

WEGLEITUNG

**Bestimmung von poly-
zyklischen aromatischen
Kohlenwasserstoffen in
Böden mittels GC/MS**

Methodenempfehlung

Dezember 2001



**Bundesamt für Umwelt, Wald
und Landschaft BUWAL**

WEGLEITUNG

**Bestimmung von poly-
zyklischen aromatischen
Kohlenwasserstoffen in
Böden mittels GC/MS**

Methodenempfehlung

Dezember 2001

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.

Bericht	Erstellt von der Organischen Analytischen Chemie der Universität Basel, Neuhausstr. 31, CH-4057 Basel
Autor	Michael Oehme, Uni Basel
Begleitende Expertengruppe	Johannes Dettwiler, BUWAL Satish Gupta, FAL Georg Karlaganis, BUWAL Peter Schmid, EMPA Jürg Zihler, BUWAL
Titelbild	Wolfgang Kunz/Bilderberg

Bezugsquelle	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-4811-D © BUWAL 2001

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 des Molekularsiebs	13
3 Standardlösungen zur Quantifizierung	13
31 Referenzstandards	13
32 Herstellen des Grundstandards	14
33 Herstellen der Quantifizierungsstandards	15
34 Herstellen der Internstandards	15
35 Herstellen des Wiederfindungsstandards	16
36 Herstellen des Kontrollstandards	16
37 Qualitätssicherung	17

4	Probenvorbereitung	17
41	Vorbemerkungen	17
42	Trocknen und Siebfraktionieren der Proben	17
43	Probenextraktion	17
44	Entfernen von elementarem Schwefel und von Schwefelverbindungen	18
45	Menge des dem Probenmaterial zugesetzten Internstandards	18
5	Extraktaufarbeitung	19
51	Vorbemerkungen	19
52	Flüssig-/Flüssigverteilung	19
53	Nachreinigen mit Kieselgel	19
531	Packen der Säule	19
532	Fraktionieren der Probenextrakte	20
6	Quantitative Analyse	20
61	Vorbemerkungen	20
62	Gaschromatographische Trennung	21
621	Geräte	21
622	Injektionsspritzen	21
623	Trennkapillare	21
624	Injektions- und Trennbedingungen	21
63	Massenspektrometrische Quantifizierung	22
631	Geräte	22
632	Optimierungs- und Detektionsbedingungen	22
64	Durchführung der Quantifizierung	23
7	Qualitätssicherung	24
71	Kontrolle der Standardlösungen zur Quantifizierung	24
72	Injektionshäufigkeit des Quantifizierungsstandards	24
73	Blindwerte bei Extraktion und Extraktufarbeitung	25
74	Analyse von Kontrollproben	25
75	Archivierung der Qualitätssicherungsinformation	26
76	Anerkennung der Ergebnisse	26
8	Genauigkeit und Vergleichbarkeit der Methode	26
9	Literatur	27

ABSTRACTS

A method is described for the determination of *polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH)* in soil, which fulfils the criteria of the *quality assurance concept* for the analysis of organic pollutants in soil published by Swiss Agency for the Environment, Forests and Landscape. The presented method has proven its comparability with other methods at intercomparisons and also fulfils the requirements of the quality assurance norm *EN 45'000*. It is based on soxhlet extraction of the dried soil samples followed by sample clean-up using liquid/liquid extraction and 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 PAH is carried out by high resolution gas chromatography. Quantification is based on the internal standard method and low resolution mass spectrometry. Detailed working procedures are given as well as information about quality control measures.

Es wird eine Methode zur Bestimmung von *polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK)* in Böden beschrieben, welche das vom BUWAL veröffentlichte *Qualitätssicherungskonzept für die Analytik organischer Schadstoffe im Boden* erfüllt. Diese Methode hat in Ringversuchen die Vergleichbarkeit mit anderen Techniken bewiesen und erfüllt die Anforderungen der Qualitätssicherungsnorm *EN 45'000*. Sie beruht auf Soxhletextraktion der getrockneten Bodenproben - gefolgt von einer Probenaufarbeitung mittels Flüssig-/Flüssigextraktion und Säulenchromatographie. 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 PAK wird mit hochauflösender Gaschromatographie durchgeführt. Die Quantifizierung wird mit niedrigauflösender Massenspektrometrie 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 *hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)* dans le sol. La méthode remplit les conditions posées par le *système d'assurance de la qualité* élaboré par l'OFEFP pour l'analyse des polluants organiques du sol. Il a été démontré lors de divers tests interlaboratoires qu'elle était comparable à d'autres techniques; en outre, elle remplit les exigences de la norme d'assurance de la qualité *EN 45'000*. Elle se base sur une extraction Soxhlet des échantillons de sol séchés, suivie d'une préparation des échantillons réalisée au moyen d'une extraction de la phase liquide/liquide et 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 HAP 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 des méthodes de travail détaillées ainsi que des informations sur les mesures de contrôle de la qualité.

Viene descritto un metodo per la determinazione degli *Idrocarburi policiclici aromatici (PAH)* nel suolo, che rispetta il Concetto di *Quality Assurance* per l'analisi di sostanze organiche presenti nel suolo, pubblicato dall'UFAFP. Il metodo ha rivelato la comparabilità con altre tecniche nelle intercalibrazioni e soddisfa le esigenze della norma di *Quality Assurance EN 45'000*. Esso è basato sull'estrazione mediante Soxhlet dei campioni di suolo essiccati - cui fa seguito una purificazione del campione mediante estrazione in controcorrente e cromatografia su colonna. L'aggiunta di standard interni prima dell'estrazione del campione (i cosiddetti standard di estrazione) consente la correzione automatica di eventuali perdite che possono essere calcolate per ogni singolo campione mediante l'aggiunta di tassi di recupero al campione estratto prima della quantificazione. La separazione dei PAH viene eseguita mediante cromatografia in fase gassosa ad alta risoluzione. La quantificazione viene effettuata mediante spettrometria di massa a bassa risoluzione in relazione agli standard interni. Vengono fornite sia prescrizioni dettagliate relative al lavoro che informazioni sulle misure inerenti alla *Quality Assurance*.

VORWORT

Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) sind Schadstoffe, die Böden verunreinigen können. Deshalb sind für sie in der *Verordnung vom 1. Juli 1998 über Belastungen des Bodens (VBBo)* Richt-, Prüf- und Sanierungswerte festgelegt worden.

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

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

Wir stellen sie den 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.

Georg Karlaganis

Chef der Abteilung Stoffe,
Boden, Biotechnologie

ABKÜRZUNGEN UND DEFINITIONEN

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

1 Messprinzip

11 Vorbemerkungen

Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) werden aus der getrockneten Bodenprobe mittels Soxhletextraktion extrahiert. Interne Standardverbindungen werden vor der Probenextraktion zugesetzt. Störende Bestandteile der Probenmatrix werden durch Flüssig-/Flüssigverteilung, kombiniert mit Flüssigchromatographie, entfernt. Nach Aufkonzentrierung auf 200-300 µL Volumen und Zusatz eines Wiederfindungsstandards werden alle relevanten PAK-Verbindungen mit Hilfe der hochauflösenden Gaschromatographie getrennt und durch niedrigauflösende Massenspektrometrie 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 16 PAK (vgl. *Tab. 1*) ein Richtwert von 1 mg/kg Trockensubstanz und für Benzo(a)pyren ein solcher von 0.2 mg/kg. Dieser muss mit einer ausreichenden Nachweisgrenze noch sicher erfasst werden können. Je nach eingesetzter Bodenmenge liegt die Nachweisgrenze im Bereich 0.3-3 µg/kg (0.3-3 ppb) für Einzelverbindungen, also etwa zwei bis drei 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

PAK 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 und 500 mL Volumen, Schliff 24/29.
- *Rundkolben:* 100 mL mit angesetztem Zentrifugenröhrchen 5 mL Volumen, Schliff 24/29.
- *Pasteurpipetten:* 150 und 250 mm Länge.
- *Weithals-Glasflaschen:* Unterschiedliche Volumen, z.B. 0.5-1 L (Polypropylendeckel GL 45) zur Probenaufbewahrung.
- *Zentrifugenröhrchen:* Konisch, 15-20 mL Volumen, skaliert, mit Glasstopfen.

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

- *Bechergläser*: 50 mL.
- *Masskolben mit Glasstopfen*: 10 und 25 mL (braunes Glas), Qualität A, Genauigkeit ± 0.025 mL bzw. 0.04 mL bei 20 °C.
- *Erlenmeyerkolben*: 250 mL mit Glasstopfen.
- *Exsikkator*: 300 mm Durchmesser mit Schliffdeckel (fettfrei!) - ohne Trockenmittel.
- *Glastrichter*: 100 mm Durchmesser.
- *Chromatographiesäule*: 250 mm Länge, 12.5 mm ID.
- *Wägeschiffchen*.
- *Uhrengläser*: 60 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.
- *Soxhlet-Extraktionshülsen*: Cellulose, 28 mm Durchmesser, 80 mm lang (bezüglich Vorbehandlung, vgl. *Abschn. 218*).
- *Polyurethanschaum*: 35 mm dick, 210x210 mm - zum Isolieren des Soxhletextraktors.

213 Probengläschen

- *Probenfläschchen*: 1.5 mL mit 100 μ L Einsatz und Septumkappe. Probenfläschchen 1.5 mL, mit Schraubverschluss (Teflondichtung).
- *Certain[®] Probengläschen*: Promochem GmbH, 1.5 mL, mit Kapillaröffnung und Schraubverschluss mit Teflondichtung.

214 Diverse Geräte zur Extraktbearbeitung

- *Porzellanschalen*: 180 und 250 mm Durchmesser.
- *Druckminderer*: Metallbalg-gedichtet, fest eingestellt auf 3-5 bar.
- *Rotationsverdampfer*: Mit automatischer Druckregulierung.
- *Turbovap 500*: Einengapparatur und entsprechende Einenggefäße (Zymark).
- *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 μ g.
- *Millipore MilliQ*: Wasserreinigungsanlage.
- *Keramiköfen*: 200-1'030 °C, Genauigkeit ± 10 °C.
- *Ultraschallbad*: 100 W Leistung.
- *Zentrifuge*: Kapazität 8x10 mL Rörchen, minimal 6'000 U/min.
- *Membranvakuumpumpen*: Lösungsmittelresistent, mit Teflonmembranen, 4 oder 8 m³/h, Endvakuum 8 kPa (80 mbar) für 8 m³/h, 1.5 kPa (15 mbar) für 4 m³/h.
- *Heizpilze*: Für 500 mL Rundkolben.
- *Porzellanmörser*: Durchmesser 130 mm, Pistill 145x38 mm.

- *Porzellanschalen*: Durchmesser 180 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.
- *Stabpipette*: 5 und 10 mL, skaliert, Genauigkeit ± 0.03 mL.
- *Geeichte 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 Chromatographiesäulen 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 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 Toluol 8 h extrahiert. Nach Trocknen in einem Vakuumexsikkator (80 kPa bzw. 0.8 bar Unterdruck 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;
- Methanol;
- Toluol;
- Dimethylformamid (*Ausnahme*: zur Analyse);
- Wasser, zuerst destilliert in Glas und mit Millipore MilliQ-Anlage gereinigt.

222 Verschiedene Chemikalien, Hilfsmittel und besondere Vorbereitungen

222.1 Ausgangsmaterial

- *Baumwolle*: Chemisch rein (Reinigung; vgl. *Abschn. 222.2*).
- *Aluminiumfolie*: 0.018 mm dick, 450 mm breit.
- *Kieselgel*: 0.063-0.20 mm (Vorbehandlung; vgl. *Abschn. 222.3*).
- *Quecksilber*: 99.99 % Reinheit.
- *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 Methylenchlorid 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 ist vier Wochen.

222.4 Vorbehandlung von Natriumsulfat

Zwei Einwaagen von ca. 1'000 g Natriumsulfat werden in je einer Porzellanschale mit 180 mm Durchmesser während 8 h bei 600 °C dehydratisiert 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. 223.2</i>)	Stickstoff, 99.99 % (Nachreinigung, vgl. <i>Abschn. 223.3</i>)
O ₂ /Aktivkohlefilter	Molekularsiebfilter
Eventuell loses Molekularsieb, 0.5-2.0 mm (Vorbehandlung, vgl. <i>Abschn. 223.4</i>)	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 Gaschromatographen 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 jedes Gaschromatographen montiert. Die erste ist mit Molekularsieb (vgl. *Abschn. 223.4*) und die zweite mit Aktivkohle gefüllt. Diese beiden Patronen werden nur bei Unregelmässigkeiten und Stö-

rungen (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 von 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 des Molekularsiebs

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

Eich- 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 PAK und Internstandards.

Verbindungen	
Naphthalin	Benzo(a)anthracen
Acenaphthylen	Chrysen
Acenaphthen	Benzo(b)fluoranthen
Fluoren	Benzo(k)fluoranthen
Phenanthren	Benzo(a)pyren
Anthracen	Indeno(1,2,3-cd)pyren
Fluoranthen	Dibenzo(a,h)anthracen
Pyren	Benzo(ghi)perylen
3,6-Dimethylphenanthren (interner Standard I)	2,2'-Binaphthyl (interner Standard II)
	Indeno(1,2,3-cd)fluoranthen (Wiederfindungsstandard)

Anmerkung: Zertifizierte Referenzverbindungen können z.B. vom "Institute for Reference Materials and Measurements, Geel, Belgium, IRMM" (früher *Bureau of Reference, BCR*), von "Dr. Ehrenstorfer" (Augsburg, Deutschland) oder von "Promochem" (Wesel, Deutschland) bezogen werden. 3,6-Dimethylphenanthren ist bei "Tokyo Kasei Kogyo Ltd." (Japan) erhältlich.

Die Referenzstandards werden bei 4-6 °C im Dunkeln aufbewahrt. Auf Grund ihrer chemischen Stabilität haben PAK, 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 enthält die in *Tabelle 2* nach ihrer Elutionsreihenfolge auf der verwendeten gaschromatographischen Trennsäule (vgl. *Abschn. 623*) aufgelisteten Verbindungen.

Tabelle 2: PAK-Verbindungen im Grundstandard

Nr.	Verbindung	Bemerkungen
1	Naphthalin	
2	Acenaphthylen	
3	Acenaphthen	
4	Fluoren	
5	Phenanthren	
6	Anthracen	
7	3,6-Dimethylphenanthren	<i>Interner Standard I</i>
8	Fluoranthren	
9	Pyren	
10	Benzo(a)anthracen	
11	Chrysen	<i>Co-Elution mit Triphenylen</i>
12	2,2'-Binaphthyl	<i>Interner Standard II</i>
13	Benzo(b)fluoranthren	<i>Co-Elution mit Benzo(j)fluoranthren</i>
14	Benzo(k)fluoranthren	
15	Benzo(a)pyren	
16	Indeno(1,2,3-cd)fluoranthren	<i>Wiederfindungsstandard</i>
17	Indeno(1,2,3-cd)pyren	
18	Dibenzo(a,h)anthracen	<i>Co-Elution mit Dibenzo(a,c)anthracen</i>
19	Benzo(ghi)perylen	

Einige der Standardverbindungen sind kanzerogen. 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 Cyclohexan gründlich im Ultraschallbad gereinigt werden. Der Grundstandard einschliesslich interne Standards wird in einem 10 mL Masskolben angesetzt (braunes Glas, oder vor Lichteinfluss geschützt). Dabei soll die Konzentration der einzelnen Verbindungen, die in *Tabelle 2* aufgeführt sind, im Bereich 50 ± 20 ng/ μ L liegen. Dies entspricht einer Einwaage von 500 ± 200 μ g pro Verbindung. Nach Einwaage jeder Substanz wird der Spatel mit Cyclohexan aus einer Pasteurpipette abgespült und mit einem Papiertuch abgetrocknet.

Der Inhalt des Wägeschiffchens wird mit Cyclohexan 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 beschriftet, gewogen und bei -20 °C im Tiefkühler aufbewahrt. Die Haltbarkeit beträgt 24 Monate. Alle Angaben werden im Standardverzeichnis notiert.

33 Herstellen der Quantifizierungsstandards

Der Masskolben mit der Grundlösung wird aus dem Tiefkühler entnommen und das gefrorene Cyclohexan aufgetaut. Danach wird er 5 min ins Ultraschallbad gesetzt und sichergestellt, dass alles gelöst ist. Andernfalls muss die Ultraschallbehandlung wiederholt werden. Anschliessend wird der Kolben auf Raumtemperatur gebracht und das Gewicht kontrolliert. Lösungsmittelverluste werden bis zum letzten Kontrollwägen ausgeglichen.

Variable Volumen des Grundstandards werden in einen 10 mL Masskolben überführt und mit Cyclohexan bis zur Eichmarke aufgefüllt. Fünf Eichlösungen müssen einen Konzentrationsbereich der Einzelverbindungen von etwa 0.1-20 ng/µL abdecken. Allenfalls wird wiederholt verdünnt. Die Masskolben werden beschriftet, gewogen und im Tiefkühler bei -20 °C aufbewahrt. Die Haltbarkeit beträgt 12 Monate. Alle Angaben und die bei der Entnahme aufgetretenen Gewichtsverluste werden im Standardverzeichnis notiert.

Die Masskolben werden auf Raumtemperatur gebracht und das Gewicht kontrolliert. Lösemittelverluste werden bis zum letzten Kontrollwägen ausgeglichen. Jeweils 1 mL wird als Arbeitsstandard in ein 1.5 mL Probengläschen mit Kapillaröffnung (CERTAN[®]) überführt, das im Kühlschrank bei 4-6 °C aufbewahrt wird. Diese Arbeitslösungen werden alle sechs Monate ersetzt.

Eine Quantifizierung mittels Einpunktekali­brierung kann nur ausgeführt werden, wenn die Linearität des Massenspektrometers die in *Abschnitt 4* der BUWAL-Wegleitung "*Qualitätssicherungskonzept - Analytik von PAK, PCB und Dioxinen im Boden*"² gestellten Bedingungen erfüllt.

34 Herstellen der Internstandards

Das Wägeschiffchen und der Spatel müssen vor Gebrauch mit Cyclohexan gründlich im Ultraschallbad gereinigt werden. Der Internstandard wird in einem 25 mL Masskolben angesetzt. Die Konzentration der beiden internen Standardverbindungen 3,6-Dimethylphenanthren und 2,2'-Binaphthyl soll im Bereich 320±30 ng/µL liegen. Dies entspricht einer Einwaage von 8±0.8 mg je Verbindung und bei Verwendung eines 25 mL Masskolbens. Nach Einwaage jeder Substanz wird der Spatel mit Cyclohexan aus einer Pasteurpipette abgespült und mit einem Papiertuch abgetrocknet.

Der Inhalt des Wägeschiffchens wird mit Cyclohexan in den 25 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 beschriftet, gewogen und im Tiefkühler bei -20 °C aufbewahrt. Die Haltbarkeit be-

² BUWAL, Vollzug Umwelt, 27 Seiten, (Januar 2000) - in dtsh., franz., ital. und engl. Sprache.

trägt 24 Monate. Alle Angaben und die bei der Entnahme aufgetretenen Gewichtsverluste werden im Eichstandardverzeichnis notiert.

Der Masskolben wird auf Raumtemperatur gebracht und das Gewicht kontrolliert. Lösemittelverluste werden bis zum letzten Kontrollwägen ausgeglichen. Jeweils 1 mL wird als Arbeitsstandard in ein 1.5 mL Probengläschen mit Kapillaröffnung (CERTAN[®]) überführt, das im Kühlschrank bei 4-6 °C aufbewahrt wird. Diese Arbeitslösung wird alle sechs Monate ersetzt.

35 Herstellen des Wiederfindungsstandards

Das Wägeschiffchen und der Spatel müssen vor Gebrauch mit Cyclohexan gründlich im Ultraschallbad gereinigt werden. Der Wiederfindungsstandard wird in einem 25 mL Masskolben angesetzt. Die Konzentration des Wiederfindungsstandards Indeno(1,2,3-cd)fluoranthen soll im Bereich 320 ± 30 ng/ μ L liegen. Dies entspricht einer Einwaage von 8 ± 0.8 mg je Verbindung und bei Verwendung eines 25 mL Masskolbens. Nach Einwaage jeder Substanz wird der Spatel mit Cyclohexan aus einer Pasteurpipette abgespült und mit einem Papiertuch abgetrocknet.

Der Inhalt des Wägeschiffchens wird mit Cyclohexan in den 25 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 Lösemittel nachdosiert. Der Masskolben wird beschriftet, gewogen und im Tiefkühler bei -20 °C aufbewahrt. Die Haltbarkeit beträgt 24 Monate. Alle Angaben und die bei der Entnahme aufgetretenen Gewichtsverluste werden im Eichstandardverzeichnis notiert.

Der Masskolben wird auf Raumtemperatur gebracht und das Gewicht kontrolliert. Lösemittelverluste werden bis zum letzten Kontrollgewicht ausgeglichen. Jeweils 1 mL werden als Arbeitsstandard in ein 1.5 mL Probengläschen mit Kapillaröffnung (CERTAN[®]) überführt, das im Kühlschrank bei 4-6 °C aufbewahrt wird. Diese Arbeitslösung wird alle sechs Monate ersetzt.

36 Herstellen des Kontrollstandards

Dieser Standard wird verwendet, um die Messunsicherheit und Reproduzierbarkeit der Quantifizierung zu kontrollieren (vgl. *Abschn. 74*). Er wird regelmässig gegen den Quantifizierungsstandard als unbekannte Lösung quantifiziert und enthält folgende Verbindungen:

2,2'-Binaphthyl (ISTD I)	3,6-Dimethylphenanthren (ISTD II)
Benzo(a)anthracen	Benzo(a)pyren
Phenanthren	Fluoranthen

Eine Kontrollstandardlösung mit einer Konzentration von 5 ± 2 ng/ μ L wird, analog wie in *Abschnitt 33* für Quantifizierungsstandards beschrieben, hergestellt und aufbewahrt.

37 Qualitätssicherung

Alle Grund-, Intern- und Wiederfindungsstandards werden bei 4-6 °C aufbewahrt. Sie haben 24 Monate Haltbarkeit. 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.

Alle neu hergestellten Referenz- und Arbeitsstandards müssen mit den vorher angewendeten Standards verglichen werden, bevor sie in Gebrauch genommen werden können. Abweichungen, die innerhalb der Reproduzierbarkeit der Quantifizierungsmethode liegen ($\pm 10\%$), sind akzeptabel. Mindestens einmal jährlich müssen die Grundstandards gegen einen zertifizierten Referenzstandard oder gegen den Referenzstandard eines anerkannten Ringversuchs kontrolliert werden. Sie werden wie Referenzstandards behandelt und bei -20 °C aufbewahrt.

4 Probenvorbereitung

41 Vorbemerkungen

Bodenproben sollten kein biologisches Material enthalten (Wurzeln, Grasreste). Die Proben werden in Weithals-Glasflaschen 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 Siebfractionieren 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 vorgereinigte Soxhlehülse (28x80 mm, vgl. *Abschn. 211*) eingewogen und 10-50 μ L der internen Standardlösung werden in der Mitte der Probe 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 Cyclohexan während 24 h extrahiert (≥ 6 Zyklen pro Stunde). 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. Der anschliessende Schritt ist nur erforderlich, wenn Störungen der GC-Trennung auftreten. Die vorgeschlagene Methode funktioniert sehr effektiv.

Quecksilber soll im Labor wenn immer möglich nicht mehr verwendet werden. Deshalb sind die unter *Abschnitt 73* der Wegleitung "*Qualitätssicherungskonzept - Analytik von PAK, PCB und Dioxinen im Boden*" erwähnten alternativen Techniken vorzuziehen. Weil die vorliegend beschriebene Methode mit Quecksilber validiert wurde, muss dieser Methodenschritt allenfalls neu validiert werden.

Der Probenextrakt wird am Rotavapor in einem Rundkolben auf etwa 15 mL eingedampft (Wasserbadtemperatur 37 °C, Druck 10 kPa bzw. 100 mbar) und in ein 50 mL Becherglas überführt. Es wird soviel metallisches Quecksilber zugesetzt, bis der Boden zu etwa 10 % bedeckt ist. Ein Uhrglas wird auf das Becherglas gelegt und 20 min im Ultraschallbad behandelt. Falls die metallische Quecksilberoberfläche beim Bewegen der Probe nicht mehr sichtbar ist, muss der Vorgang mit zusätzlichem Quecksilber wiederholt werden.

Der zu Ende behandelte Extrakt und die Spüllösung (3x3 mL Cyclohexan) werden in Zentrifugenröhrchen überführt und 15 min bei 2'000 U min⁻¹ zentrifugiert. Die Cyclohexanphase wird mit einer Pasteurpipette in ein Turbovapegefäss überführt und an einem Turbovap 500 System auf etwa 1 mL eingengt. Die Probe ist nun für die Extraktbearbeitung bereit.

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 PAK entsprechen sollte.

Richtwerte

- **Nicht kontaminiertes Material:** Menge an Probenmaterial 40-50 g (eventuell 2 Soxhlet-extraktionen), zugesetzte Menge Internstandard 30 µL (ca. 10'000 ng pro PAK), zugesetzte Menge Wiederfindungsstandard 20 µL (ca. 6'400 ng).
- **Kontaminiertes Material:** Menge Probenmaterial 5-10 g (allenfalls grössere Menge, aber nur ein Aliquot des Extrakts aufarbeiten), zugesetzte Menge Internstandard 30 µL (ca. 10'000 ng pro PAK), zugesetzte Menge Wiederfindungsstandard 20 µL (ca. 6'400 ng).

5 Extraktbearbeitung

51 Vorbemerkungen

Die nachfolgend beschriebenen einzelnen Schritte der Extraktbearbeitung müssen je nach Belastung der Probe mit Matrixresten nur teilweise ausgeführt werden. Der Schritt der Flüssig-/Flüssigverteilung muss jedoch in jedem Fall angewendet werden.

52 Flüssig-/Flüssigverteilung

Der erste Schritt der Extraktbearbeitung erfolgt mittels einer Flüssig-/Flüssigverteilung, um Kohlenwasserstoffe und andere apolare Verbindungen abzutrennen. Diese können mit Dimethylformamid keine schwachen Ladungsüberführungs-Komplexe eingehen, wie dies bei den PAK als Folge der Anwesenheit von π -Elektronen möglich ist.

Es wird ein Gemisch aus Dimethylformamid (DMF)/Wasser 9+1 (z.B. 180 mL DMF und 20 mL MilliQ Wasser) hergestellt und danach wie folgt verfahren:

- Der Probenextrakt von etwa 4 mL wird in ein 15 mL Zentrifugenglas überführt. Mit einer 5 mL Stabpipette werden 3.2 ± 0.1 mL DMF/H₂O 9+1 zugesetzt. Nach Aufsetzen des Glasstopfens wird das Gemisch kräftig geschüttelt (30 s).
- Das Zentrifugenröhrchen wird in die Zentrifuge gesetzt und während 5 min bei 2'500 U min⁻¹ zentrifugiert. Die Cyclohexanphase wird mit einer Pipette abgesaugt und in ein neues Zentrifugenglas überführt. Mit der Stabpipette werden 1.2 ± 0.1 mL DMF/H₂O 9+1 zugesetzt. Schütteln und Zentrifugieren werden wiederholt. Danach wird die DMF/H₂O-Phase ins erste Zentrifugenglas überführt.
- In das Zentrifugenglas mit der DMF/H₂O-Phase werden 5.2 ± 0.2 mL Wasser (10 mL Stabpipette) und 3.2 ± 0.1 mL Cyclohexan zugesetzt (Gesamtvolumen etwa 13 mL). Nach Aufsetzen des Glasstopfens wird das Gemisch kräftig geschüttelt (30 s). Die Cyclohexanphase wird mit einer Pasteurpipette entnommen und in ein Zentrifugenröhrchen überführt.
- Zur verbleibenden DMF/H₂O-Phase werden 1.0 ± 0.1 mL Cyclohexan zugegeben und diese nochmals, wie vorstehend beschrieben, ausgeschüttelt (vgl. Vorparagraph).
- Die Cyclohexanextrakte werden mit 2 mL Wasser gewaschen und nach Überführen in ein neues Glas mit 1 g Na₂SO₄ getrocknet.
- Der Probenextrakt wird anschliessend in ein Turbovapgefäß überführt und das Na₂SO₄ mit 1 mL Cyclohexan gewaschen.
- Der Probenextrakt wird nun auf das gewünschte Probenvolumen (Richtwert 1 mL) mit dem Turbovap eingengt und allenfalls noch mit einer Kieselgelsäule nachgereinigt.

53 Nachreinigen mit Kieselgel

531 Packen der Säule

Die in *Abschnitt 211* genannte Chromatographiesäule wird von unten nach oben wie folgt trocken gepackt und mit einem Vibrator verdichtet:

- Etwas nachgereinigte Baumwolle (vgl. *Abschn. 222.2*);
- 2 g Na₂SO₄ (vgl. *Abschn. 222.4*);

- 5 g Kieselgel (vgl. *Abschn. 222.3*);
- 2 g Na₂SO₄ (vgl. *Abschn. 222.4*).

Anschliessend wird die Säule zweimal mit n-Hexan gefüllt und gespült.

532 Fraktionieren der Probenextrakte

Der ganze Probenextrakt, bei höher belasteten Böden ein Aliquot entsprechend etwa 2 g Boden, wird mit einer Pasteurpipette auf die Säule gegeben. Im letzteren Fall muss das Probenvolumen genau gemessen werden, um die Wiederfindungsraten entsprechend korrigieren zu können. Nach Aufgeben des ganzen Extrakts wird zweimal mit 1 mL n-Hexan nachgespült.

Anschliessend wird die PAK-Fraktion mit 40 mL n-Hexan/Toluol 7+3 eluiert und in ein Turbovap-Gefäss überführt. Der Extrakt wird an einem Turbovap 500 System auf etwa 1 mL eingengt. Das Volumen kann dann mit einem Stickstoffstrom weiter auf minimal 200-300 µL verkleinert werden. Die Lösungsmitteloberfläche darf dabei vom Gasstrom nicht gekräuselt werden. Die Probe ist nun bereit für die Quantifizierung.

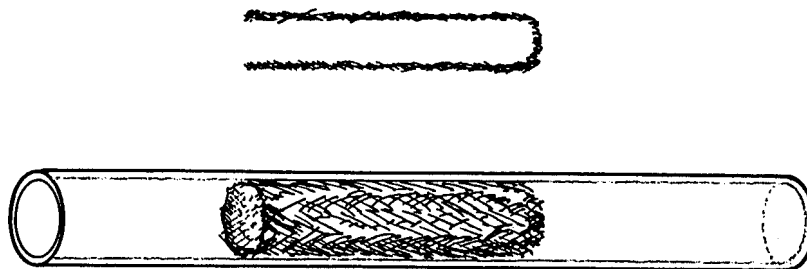
Falls im Chromatogramm wegen eines zu hohen Restanteils an Toluol Signalstörungen auftreten (Schultern, Doppelsignale usw.), sollte das Lösungsmittel zu Cyclohexan gewechselt werden. 5-10 mL werden in 2-3 Portionen zugegeben; dazwischen wird erneut auf 1 mL eingengt.

6 Quantitative Analyse

61 Vorbemerkungen

Die in *Abschnitt 45* angegebene Menge an Wiederfindungsstandard muss allen Probenextrakten vor der quantitativen Analyse mittels einer Dosierspritze zugesetzt werden. Das Probenvolumen wird, falls nötig, durch vorsichtiges Abblasen mit gereinigtem Stickstoff auf 200-300 µL verkleinert. Anschliessend können die in *Abschnitt 624* genannten Probenmengen injiziert werden.

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



62 Gaschromatographische Trennung

621 Geräte

- Gaschromatograph.
- Injektor für die splitlose 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 Soxhlehülse geformt (vgl. *Abb. 1*).

622 Injektionsspritzen

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

623 Trennkapillare

Folgende Trennkapillare wird eingesetzt:

- *5%-Phenyl-95%-methylpolysiloxan*: z.B. DB5, Ultra 2, CP-Sil 8, RTx5 oder vergleichbar, immobilisiert, Filmdicke 0.1 µm.
- *Kapillardimensionen*: Polyimidbelegte Quarzkapillare, 25 m Länge, 0.25 mm Innendurchmesser.

624 Injektions- und Trennbedingungen

- *Trägergas*: He, Flussgeschwindigkeit 35-45 cm/s.
- *Gasfluss am Splitauslass*: 50±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: 40 °C, 2 min Wartezeit, 40-100 °C mit 30 °C/min, 100-300 °C mit 10 °C/min, 300 °C isotherm (5-10 min).

Manuelle Heissnadelinjektion, selbst sehr schwerflüchtige PAK werden mit dieser Technik praktisch quantitativ (>90 %) 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 bei Fluoranthren - zu korrigieren.

63 Massenspektrometrische Quantifizierung

631 Geräte

Es wird ein Massenspektrometer mit Elektronenionisation (EI) eingesetzt. Bei den in *Abchnitt 632* beschriebenen Detektionsbedingungen müssen folgende typische Nachweisgrenzen für die gesamte Probenmenge erreicht werden (Signal/Rauschen-Verhältnis 3:1 für das GC-Signal im entsprechenden Massenchromatogramm): Bei Injektion von 1 µL des Probenextrakts etwa 10-100 pg. Bei einem Probenvolumen von z.B. 50 µL entspricht dies etwa einer Totalmenge von 0.5-5 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 119.0, 219.0, 264.0 oder 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^+ -Ions und des $[M-2H]^+$ - bzw. $[M-26]^+$ -Fragments für nicht substituierte PAK oder M^+ - und $[M-15]$ -Ion für methylsubstituierte PAK. Das Massenspektrometer wird im SIM-Modus ("*Selected Ion Monitoring*") angesteuert. Messzeit ("*dwell time*") 50 ms/Ion oder mindestens 10-12 Messpunkte pro Signal - total ≤ 11 Ionen pro Gruppe.

Zur Quantifizierung wird das in *Tabelle 3* aufgelistete SIM-Programm verwendet. Die genaue Masse, die das beste Signal/Rauschen-Verhältnis ergibt, muss durch eine dynamische Masseneichung bestimmt werden (Signal/Rauschen-Verhältnisse bei etwa -0.2 bis +0.2 u der nominellen Masse). Die totale Messzeit pro Gruppe sollte so gewählt werden, dass jedes gaschromatographische Signal mit mindestens 10-12 Messpunkten definiert wird.

Tabelle 3: Gerundete Massen der Ionengruppen zur Quantifizierung der PAK mit GC/MS. Die exakten Massen liegen maximal 0.1 u höher. Das Ion mit der höchsten Masse wird zur Quantifizierung verwendet.

Gruppe 1 m/z	Gruppe 2 m/z	Gruppe 3 m/z
128/126 bzw. 102	178/176 bzw. 152	254/252 bzw. 226
142/141 bzw. 127	202/200 bzw. 176	276/274 bzw. 250
152/150 bzw. 126	216/201	278/276 bzw. 252
154/152 bzw. 128	228/226 bzw. 202	
166/164 bzw. 140		

64 Durchführung der Quantifizierung

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

- Enthalten die Massenfragmentogramme interferierende Signale? Fehlen PAK-Verbindungen, die in den Proben vorhanden sein müssten, oder sind Extrasignale vorhanden, die nicht dazu gehören?
- Sind die Retentionszeiten der PAK-Verbindungen in Bezug auf diejenigen des Referenzstandards korrekt (vgl. *Abschn. 76*)?
- Ist die gaschromatographische Trennung ausreichend (vgl. Wegleitung "*Qualitätssicherungskonzept - Analytik von PAK, PCB und Dioxinen im Boden*")?
- Ist das Signal/Rauschen-Verhältnis für eine quantitative Bestimmung ausreichend?

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 obenstehenden 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; oder es wird das vom MS-Hersteller mitgelieferte Quantifizierungsprogramm eingesetzt.

Alle Berechnungen werden nach dem folgenden Prinzip durchgeführt:

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

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

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

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

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

M_i : Gesamtmenge des PAK_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 festen Referenzstandards sowie Grund- und Quantifizierungsstandards werden bei 4-6 °C im Dunkeln aufbewahrt; sie haben eine unbegrenzte Haltbarkeit. Arbeitsstandards, die in Probenfläschchen mit Kapillaröffnung bei 4-6 °C aufbewahrt werden, haben in sechs Monaten Verdampfungsverluste von <1 mg und eine Haltbarkeitsdauer von sechs Monaten. Arbeitsstandards in normalen Probengläschen können maximal zwei Monate verwendet werden.

Alle neu hergestellten Grundstandards müssen mit dem vorher angewendeten Standard verglichen werden, bevor sie in Gebrauch genommen werden können. Abweichungen, welche innerhalb der Wiederholbarkeit der Quantifizierungsmethode liegen ($\pm 10\%$), sind akzeptabel. Mindestens einmal jährlich müssen die Grundstandards gegen einen zertifizierten Referenzstandard oder gegen den Referenzstandard eines anerkannten Ringversuchs kontrolliert werden.

Es sind zur Zeit nur Standardlösungen erhältlich, die von anerkannten, darauf spezialisierten kommerziellen Firmen hergestellt werden. Diese geben eine Genauigkeit von $\pm 5\%$ an.

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

72 Injektionshäufigkeit des Quantifizierungsstandards

Der Quantifizierungsstandard (bei genügender Linearität) oder die Kalibrierreihe 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 PAK 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 PAK entsprechen den Nachweisgrenzen bei einem Signal/Rauschen-Verhältnis 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 PAK 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 beim Blindwert 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 PAK-Probe injiziert. Für jede PAK-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. SRM 1941 PAK in Sedimenten (NIST), CRM 524 PAK in belastetem Boden oder CRM 535 PAK in belasteten Süßwassersedimenten (letzteres Referenzmaterial vom *Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM*, Geel, Belgien). Die Differenz zwischen dem Analysenergebnis und den zertifizierten Werten darf ± 10 % nicht überschreiten.

Da Kosten und Zeitaufwand für PAK-Ringteste sehr gross ist, werden nur wenige Interkalibrierungen für PAK in verschiedenen Probenmatrizes organisiert. Das Ziel ist, jährlich mindestens einmal an einem Ringversuch für PAK 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 PAK-Verbindung muss hinsichtlich Retentionszeit des Quantifizierungsstandards innerhalb eines Retentionszeitfensters von ± 3 s liegen.
- Das Flächenverhältnis der Signale zwischen den zwei gemessenen Ionen einer PAK-Verbindung muss innerhalb von ± 20 % jenes Werts liegen, der für den Quantifizierungsstandard gefunden worden ist.
- Das Signal/Rauschen-Verhältnis muss mindestens 3:1 für einen Nachweis und 10:1 für eine Quantifizierung betragen.
- Die Wiederfindungsrate der zugesetzten internen Standards muss hinsichtlich zugesetztem Wiederfindungsstandard zwischen 50 bis 110 % liegen.

8 Genauigkeit und Vergleichbarkeit der Methode

- Die Genauigkeit der Konzentration der erhältlichen Referenzstandards beträgt ± 5 %.
- Die Standardabweichung von mindesten fünf parallelen Analysen einer homogenen Probe liegt bei ± 10 %. Bei schwer zu homogenisierenden Proben sind ± 20 % zulässig.
- Die vollständige Methode wurde zusätzlich in Ringversuchen validiert. Dies geschah letztmals 1995 durch Teilnahme an der Interkalibrierung der "*International Atomic Energy Agency*" wurde allerdings für die schwierigere Matrix "Sedimente" organisiert³. Die Abweichung der PAK-Einzelkonzentrationen vom Mittelwert der 22 teilnehmenden Laboratorien lag typisch bei etwa 15 %.
- Die Analyse von Langzeitserien von Kontrollproben ergab einen Messunsicherheitsbereich von ± 10 -25 %.

³ International Atomic Energy Agency, Marine Environment Laboratory, MC 98012 Monaco, Report of December 11, 1995.

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.