösungen zur Quantifizierung

Alle neu hergestellten Referenz- und Arbeitsstandards müssen mit dem vorher angewendeten Standard verglichen werden, bevor sie in Gebrauch genommen werden können. Abweichungen, die innerhalb der Repetierbarkeit der Quantifizierungsmethode liegen ($\pm 10\%$) sind akzeptabel. Mindestens einmal pro Jahr müssen die Grundstandards gegen einen zertifizierten Referenzstandard (z.B. NIST SRM 1492 "Chlorinated pesticides in hexane" oder BCR CRM 365 "Polychlorinated biphenyls in iso-octane") oder den Referenzstandards eines anerkannten Ringversuches kontrolliert werden. Diese werden wie Referenzstandards behandelt und bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt.

Es sind sowohl zertifizierte kristalline Referenzstandards mit einer Reinheit von $>99.5\%$ erhältlich als auch zertifizierte Referenzlösungen mit einer Genauigkeit von ca. $\pm 5\%$ an.

Konzentrationsunterschiede zwischen Standards verschiedener Laboratorien von bis zu 10% werden daher als akzeptabel und normal betrachtet.

72 Injektionshäufigkeit des Quantifizierungsstandards

Der Quantifizierungsstandard (bei genügender Linearität) oder die Eichreihe muss vor jeder Probenserie und mindesten nach jeder 10. Probe injiziert werden. Bei Probenserien mit weniger als 10 Proben muss der Quantifizierungsstandard nach der letzten Probe nochmals injiziert werden.

73 Blindwerte bei Extraktion und Extraktaufarbeitung

Eine entsprechende Übersicht findet sich in der Wegleitung "*Qualitätssicherungskonzept – Analytik von PAK, PCB und Dioxinen im Boden*". Die Blindwerte aller gemessenen PCB müssen für eine vollständige Methode (Probenvorbereitung/Extraktion/Aufarbeitung/Quantifizierung) bei folgenden Situationen kontrolliert werden:

- Bei Analyse von Proben mit Konzentrationsunterschieden <20 spätestens nach 10 Proben auf dem gleichen Aufarbeitungssystem.
- Beim Übergang von einer Probenmatrix zur anderen, wenn das erwartete Konzentrationsniveau mindestens zehnmal niedriger ist.
- Nach einer vollständigen Reinigung/Überholung des Trennsystems.
- Nach der Analyse einer Probe, die unerwartet hohe Konzentrationen enthalten hat (Faktor >100 über "normalen" Konzentrationen).
- Bei sehr wichtigen Proben, bei denen das Konzentrationsniveau unbekannt ist, muss der Blindwert der verwendeten Aufarbeitungseinheit vorher immer kontrolliert werden.

Folgende Bedingungen müssen erfüllt sein, damit die Ergebnisse einer Blindprobe akzeptiert werden:

- Die Blindwerte aller PCB entsprechen den Nachweisgrenzen bei einem Signal/Rauschverhältnis von 3:1, oder sie liegen mindestens einen Faktor 10 unter den niedrigst gemessenen Konzentrationen.
- Die Wiederfindungsrate der zugesetzten internen Standards liegt zwischen 70 und 110 %.

74 Analyse von Kontrollproben

Die Analysen- und Quantifizierungsmethode für PCB sind auf der Verwendung von internen Standards als Extraktaufarbeitungs- und Wiederfindungsstandards aufgebaut. Diese Technik hat den Vorteil, dass für jede analysierte Probe eine komplette Qualitätssicherung in Form der Berechnung der Wiederfindungsraten der zugesetzten internen Standards vorliegt. Zusätzlich verlangt die vorliegend beschriebene Qualitätssicherung eine relativ häufige Kontrolle der Blindwerte (etwa nach jeder 10. Probe). Die dabei verwendete Analysenmethode ist mit derjenigen einer realen Probe identisch. Es fehlt lediglich die Probenmatrix.

Die Reproduzierbarkeit der Quantifizierung wird durch regelmässige Analysen des Kontrollstandards überprüft. Dieser wird nach jeder 20. oder dann nach der letzten PCB-Probe injiziert. Für jede PCB-Verbindung werden die Ergebnisse in ein Kontrolldiagramm eingetragen.

Als Folge der vorgenannten Massnahmen für die Qualitätskontrolle ist eine zusätzliche Kontrolle der Analysenmethode nur in begrenztem Umfang nötig. Es wird zusätzlich viermal jährlich eine zertifizierte Referenzprobe analysiert, z.B. BCR 481 PCB in Industrieboden, BCR-536 PCB in Süsswasser-Hafensedimenten (beide erhältlich beim *Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM*, Geel, Belgien), RT 910 PCB in Boden, RT 912 organische Verbindungen in kontaminiertem Boden oder SRM 1939 PCB in Flusssedimenten (die drei Letzteren und weitere Referenzmaterialien erhältlich bei *LGC-Promochem, Wesel, Deutschland*). Die Differenz zwischen dem Analysenergebnis und den zertifizierten Werten darf $\pm 10\%$ nicht überschreiten.

Da Kosten und Zeitaufwand für PCB-Ringtests sehr gross ist, werden nur wenige Interkalibrierungen für PCB in verschiedenen Probenmatrizes organisiert. Das Ziel ist, jährlich mindestens einmal an einem Ringversuch für PCB teilzunehmen.

75 Archivierung der Qualitätssicherungsinformation

Einzelheiten sind in der Wegleitung "*Qualitätssicherungskonzept – Analytik von PAK, PCB und Dioxinen im Boden*" aufgeführt.

76 Anerkennung der Ergebnisse

Eine Übersicht wird in der Wegleitung "*Qualitätssicherungskonzept – Analytik von PAK, PCB und Dioxinen im Boden*" gegeben. Namentlich gilt:

- Die Retentionszeit einer PCB-Verbindung muss hinsichtlich Retentionszeit des Quantifizierungsstandards innerhalb eines Retentionszeitfensters von ± 3 s liegen.

- Das Flächenverhältnis zwischen den zwei gemessenen Ionen einer PCB-Verbindung muss innerhalb von ± 20 % jenes Werts liegen, der für den Quantifizierungsstandard gefunden worden ist.
- Das Signal/Rauschenverhältnis muss mindestens 3:1 für einen Nachweis und 10:1 für eine Quantifizierung betragen.
- Die Wiederfindungsrate der zugesetzten internen Standards muss hinsichtlich zugewetztem Wiederfindungsstandard zwischen 50 und 110 % liegen.

8 Genauigkeit und Vergleichbarkeit der Methode

- Die Genauigkeit der Konzentration der erhältlichen Referenzstandards beträgt ca. ± 5 %.
- Die Standardabweichung von mindesten fünf parallelen Analysen einer homogenen Probe liegt bei ± 10 %. Bei schwer zu homogenisierenden Proben sind ± 20 % zulässig.
- Die Analyse von Langzeitserien von Kontrollproben ergab einen Messunsicherheitsbereich von ± 10 – 25 %.

9 Literatur

Der Abschnitt 74 der Wegleitung "*Qualitätssicherungskonzept – Analytik von PAK, PCB und Dioxinen im Boden*" enthält ausführliche Literatur zu den Methoden, die in der vorliegenden Methodenempfehlung verwendet werden. Er enthält überdies Angaben zu alternativen Techniken und kritischen Punkten, welche Probleme verursachen könnten.
