

NA 119-01-03 AA N 2397
NA 119-01-03-02-19 AK N 259

Validierungsdokument

zu

DIN 38414-14

**„Bestimmung ausgewählter polyfluorierter
Verbindungen in Schlamm, Kompost und Boden –
Verfahren mittels Hochleistungs-
Flüssigkeitschromatographie und
massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS)
(S14)**

Oktober 2011

| Inhalt | Seite |
|--|--------------|
| 1 Allgemeine Angaben zur Bearbeitung des Verfahrens | 5 |
| 1.1 Beginn und Ende der Bearbeitung | 5 |
| 1.2 Obmann und stellvertretender Obmann | 5 |
| 1.3 Liste der Arbeitskreismitglieder und ständiger Gäste | 5 |
| 2 Anwendungsbereich | 7 |
| 2.1 Erfasste Parameter | 7 |
| 2.2 Arbeitsbereich | 8 |
| 3 Grundlagen des Verfahrens | 8 |
| 4 Störungen | 8 |
| 5 Reagenzien und Geräte | 10 |
| 5.1 Festphasenmaterialien für die Reinigung von Extrakten | 10 |
| 5.2 Herstellung von Bezugslösungen | 10 |
| 5.3 Haltbarkeit von Stamm- und Bezugslösungen | 10 |
| 5.4 Bezugsquellen für Referenzsubstanzen und Lösungen | 11 |
| 5.5 HPLC-Säulen und chromatographische Bedingungen | 11 |
| 5.6 Massenspektrometer | 17 |
| 6 Durchführung | 18 |
| 6.1 Probenvorbereitung | 18 |
| 6.2 Extraktion | 20 |
| 6.3 Reinigung von Extrakten | 22 |
| 6.4 Massenspektrometrische Messung | 24 |
| 7 Ermittlung von Verfahrenskenndaten | 26 |
| 7.1 Kalibrierverfahren | 26 |
| 7.2 Kalibriersubstanzen | 27 |
| 7.3 Kenndaten der Grundkalibrierung und Messbedingungen | 28 |
| 8 Untersuchungen zur Richtigkeit und Präzision | 32 |
| 9 Robustheit | 36 |
| 9.1 Extraktion | 36 |
| 9.2 Reinigung der Extrakte | 36 |
| 9.3 Massenspektrometrische Messung | 36 |
| 10 Verfahrenskenndaten aus Ringversuchen | 37 |
| 10.1 Durchführung | 37 |
| 10.2 Herstellung der Ringversuchsproben | 37 |
| 10.3 Angaben zur Analytik | 38 |
| 10.4 Ergebnisse | 39 |
| 10.5 Graphische Darstellung der Ergebnisse des Ringversuchs | 44 |
| 11 Auswertung | 61 |
| 12 Literatur | 64 |
| 13 Anhang | 65 |

| Bilder | Seite |
|--|--------------|
| Bild 1 PFC in handelsüblichen PTFE-Schläuchen | 8 |
| Bild 2 Wiederfindungsraten bei verschiedenen Volumenanteilen an Methanol in der Messlösung | 9 |
| Bild 3 Retention von PFBA an verschiedenen HPLC-Phasen | 11 |
| Bild 4 Relativer Response bei verschiedenen Eluenten | 12 |
| Bild 5 Einfluss verschiedener Eluente auf die Chromatographie | 12 |
| Bild 6 Chromatographische Trennung, Beispiel 1 | 13 |
| Bild 7 Chromatographische Trennung, Beispiel 2 | 13 |
| Bild 8 Chromatographische Trennung, Beispiel 3 | 13 |
| Bild 9 Chromatographische Trennung, Beispiel 4 | 13 |
| Bild 10 Chromatographische Trennung, Beispiel 5 | 13 |
| Bild 11 Extraktionsausbeute bei Trocknung von Klärschlämmen in Abhängigkeit von der Temperatur und dem Extraktionsverfahren | 18 |
| Bild 12 Homogenität der Prüfprobe bei Korngrößen < 250 µm | 19 |
| Bild 13 Homogenität der Prüfprobe bei Korngrößen < 2 mm | 19 |
| Bild 14 PFC-Ausbeuten mit verschiedenen Extraktionsmitteln und -methoden am Beispiel einer Klärschlammprobe | 20 |
| Bild 15 PFC-Ausbeuten mit verschiedenen Extraktionsmitteln und -methoden am Beispiel einer Bodenprobe | 21 |
| Bild 16 Extraktionsausbeuten bei mehrstufiger Ultraschallextraktion mit Methanol | 21 |
| Bild 17 Relative Extraktionsausbeuten bei Mikrowellenextraktion | 22 |
| Bild 18 Beispiel für ein MS-Chromatogramm einer Probe mit verzweigten und unverzweigten Carbonsäuren | 25 |
| Bild 19 Beispiel für ein MS-Chromatogramm einer Probe mit verzweigten und unverzweigten Sulfonsäuren | 25 |
| Bild 20 Stabilität von Kalibrierungen, Beispiel | 27 |
| Bild 21 Wiederholstandardabweichung bei Untersuchungen zur Homogenität der Ringversuchsproben | 38 |
| Bild 22 Wiederfindungsraten interner Standardsubstanzen | 39 |
| Bild 23 Vergleichsvariationskoeffizienten für die HPLC-MS/MS-Messung (Standardlösung) | 41 |
| Bild 24 Übersicht zu Ausreißern und nicht erfüllten Vorgaben für interne Standardsubstanzen | 43 |
| Bild 25 Graphiken zu Probe 1 – Standardlösung | 44 |
| Bild 26 Graphiken zu Probe 2 – Klärschlamm | 49 |
| Bild 27 Graphiken zu Probe 3 – Boden | 53 |
| Bild 28 Graphiken zu Probe 4 – Futtermittel (Grassilage) | 57 |
| Bild 29 Chromatographische Trennung von PFOS-Isomeren | 62 |
| Bild 30 Zuordnung verzweigter PFOS-Isomere in Umweltproben, Beispiele | 62 |

| Tabellen | | Seite |
|-------------------|--|--------------|
| Tabelle 1 | Polyfluorierte Verbindungen, deren Bestimmung nach diesem Verfahren erprobt wurde | 7 |
| Tabelle 2 | Erprobte Festphasenmaterialien | 10 |
| Tabelle 3 | Beispiel für Bezugslösungen | 10 |
| Tabelle 4 | Lieferanten von Referenzsubstanzen und Lösungen | 11 |
| Tabelle 5 | Durchbruch von PFC bei der Reinigung matrixreicher Proben | 23 |
| Tabelle 6 | Massenübergänge der zu bestimmenden Substanzen | 24 |
| Tabelle 7 | Beispiel für Fragmentierungen | 24 |
| Tabelle 8 | Massenübergänge interner Standardsubstanzen und Beispiel für Fremdbezug | 26 |
| Tabelle 9 | Kenndaten und Messbedingungen, Beispiel 1 | 28 |
| Tabelle 10 | Kenndaten und Messbedingungen, Beispiel 2 | 29 |
| Tabelle 11 | Kenndaten und Messbedingungen, Beispiel 3 | 30 |
| Tabelle 12 | Kenndaten und Messbedingungen, Beispiel 4 | 31 |
| Tabelle 13 | Kenndaten und Messbedingungen, Beispiel 5 | 32 |
| Tabelle 14 | Beispiele für Wiederfindungsraten aus Boden und Gewässersediment | 33 |
| Tabelle 15 | Beispiele für Wiederfindungsraten aus Klärschlamm | 34 |
| Tabelle 16 | Beispiele für Wiederfindungsraten aus Kompost | 35 |
| Tabelle 17 | Verfahrenskenndaten für die HPLC-MS/MS-Messung (Probe 1) | 40 |
| Tabelle 18 | Verfahrenskenndaten für die Matrix Klärschlamm (Probe 2) | 41 |
| Tabelle 19 | Verfahrenskenndaten für die Matrix Boden (Probe 3) | 42 |
| Tabelle 20 | Verfahrenskenndaten für die Matrix Grassilage/Futtermittel (Probe 4) | 42 |
| Tabelle 21 | Relativer Anteil verzweigter Isomere, Beispiele | 61 |
| Tabelle 22 | Fehlerabschätzung zur konventionellen Quantifizierungsmethode | 63 |

1 Allgemeine Angaben zur Bearbeitung des Verfahrens

Das Verfahren DIN 38414-14 wurde erarbeitet im Arbeitskreis 19 des Normenausschusses Wasserwesen I-3 im Unterausschuss 2. Anlass für das Verfahren war die bevorstehende Novellierung der Klärschlammverordnung, bei der eine Beschränkung für die Stoffe PFOA und PFOS im Gespräch ist. In der Düngemittelverordnung (DüMV) vom 20.12.2008 wurde für die Summe von PFOA und PFOS bereits ein Höchstgehalt (0,1 mg/kg TM) festgelegt.

1.1 Beginn und Ende der Bearbeitung

Der Arbeitskreis wurde am 01.04.2008 mit dem Auftrag, ein Verfahren für die Bestimmung von PFC in Wasser zu erarbeiten, gegründet. Auf der 3. Sitzung des Arbeitskreises, am 15.12.2008 wurde der Auftrag um ein zusätzliches Verfahren für die Bestimmung dieser Stoffe in Klärschlamm und Boden erweitert. Diese Arbeiten, die zuständigkeithalber im AK 52 des NA 119-01-02-02 (Abfall- und Bodenuntersuchungen) durchgeführt werden sollten, wurden wegen der gleichen messtechnischen Grundlage damit dem AK19 zugewiesen.

Die Normvorlage wurde in 5 Sitzungen erstellt und im August 2010 dem DIN NAW I,3 zur weiteren Veranlassung vorgelegt. Die Norm DIN 38414-14 ist im August 2011 erschienen.

1.2 Obmann und stellvertretender Obmann

| | |
|---|--|
| Herr Dipl.-Ing. Rolf Reupert Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz NRW Leibnizstraße 10 45659 Recklinghausen | Herr Dr. Dirk Skutlarek Universitätsklinikum Bonn Institut für Hygiene und Öffentliche Gesundheit Sigmund-Freud-Str. 25 53105 Bonn |
|---|--|

1.3 Liste der Arbeitskreismitglieder und ständiger Gäste

| | |
|--|--|
| Herr Dipl.-Ing. Frank Brille Bergisches Wasser- und Umweltlabor der BTV-GmbH Schützenstr. 34 42281 Wuppertal | Frau LMChem. Petra Bröcking Hygiene-Institut des Ruhrgebietes Rotthauer Str. 19 45879 Gelsenkirchen |
| Herr Dipl.-Ing. H.-J. Dibowski Ruhrverband Chem. + Biol. Laboratorium Kronprinzenstr. 37 45128 Essen | Frau LMChem Heike Drinda Sofia GmbH Rudower Chaussee 29 12489 Berlin |
| Herr Michael Eißing WESSLING Laboratorien GmbH Oststr. 6 48341 Altenberge | Herr Dipl.-Ing. Stephan Fahrmayr Analytik Institut Rietzler GmbH Schnorrstraße 5a 90471 Nürnberg |
| Frau Sandy Falk Landesbetrieb Hessisches Landeslabor Glarusstr. 6 65203 Wiesbaden | Herr Dipl.-Ing. Stefan Frankenbach SGS Institut Fresenius GmbH Im Maisel 14 65232 Taunusstein Neuhof |
| Frau Dipl.-Ing. Carmen Hann Institut für Hygiene und Umwelt, HU 42 Marckmannstraße 129 b, Haus 6 20539 Hamburg | Herr Dr. Christian Kabbe Umweltbundesamt (UBA) Schichauweg 58 12307 Berlin |
| Herr Dr. Martin Kowall Campro Scientific GmbH Darser Str. 2a 14167 Berlin | Herr Dr. Frank Th. Lange Technologiezentrum Wasser (TZW) Karlsruhe Abteilung Analytik Karlsruher Str. 84 76139 Karlsruhe |

| | |
|---|--|
| Herr Dr. Dieter Martens Landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt Speyer Obere Langgasse 40 67346 Speyer | Frau Dr. Katri Mehrländer GBA - Gesellschaft für Bioanalytik Hamburg mbH Brekelbaumstr. 1 31789 Hameln |
| Herr Dr. Josef Müller Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und angewandte Oekologie (IME) Auf dem Aberg 1 57392 Schmallenberg Grafschaft/Hochsauerland | Frau Dr. Miroslawa Peikert WESSLING Laboratorien GmbH Umweltanalytik Oststr. 6 48341 Altenberge |
| Herr Malte Petersen Eurofins/GfA-Gesellschaft für Arbeitsplatz- und Umweltanalytik mbH Neuländer Kamp 1 21079 Hamburg | Herr Dr. Christian Piechotta Bundesanstalt für Materialforschung und – prüfung (BAM) Richard-Willstätter-Str. 11 12489 Berlin |
| Frau Dr. Marlies Raudschus Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz NRW Fachbereich 66 Leibnizstraße 10 45659 Recklinghausen | Frau Dipl.-Ing. Regina Respondek Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz NRW Fachbereich 64 Leibnizstraße 10 45659 Recklinghausen |
| Herr Dr. Alexander Ruderisch Agrolab Labor GmbH Dr.-Pauling-Str. 3 84079 Bruckberg | Herr Dipl.-Chem. George Sawal Umweltbundesamt (UBA) FG II 2.5 Bismarckplatz 1 14193 Berlin |
| Herr Dr. Florian Seidel SGS Institut Fresenius GmbH Im Maisel 14 65232 Taunusstein Neuhof | Herr Dr. Claus Schlett Westfälische Wasser- und Umweltanalytik GmbH Willy-Brandt-Allee 26 45891 Gelsenkirchen |
| Herr Dr. Christian Schmidt Dionex GmbH Am Wörtzgarten 10 65510 Idstein | Frau Dipl.-Ing. Iris Schmidt Labor Dr. Blasy – Dr. Busse GmbH Moosstr. 6a 82279 Eching |
| Herr Dr. Manfred Sengl Bayerisches Landesamt für Umwelt (LfU) Kaulbachstr. 37 80539 München | Herr Dr. Thorsten Stahl Landesbetrieb Hessisches Landeslabor Glarusstr. 6 65203 Wiesbaden |
| Herr Dr. Armin Trenkle Landwirtschaftliches Technologiezentrum Augustenberg Neßlerstr. 23-31 76227 Karlsruhe | Frau Dr. Magdalena Ulman Bayerisches Landesamt für Umwelt (LfU) Kaulbachstr. 37 80539 München |
| Herr Dipl.-Ing. Ronny Wischer Umweltbundesamt (UBA) Schichauweg 58 12307 Berlin | Frau Dipl.-Ing. Anja Wobst IWU – Institut für Wasser- und Umweltanalytik GmbH An der Ohratalsperre 99885 Luisenthal |
| Herr Dr. Dietmar Wunderlich Umweltbundesamt (UBA) Schichauweg 58 12307 Berlin | |

2 Anwendungsbereich

2.1 Erfasste Parameter

Für das Verfahren DIN 38414-14 wurden die gleichen Perfluoralkylverbindungen ausgewählt wie für die Untersuchung von Wasserproben nach DIN 38407-42 (Tabelle 1). Höhere Homologe wurden bei der Validierung des Verfahrens nicht berücksichtigt, da sie gegenüber den ausgewählten Stoffen bislang nicht auffällig waren.

Tabelle 1 – Polyfluorierte Verbindungen, deren Bestimmung nach diesem Verfahren erprobt wurde

| Strukturformel | Substanzname, Abkürzung, Summenformel | Rel. molare Masse (g/mol) | CAS-RN |
|----------------------------|---|---------------------------|-----------|
| $F_3C-CF_2-CF_2-COOH$ | Perfluorbutansäure PFBA $C_4HF_7O_2$ | 214,04 | 375-22-4 |
| $F_3C-(CF_2)_2-CF_2-COOH$ | Perfluorpentansäure PFPeA $C_5HF_9O_2$ | 264,04 | 2706-90-3 |
| $F_3C-(CF_2)_3-CF_2-COOH$ | Perfluorhexansäure PFHxA $C_6HF_{11}O_2$ | 314,05 | 307-24-4 |
| $F_3C-(CF_2)_4-CF_2-COOH$ | Perfluorheptansäure PFHpA $C_7HF_{13}O_2$ | 364,06 | 375-85-9 |
| $F_3C-(CF_2)_5-CF_2-COOH$ | Perfluoroctansäure PFOA $C_8HF_{15}O_2$ | 414,07 | 335-67-1 |
| $F_3C-(CF_2)_6-CF_2-COOH$ | Perfluorononansäure PFNA $C_9HF_{17}O_2$ | 464,07 | 375-95-1 |
| $F_3C-(CF_2)_7-CF_2-COOH$ | Perfluordecansäure PFDA $C_{10}HF_{19}O_2$ | 514,08 | 335-76-2 |
| $F_3C-(CF_2)_2-CF_2-SO_3H$ | Perfluorbutansulfonsäure PFBS $C_4HF_9O_3S$ | 300,09 | 375-73-5 |
| $F_3C-(CF_2)_4-CF_2-SO_3H$ | Perfluorhexansulfonsäure PFHxS $C_6HF_{13}O_3S$ | 400,11 | 355-46-4 |
| $F_3C-(CF_2)_6-CF_2-SO_3H$ | Perfluoroctansulfonsäure PFOS $C_8HF_{17}O_3S$ | 500,12 | 1763-23-1 |

Bei der technischen Herstellung von Perfluoralkylverbindungen durch elektrolytische Fluorierung von Kohlenwasserstoff-Ausgangsprodukten entstehen Isomerenmische. Neben den unverzweigten Isomeren können deswegen auch häufig verzweigte Isomere, insbesondere bei den Verbindungen PFOA, PFHxS und PFOS, in den zu untersuchenden Proben vorkommen.

Besonders bei PFOS können maßgebliche Anteile verzweigter Isomere in Umweltproben auftreten. Da die verzweigten Isomere chromatographisch nur teilweise voneinander getrennt werden können, legt das in dieser Norm beschriebene Verfahren eine Konvention zur Quantifizierung des Gesamtgehalts aller Isomere des jeweiligen Perfluoralkylsulfonats bzw. Perfluoralkylcarboxylats fest.

Die Anwendbarkeit des Verfahrens auf weitere, in Tabelle 1 nicht genannte Substanzen, wird nicht ausgeschlossen, sie muss jedoch im Einzelfall geprüft werden.

In Verbindung mit der Reinigung der Extrakte kann das Verfahren grundsätzlich um Stoffe erweitert werden, die eine acide funktionelle Gruppe im Molekül aufweisen, z. B. um die Stoffe Perfluorundecansäure (PFUnA), Perfluordodecansäure (PFDoA), Perfluorheptansulfonsäure (PFHpS), Perfluordecansulfonsäure (PFDS), Perfluordodecansulfonsäure (PFDoS) und 1H,1H,2H,2H-Perfluorooctansulfonsäure (H4PFOS).

Telomeralkohole können dagegen nicht erfasst werden, da sie unter den vorgegebenen Bedingungen der Extraktreinigung nicht angereichert werden. Diese Einschränkungen bestehen nicht, wenn auf die Reinigung des Extraktes verzichtet werden kann.

2.2 Arbeitsbereich

Das Verfahren ist geeignet zur Bestimmung der in Tabelle 1 genannten PFC in Gewässersediment, Klärschlamm, Kompost und Boden oberhalb Massenanteilen von 10 µg/kg Trockenmasse (m_T). Es wurde im Ringversuch erfolgreich auch für Futtermittel (Grassilage) getestet.

Die Anwendbarkeit des Verfahrens auf andere Probenarten, z.B. Düngemittel, wird nicht ausgeschlossen, sie muss jedoch im Einzelfall geprüft werden.

Die untere Anwendungsgrenze des Verfahrens orientiert sich an dem Summenwert für PFOA und PFOS in Klärschlamm (100 µg/kg m_T), der bei landwirtschaftlicher Nutzung in einigen Bundesländern nicht überschritten werden darf.

3 Grundlagen des Verfahrens

Die Substanzen werden durch ultraschallunterstützte Extraktion mit Methanol aus der trockenen, homogenisierten Probe extrahiert. Der Extrakt wird mit Wasser verdünnt bzw. durch Festphasenextraktion an einem schwachen Anionenaustauscher gereinigt. Die Bestätigung und quantitative Bestimmung erfolgt durch Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS).

4 Störungen

Störungen des Verfahrens können durch den Kontakt der Probe mit polytetrafluorethenhaltigen Materialien (PTFE = Polytetrafluorethen) verursacht werden. Vorzugsweise sind deshalb Materialien aus Glas, Stahl, PEEK (Polyetheretherketon), Polypropylen oder Polyethylen zu verwenden.

Bei HPLC-Geräten werden häufig Materialien aus PTFE verwendet, die zu Blindwerten bei den Perfluoralkylcarboxylaten, insbesondere bei PFOA, führen können (Bild 1).

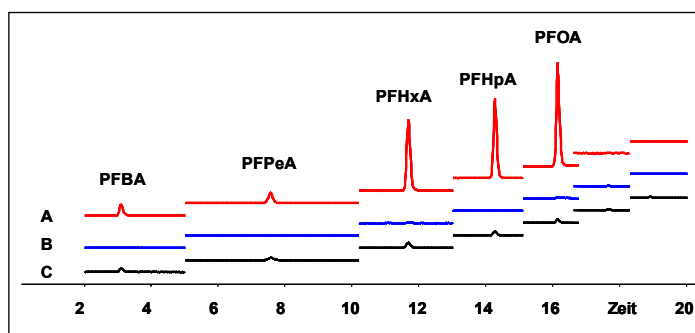


Bild 1 – PFC in handelsüblichen PTFE-Schläuchen

PTFE-Schlauch 160 mm x 3 mm x 1,5 mm (L x AD x ID), extrahiert mit Methanol (1 ml), Intensitäten normalisiert

A: übliche Qualität (ungebraucht)

B: hochreine Qualität

C: PFC-Standardlösung, $\rho_1 = 0,25$ ng/ml

Diese Störungen treten besonders bei ungebrauchten Materialien auf. Typische Kontaminationsquellen sind z. B. Vakuumentgaser, Fritten und Schläuche sowie Pumpenkopfdichtungen.

Treten solche Störungen auf, kann z. B. die Entgasung der Eluenten durch die Verwendung von Helium anstelle von Vakuumentgasern erfolgen. Fritten und Schläuche aus PTFE sind durch solche aus Edelstahl oder PEEK zu ersetzen.

Pumpenkopfdichtungen können PTFE enthalten. Sie können über die gesamte Nutzungszeit Perfluoralkylcarboxylate abgeben, die am Kopf der Trennsäule angereichert und mit dem Lösemittelgradienten eluiert werden. Soweit verfügbar sind bei Auftreten dieser Störungen Pumpenkopfdichtungen aus Polyethylen zu verwenden.

Blindwerte aus dem HPLC-System können auch durch Verwendung von Adsorptionssäulen reduziert bzw. vermieden werden. Die Adsorptionssäulen sind vor dem Injektor in den Flussweg einzubauen, wodurch die Kontaminanten gegenüber den Analyten verzögert werden. Die Adsorptionssäulen sind so auszulegen, dass die Kontaminanten von den Analyten chromatographisch vollständig getrennt werden. Spezielle Adsorptionssäulen für die PFC-Analytik werden von einigen Geräteherstellern angeboten.

Um Minderbefunde bei den Stoffen PFNA, PFDA und PFOS zu vermeiden, muss der Volumenanteil an Methanol in der Messlösung mindestens 40 % betragen (Bild 2), unabhängig davon, ob der Extrakt gereinigt wird oder nicht.

Bei der Analyse von ungereinigten Extrakten mit hohem Gehalt an organischen Kohlenstoff, z.B. Klärschlamm, können Störungen durch Verschiebung der Retentionszeiten auftreten. Gefärbte Extrakte sollten grundsätzlich gereinigt werden.

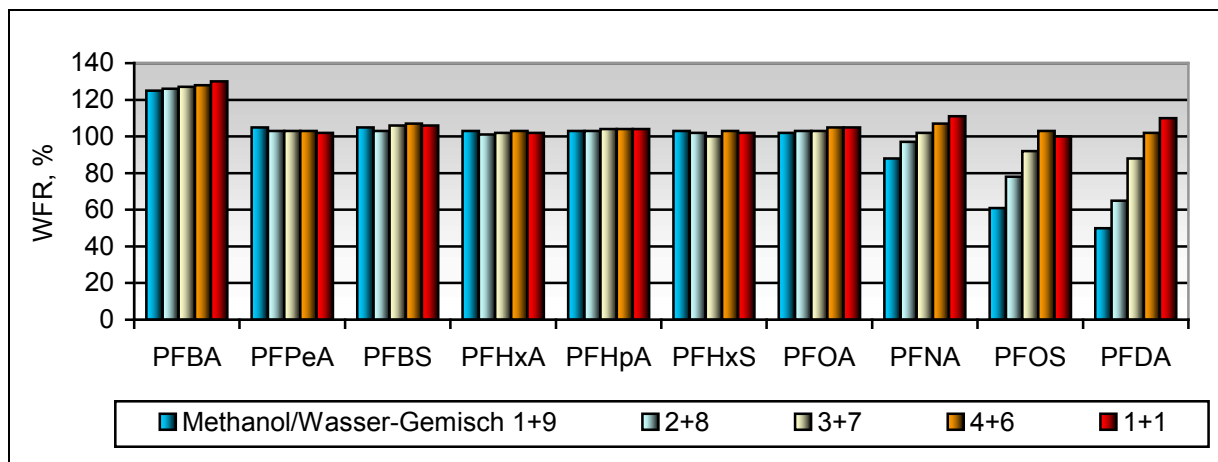


Bild 2 – Wiederfindungsraten bei verschiedenen Volumenanteilen an Methanol in der Messlösung

5 Reagenzien und Geräte

5.1 Festphasenmaterialien für die Reinigung von Extrakten

Für die Reinigung von Extrakten wurden ausschließlich schwache Anionenaustauscher auf Polymerbasis erprobt (Tabelle 2). Die bifunktionellen Wechselwirkungen dieser Materialien ermöglichen eine selektivere Anreicherung und Isolierung der Analyten als vergleichsweise nicht modifizierte Polymerphasen.

Tabelle 2 – Erprobte Festphasenmaterialien

| Bezeichnung | Firma | Material, funktionelle Gruppe | $A_{\text{spez.}}$ m^2/g | V_p \AA | d_p μm | K_A meg/g |
|-------------------|--------------------|---|---|-----------------------|------------------------|-------------------------|
| Strata-X-AW | Phenomenex | DVB, propylethylamin | 800 | 85 | 33 | 0,6 |
| Oasis WAX | Waters | N-Vinylpyrrolidone-DVB, - methylenpiperazine | 830 | 80 | 30 | 0,6 |
| Chromabond HR-XAW | Macherey- Nagel | DVB, aminoethylamin | 900 | 60 | 85 | 0,6 |

$A_{\text{spez.}}$: Spezifische Oberfläche; V_p Porengröße; d_p Partikeldurchmesser; K_A Ionenaustauscher-Kapazität

Die Materialien sind in Standard- und Widemouth-Kartuschen im Handel erhältlich.

5.2 Herstellung von Bezugslösungen

Tabelle 3 gibt ein Beispiel für die Herstellung von Bezugslösungen für eine Kalibrierung mit internem Standard über 8 Konzentrationsniveaus.

Tabelle 3 – Beispiel für Bezugslösungen

| Bezugslösung $V = 10 \text{ ml}$ | | Stammlösung Referenzsubstanz $\rho_i = 0,5 \mu\text{g/ml}$ | Stamm- und Dotierlösung Interne Standards $\rho_i = 1 \mu\text{g/ml}$ | $\omega_{iP}^{1)}$ $\mu\text{g/kg } m_T$ | $\omega_{iP}^{1)}$ $\mu\text{g/kg } m_T$ |
|-------------------------------------|-------------------------------|--|---|---|---|
| ρ_i ng/ml | ρ_{ii} ng/ml | $\mu\text{l-Zugabe}$ | $\mu\text{l-Zugabe}$ | | |
| 0,5 | 10 | 10 | 100 | 100 | 10 |
| 1 | 10 | 20 | 100 | 100 | 20 |
| 2,5 | 10 | 50 | 100 | 100 | 50 |
| 5 | 10 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 10 | 10 | 200 | 100 | 100 | 200 |
| 15 | 10 | 300 | 100 | 100 | 300 |
| 20 | 10 | 400 | 100 | 100 | 400 |
| 25 | 10 | 500 | 100 | 100 | 500 |

¹⁾ Massenkonzentrationen bei $m_P = 1 \text{ g}$, $V_E = 10 \text{ ml}$, $V_T = 0,5 \text{ ml}$ und $V_M = 1 \text{ ml}$

5.3 Haltbarkeit von Stamm- und Bezugslösungen

Die Haltbarkeit der PFC-Standards in Lösung beträgt bei sachgemäßer Lagerung der ungeöffneten Ampullen laut Herstellerangaben mindestens zwei Jahre. Diese Aussage ist das Ergebnis von fortlaufenden Stabilitätsstudien des Herstellers für jeden einzelnen Standard in Form von kontinuierlichen GC/MS- und/oder LC/MS-Messungen von frisch hergestellten sowie von schon älteren Standardlösungen. In methanolhaltigen Lösungen kann eine Veresterung der PFCs zu den Methylestern stattfinden. Zur Unterdrückung dieser Reaktion wird den Standardlösungen 1 mol equivalent Natriumhydroxid hinzugefügt.

5.4 Bezugsquellen für Referenzsubstanzen und Lösungen

Substanzen der Tabelle 1 werden als Reinsubstanzen, sowie als Lösungen und in Mischungen im Handel angeboten. Isotopenmarkierte interne Standardsubstanzen werden zurzeit ausschließlich in Lösungen angeboten.

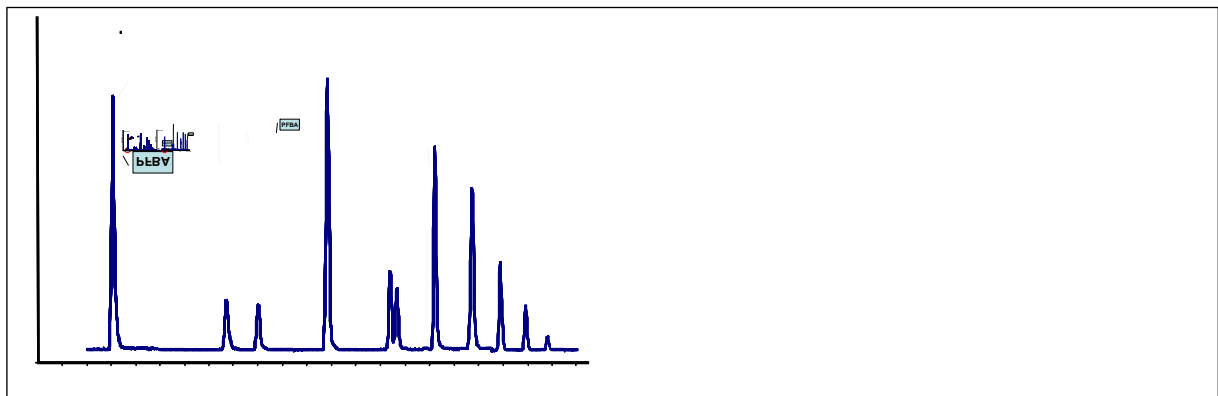
In Tabelle 4 sind einige Lieferanten für Referenzsubstanzen und Lösungen angegeben.

Tabelle 4 – Lieferanten von Referenzsubstanzen und Lösungen

| Produkte | Lieferanten |
|--|----------------------|
| Referenzsubstanzen, Gebinde von 5 ml – 5 g, Gehalt 97-99 % | 1 |
| Lösungen der Referenzsubstanzen (unverzweigt) in Methanol, z. B. $\rho_i = 50 \mu\text{g/ml}$ | 2, teilw. 3, 4, 5, 6 |
| Mischungen von PFC in Methanol (Stammlösung), z. B. $\rho_i = 5 \mu\text{g/ml}$ | 2, 3, 5, 6 |
| Isotopenmarkierte Standardsubstanzen, Lösungen in Methanol, z. B. $\rho_i = 50 \mu\text{g/ml}$ | 2, 3, 5 |
| 1 – Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Eschenstraße 5, 82024 Taufkirchen bei München 2 – Wellington Laboratories, Ontario, Canada 3 – Chiron AS, Trondheim, Norway 4 – LGC Standards GmbH, Mercatorstraße 51, 46485 Wesel 5 – Campro Scientific GmbH, Darser Str. 2A, 14167 Berlin 6 – Neochemia, Am Kümmerling 37a, Bodenheim / Mainz, Germany | |

5.5 HPLC-Säulen und chromatographische Bedingungen

Zu bevorzugen sind HPLC-Säulen mit polar modifizierten RP-Materialien. Die zusätzlichen polaren Wechselwirkungen dieser Phasen ergeben meist höhere Retentionszeiten für PFBA. Hierdurch kann der Volumenanteil an Methanol bei den Anfangsbedingungen der Gradientenelution höher gewählt werden als bei klassischen hydrophoben RP-Phasen (Bild 3). Entsprechend höher kann auch der Volumenanteil an Methanol in der Messlösung sein, ohne dass zusätzliche Peakverbreiterung auftritt. Durch den höheren Anteil an Methanol können Störungen durch Adsorption verringert werden.



| | |
|--|---|
| Zorbax Eclipse XDB-C18, 3,5 μm , 100 x 2 mm | Synergi Fusion-RP, 2,5 μm , 100 x 2 mm |
|--|---|

Bild 3 – Retention von PFBA an verschiedenen HPLC-Phasen

Bei beiden Säulen gleiche chromatographische Bedingungen:
 Eluent A: 5 mmol Ammoniumacetat in Wasser // Eluent B: 0,05 % Essigsäure in Methanol
 Gradient: 35 % B nach 95 % B in 20 min, linear

Eine vollständige Trennung der Substanzen ist nicht unbedingt notwendig, da sich die Massenübergänge ausreichend voneinander unterscheiden. In der Praxis werden die Verbindungen trotzdem meistens weitgehend voneinander getrennt, was ohne zusätzlichen Aufwand möglich ist. Schwieriger ist nur die Trennung zwischen PFNA und PFOS.

Die höchsten Responsewerte werden unter sauren Bedingungen, z.B. mit Essigsäure erhalten (Bild 4). Dieser Vorteil ist jedoch häufig nicht nutzbar, da durch zusätzliche Peakverbreiterung die gewonnene Empfindlichkeit verloren geht (Bild 5).

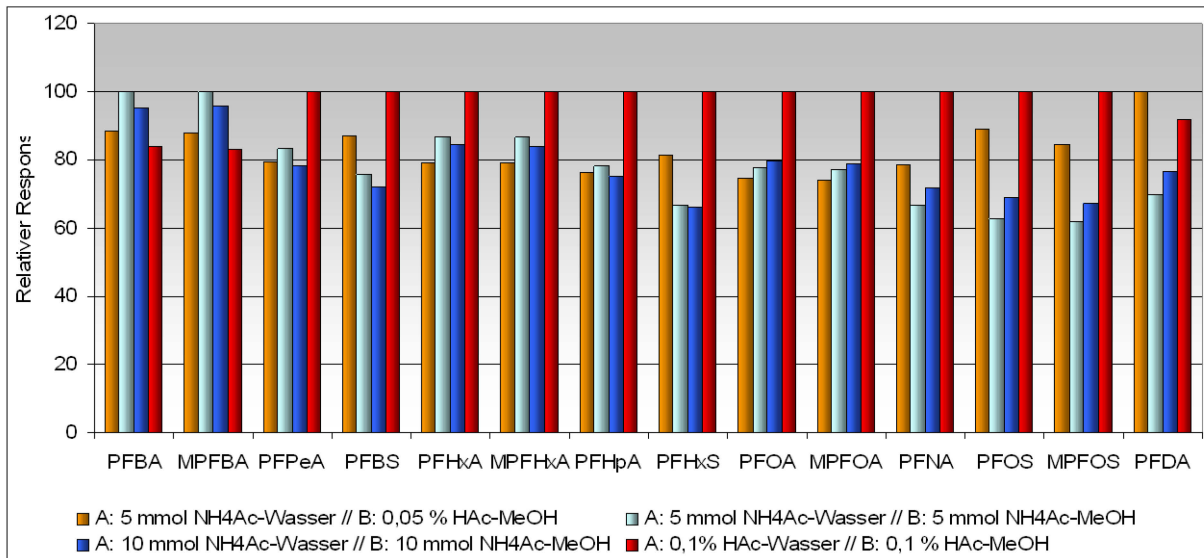


Bild 4 – Relativer Response bei verschiedenen Eluenten

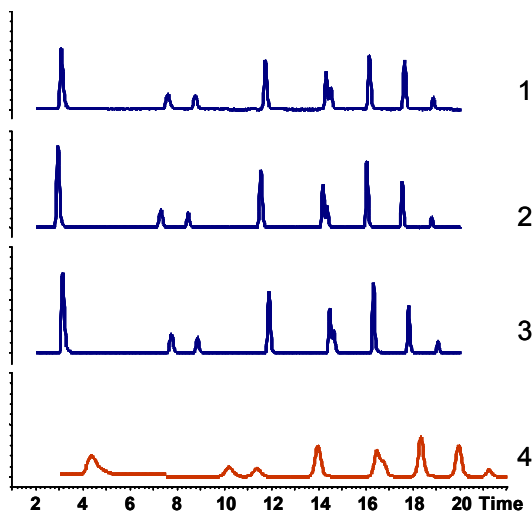


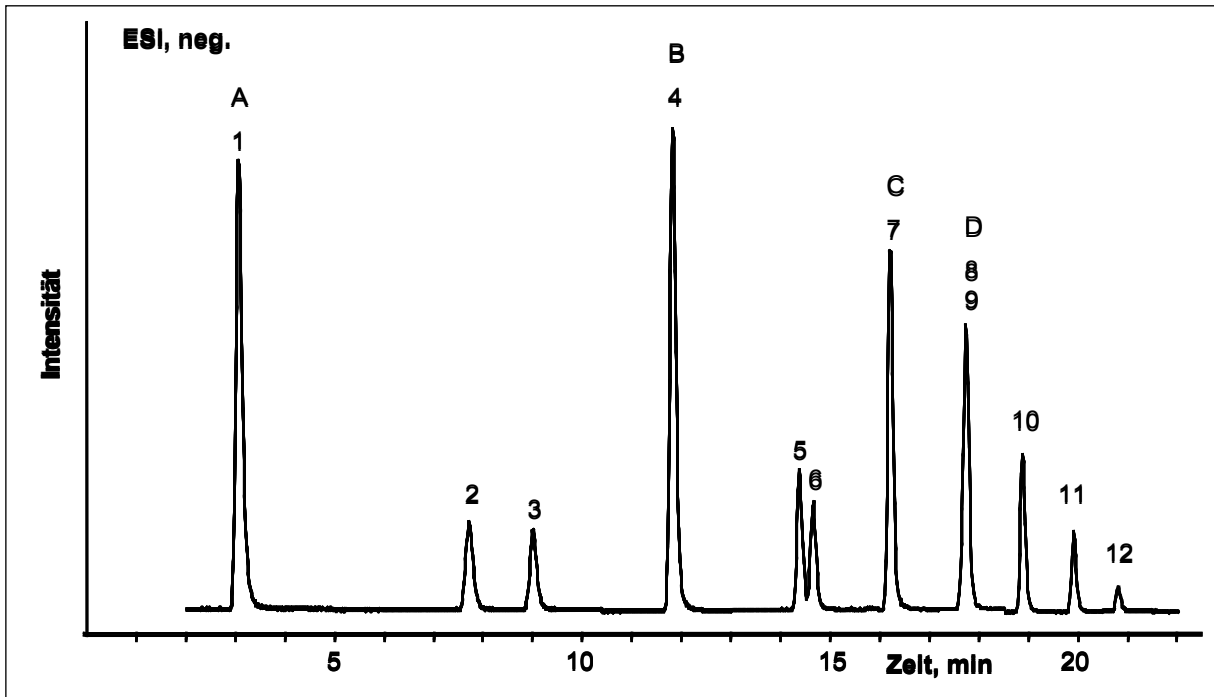
Bild 5 – Einfluss verschiedener Eluente auf die Chromatographie

- 1) A: 5 mmol NH₄Ac-Wasser // B: 0,05 % HAC-MeOH
- 2) A: 5 mmol NH₄Ac-Wasser // B: 5 mmol NH₄Ac-MeOH
- 3) A: 10 mmol NH₄Ac-Wasser // B: 10 mM NH₄Ac-MeOH
- 4) A: 0,1 % HAC-Wasser // B: 0,1 % HAC-MeOH

Bei allen Eluenten, Gradient: 35% B nach 95% B in 20 min, linear

Üblicherweise werden mit Wasser und Methanol in Gegenwart von Ammoniumacetat und gegebenenfalls Essigsäure optimale Bedingungen für Chromatographie und Detektion erhalten. Ein Einfluss der Pufferkonzentration auf eine mögliche Ionensuppression konnte dabei nicht nachgewiesen werden.

Die Bilder 6 - 10 geben Beispiele für chromatographische Bedingungen.

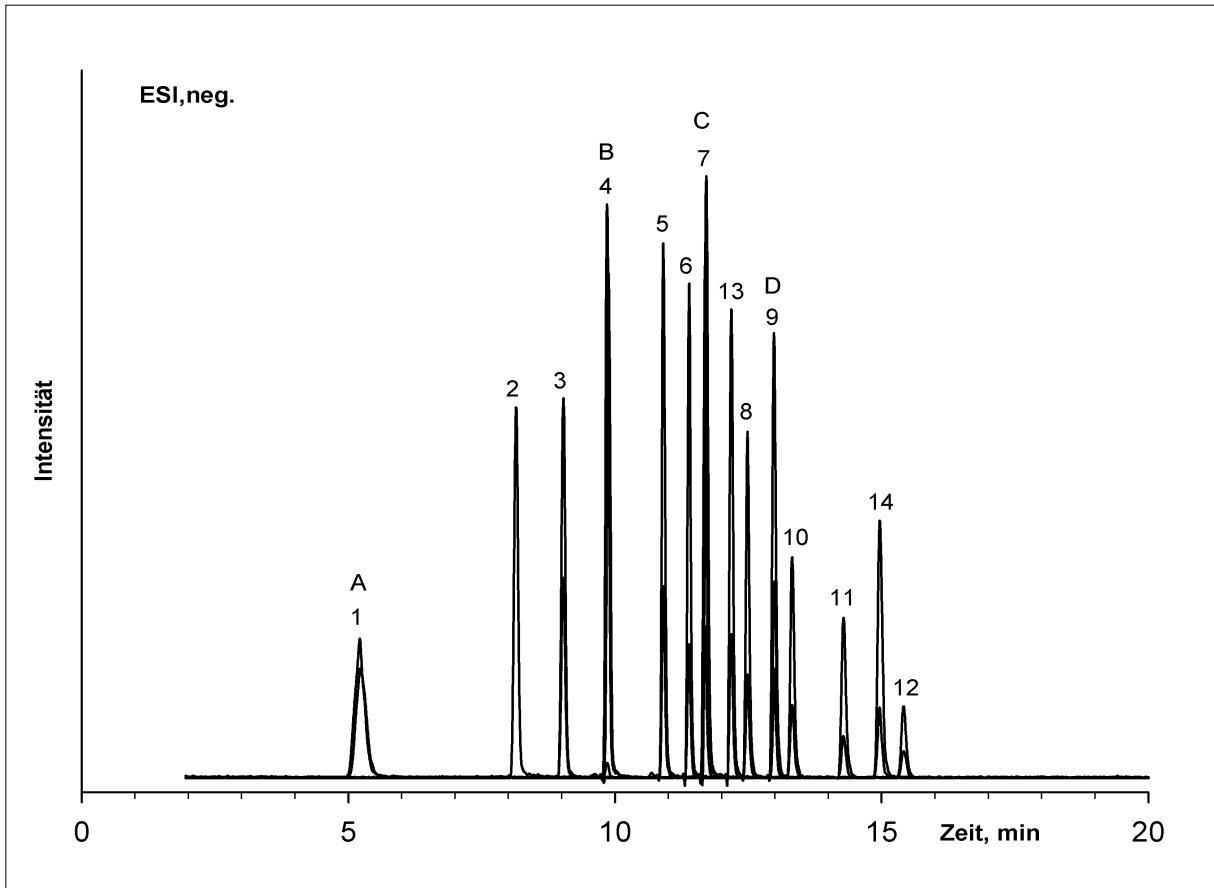


Trennsäule: Zorbax Eclipse XDB-C18, 3,5 μm , 100 mm x 2 mm, mit Vorsäule Synergi Fusion-RP, 4 μm , 4 mm x 2 mm
 Injektion: 20 μl PFC-Standard, $\rho_i = 1 \text{ ng/ml}$
 Mobile Phase: A: 5 mmol Ammoniumacetat in Wasser
 B: 0,05 % Essigsäure in Methanol
 Gradient: 35 % B nach 95 % B in 20 min, linear
 Durchfluss: 0,25 ml/min
 Säulentemperatur: 40 °C
 Druck: 115 bar bei Anfangsbedingungen

Peak-Nummer:

1 PFBA, 2 PFPeA, 3 PFBS, 4 PFHxA, 5 PFHpA, 6 PFHxS, 7 PFOA, 8 PFNA, 9 PFOS, 10 PFDA
 A $^{13}\text{C}_4$ PFBA, B $^{13}\text{C}_2$ PFHxA, C $^{13}\text{C}_4$ PFOA, D $^{13}\text{C}_4$ PFOS
 Zusätzlich im Chromatogramm: 11 Perfluorundecansäure (PFUnA), 12 Perfluordodecansäure (PFDoA)

Bild 6 – Chromatographische Trennung, Beispiel 1

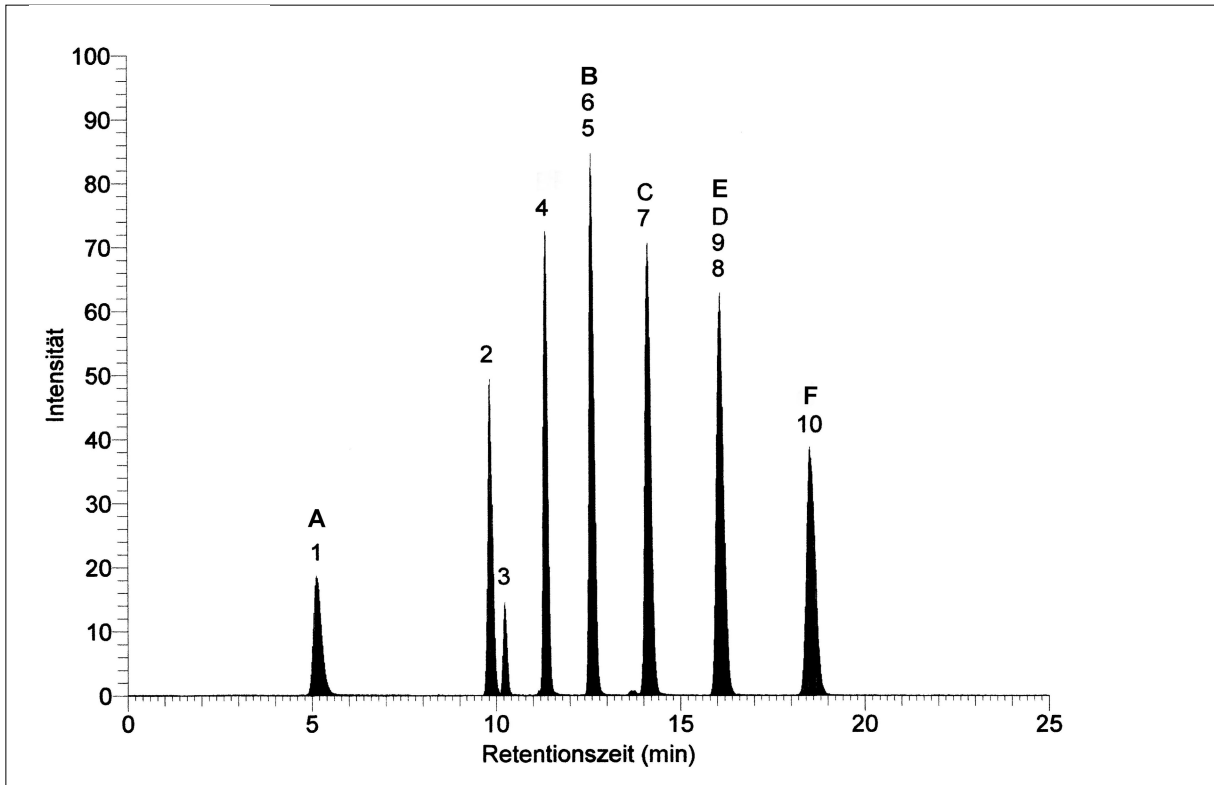


Trennsäule: Nucleodur C₁₈ Pyramid, 3 µm, 125 mm x 2 mm, mit Vorsäule Synergi Max-RP, 4 µm, 4 mm x 2 mm
 Injektion: 10 µl PFC-Standard, $\rho_i = 10$ ng/ml
 Mobile Phase: A: 10 mmol Ammoniumacetat in Wasser-Methanol 75:25
 B: 10 mmol Ammoniumacetat in Acetonitril-Methanol 75:25
 Gradient: 0 % B nach 30 % B in 5 min, linear
 30 % B nach 55 % B in 8 min, linear
 55 % B nach 80 % B in 19 min, linear
 Durchfluss: 0,3 ml/min
 Säulentemperatur: 50 °C
 Druck: 175 bar, bei Anfangsbedingungen

Peak-Nummer:

Siehe Bild 6, zusätzlich im Chromatogramm 13 Perfluorheptansulfonsäure (PFHpS), 14 Perfluordecansulfonsäure (PFDS)

Bild 7 – Chromatographische Trennung, Beispiel 2



Trennsäule: Synergi Fusion-RP, 4 μm , 100 mm x 2 mm,
mit Vorsäule Synergi Fusion, 4 μm , 4 mm x 2 mm

Injektion: 20 μl PFC-Standard, $\rho_i = 100 \text{ ng/ml}$

Mobile Phase: A: 2 mmol Ammoniumacetat, 0,1 % Essigsäure in Methanol,
B: 2 mmol Ammoniumacetat, 0,1 % Essigsäure in Wasser/Methanol (90/10)

Gradient: 0 min 25 % A
4 min 25 % A
7 min 60 % A
20 min 70 % A
20,5 min 30 % A
25 min 30 % A

Durchfluss: 0,2 ml/min

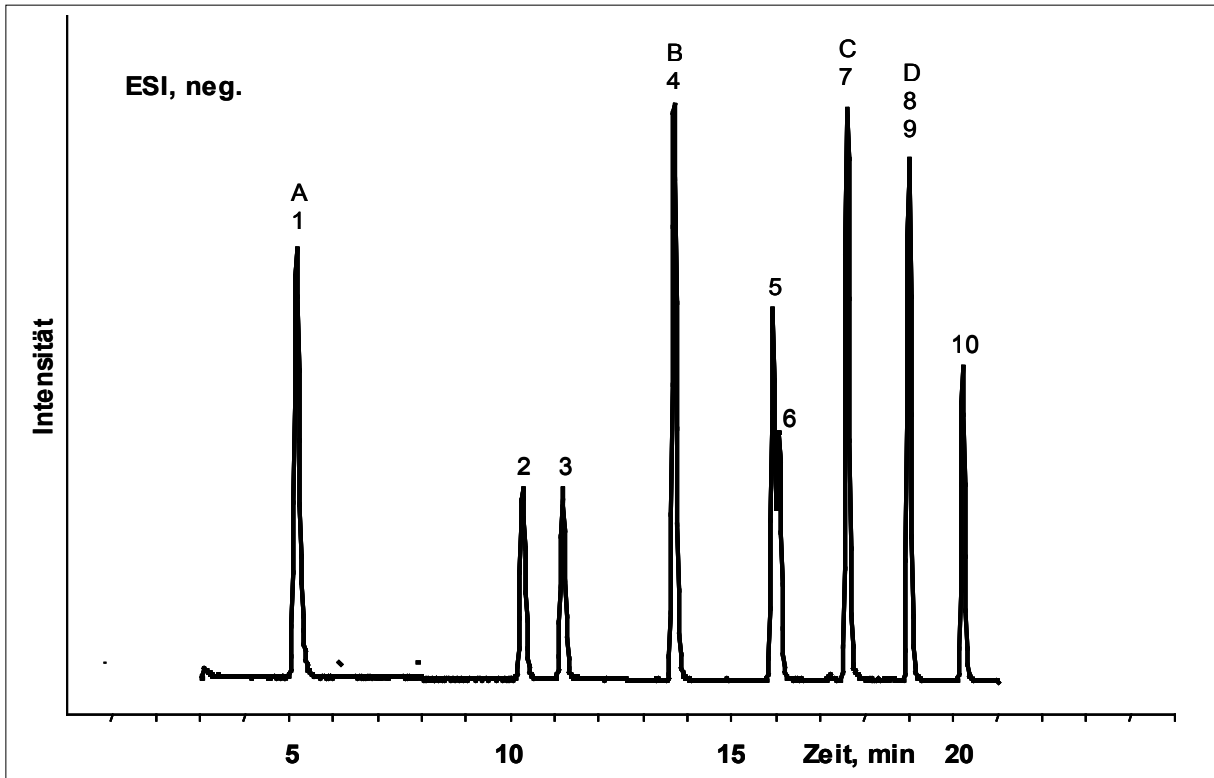
Säulentemperatur: 50 °C

Druck: 55 bar bei Anfangsbedingungen

Peak-Nummer:

Siehe Bild 6, zusätzlich im Chromatogramm E $^{13}\text{C}_5$ PFNA, F $^{13}\text{C}_2$ PFDA

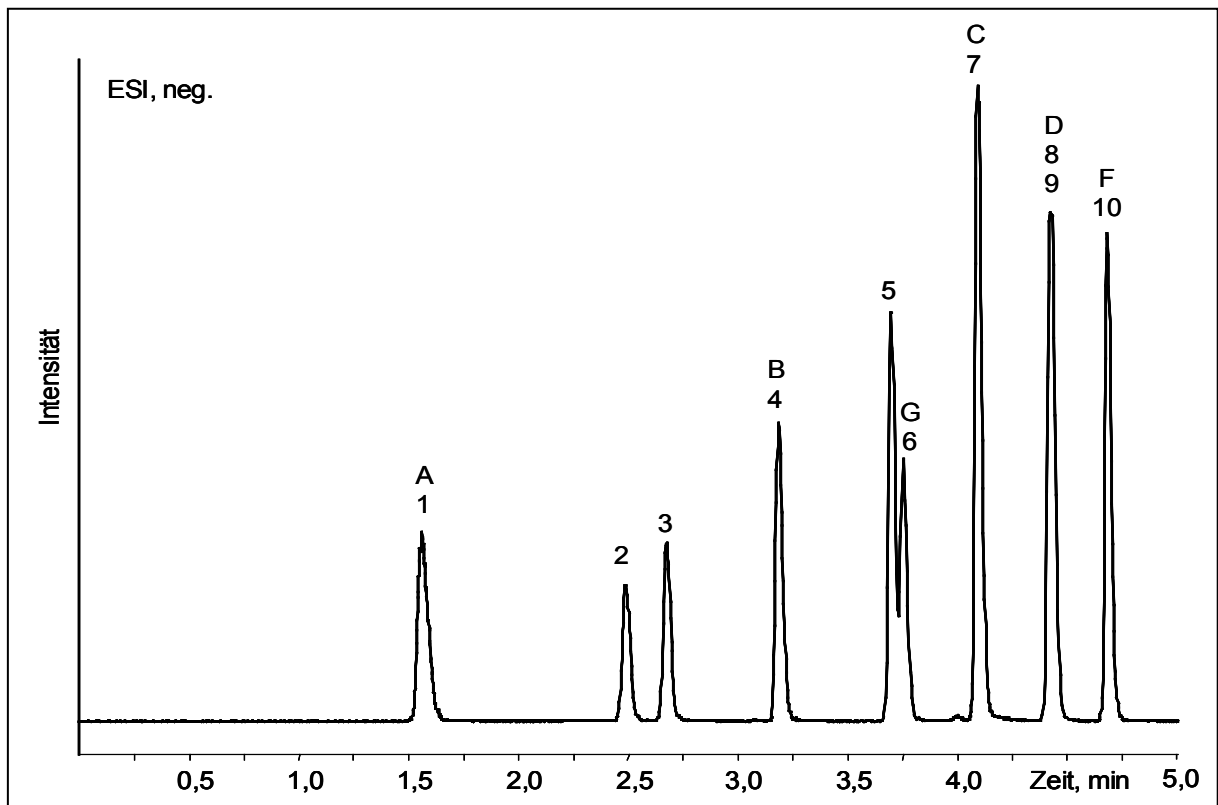
Bild 8 – Chromatographische Trennung, Beispiel 3



Trennsäule: Synergi Fusion-RP, 2,5 μm , 100 mm x 2 mm,
mit Vorsäule Synergi Fusion-RP, 4 μm , 4 mm x 2 mm
Injektion: 20 μl PFC-Standard, $\rho_i = 1 \text{ ng/ml}$
Mobile Phase: A: 5 mmol Ammoniumacetat in Wasser
B: 0,05 % Essigsäure in Methanol
Gradient: 35 % B nach 95 % B in 20 min, linear
Durchfluss: 0,25 ml/min
Säulentemperatur: 40 °C
Druck: 202 bar bei Anfangsbedingungen

Peak-Nummer:
Siehe Bild 6

Bild 9 – Chromatographische Trennung, Beispiel 4



Trennsäule: Aquity UPLC-BEH-Shield RP18, 1,7 μm , 100 mm x 2,1 mm
 Injektion: 20 μl PFC-Standard, $\rho_i = 10 \text{ ng/ml}$
 Mobile Phase: A: 2 mmol Ammoniumacetat in Wasser
 B: 2 mmol Ammoniumacetat in Methanol
 Gradient: 0 - 0,5 min 30 % B
 0,5 - 5 min 30 % B nach 90 % B , linear
 Durchfluss: 0,5 ml/min
 Säulentemperatur: 50 °C
 Druck: 720 bar bei Anfangsbedingungen

Peak-Nummer:

Siehe Bild 6, zusätzlich im Chromatogramm F $^{13}\text{C}_2$ PFDA, G $^{18}\text{O}_2$ PFHxS

Bild 10 – Chromatographische Trennung, Beispiel 5

5.6 Massenspektrometer

Bei der Validierung des Analysenverfahrens kamen folgende Massenspektrometer zum Einsatz:

API 2000, 3000, 3200 QTrap, 4000, 4000 QTrap; Firma AB SCIEX Germany GmbH
 Quattro Micro, TQD, XEVO TQ; Firma Waters GmbH
 Agilent 6410, Varian 1200L; Firma Agilent Technologies Deutschland GmbH
 Quantum Access, Quantum Ultra TSQ; Firma Thermo Fisher Scientific
 Ionics EP10+; Firma ionics Mass Spectrometry Group, Canada

6 Durchführung

6.1 Probenvorbereitung

6.1.1 Trocknung

Proben mit höherem Wassergehalt, z.B. Klärschlamm und Gewässersediment, sind vorzugsweise durch Gefrietrocknung zu trocknen. Alternativ hierzu kann die Trocknung auch bei 40 °C erfolgen, obgleich dies mit einem wesentlich höheren Zeitaufwand verbunden ist. Hinweise, wonach bei Trocknung von Klärschlämmen durch Zuführung von Wärme, besonders bei höheren Temperaturen, Verluste bei PFOS bis zu 40 % auftreten können, konnten nicht bestätigt werden. Die Versuche wurden durchgeführt mit verschiedenen Klärschlämmen, wobei teilweise Rückstellproben aus länderübergreifenden Ringversuchen verwendet wurden (Bild 11).

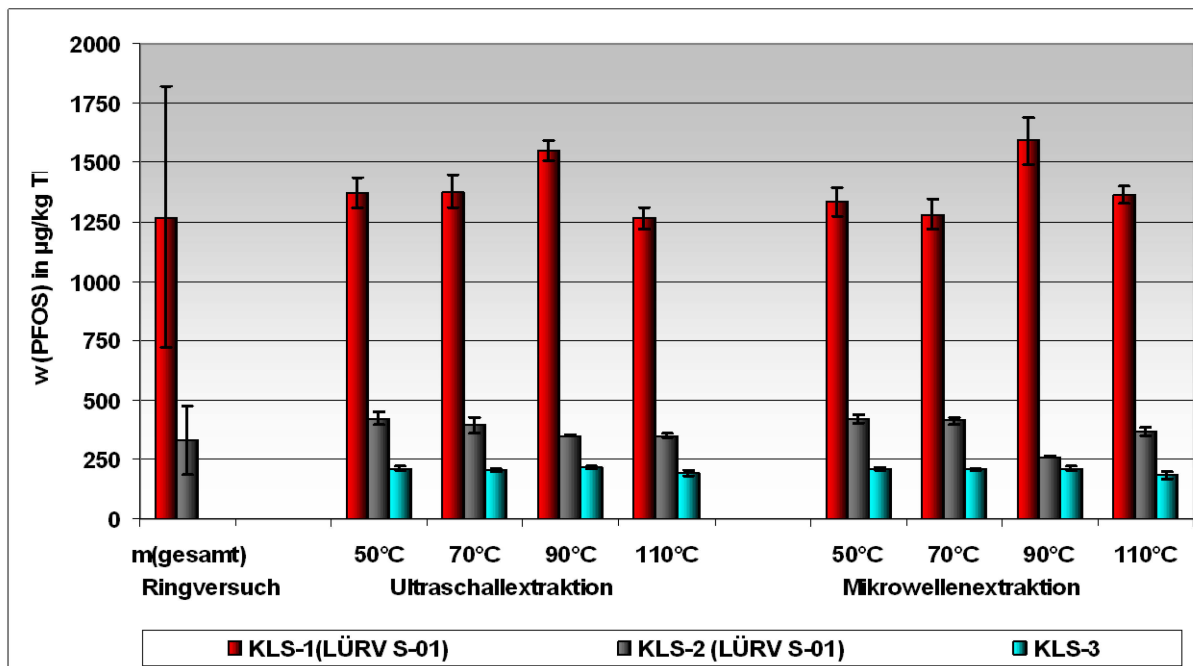


Bild 11 – Extraktionsausbeute bei Trocknung von Klärschlämmen in Abhängigkeit von der Temperatur und dem Extraktionsverfahren

Alle Versuche mit 4 parallelen Ansätzen

Wassergehalte des Originalschlammes: KLS-1 w = 83 %, KLS-2 w = 83 %, KLS-3 w = 70 %

Arbeitsbedingungen:

Trocknung: 20-35 g Probe offen in einer Glasschale 24 Stunden im Trockenschrank (50 °C – 110 °C) trocknen, in Kugelmühle zerkleinern und auf 250 µm sieben.

Ultraschallextraktion: 0,5 g, 10 ml Methanol, 40 °C, gelegentliches Schütteln

Mikrowellenextraktion: 0,5 g, 10 ml Methanol, Rührfunktion eingeschaltet (Stufe 2), 10 min lineares Aufheizen auf 100 °C, 20 min Extraktion bei 100 °C

Die gute Übereinstimmung der Extraktionsausbeuten zwischen der recht milden Ultraschallextraktion und der energiereichen Mikrowellenextraktion zeigt darüber hinaus, dass die Trocknung der Schlämme bei höheren Temperaturen sich nicht nachteilig auf die Extrahierbarkeit von PFOS auswirkt.

6.1.2 Homogenisierung

Zur weiteren Homogenisierung ist es erforderlich, die trockene Probe mit einer Analysenmühle so weit zu zerkleinern, dass 95 % des Mahlgutes ein Sieb der Maschenweite von 250 µm passieren können. Unter diesen Bedingungen werden homogene Prüfproben erhalten, aus denen repräsentative Teilproben für die Analytik entnommen werden können (Bild 12).

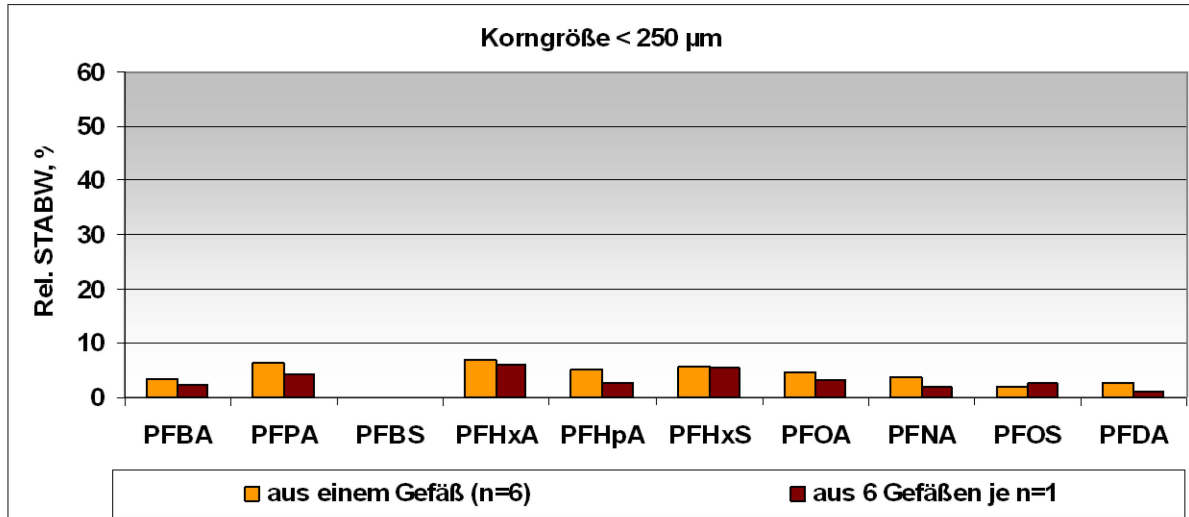


Bild 12 – Homogenität der Prüfprobe bei Korngrößen < 250 µm

Kontaminierte Bodenprobe, mittlere Massenanteile in µg/kg TM (im Batch): PFBA (32), PFPeA (24), PFHxA (71), PFHpA (148), PFHxS (11), PFOA (2800), PFNA (11), PFOS (6800), PFDA (41).

Die Aufarbeitung der gleichen Probe gem. BBodSchV ergab bei der Analyse zwischen einzelnen Gebinden Standardabweichungen bis zu 50 %.

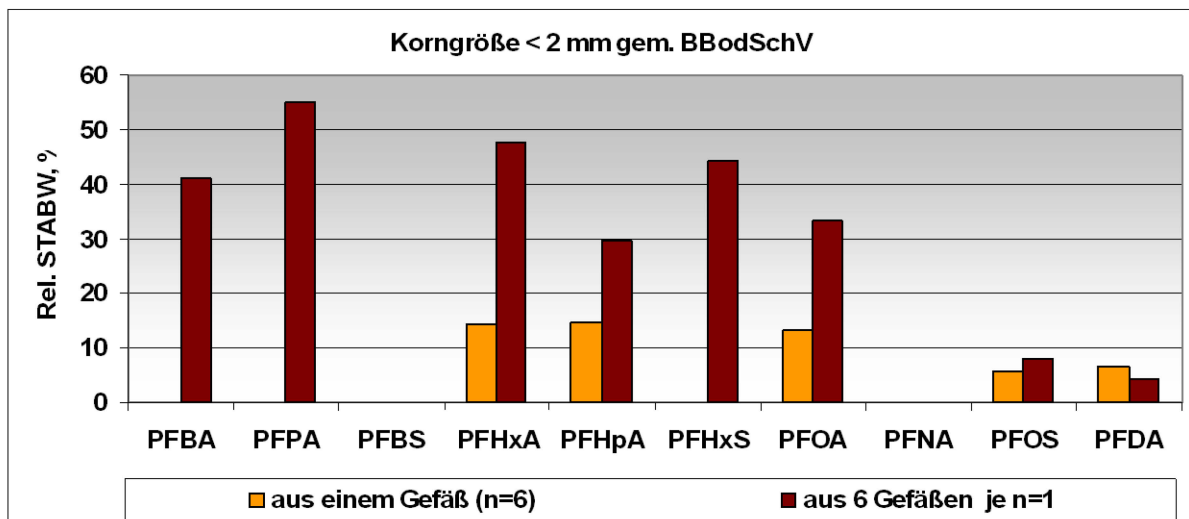


Bild 13 – Homogenität der Prüfprobe bei Korngrößen < 2 mm

Probe siehe Legende zu Bild 12

ANMERKUNG Die Untersuchungen zur Homogenität wurden im Rahmen der Vorbereitungen zum Länderübergreifenden Ringversuch LÜBRV-S 01 - PFT in Boden - im März 2009 durchgeführt.

6.2 Extraktion

Zur Abschätzung der Extraktionsausbeuten des Verfahrens wurden eine belastete Klärschlamm- und eine kontaminierte Bodenprobe über 72 h mit Methanol im Soxhlet extrahiert. Bei den Proben handelte es sich um Rückstellproben aus länderübergreifenden Ringversuchen. Die nach Soxhletextraktion ermittelten Massenanteile für die einzelnen PFC wurden als maximal extrahierbare Stoffmengen angenommen und die mit den verschiedenen Extraktionsmitteln und -verfahren ermittelten Werte relativ hierauf bezogen. Dargestellt sind jeweils die Mittelwerte aus 3 parallelen Analysen mit Standardabweichung (Bilder 14 und 15). Zu Vergleichszwecken sind die Gesamtmittelwerte und die Vergleichsstandardabweichungen, die für diese Proben in den Ringversuchen ermittelt wurden, dargestellt.

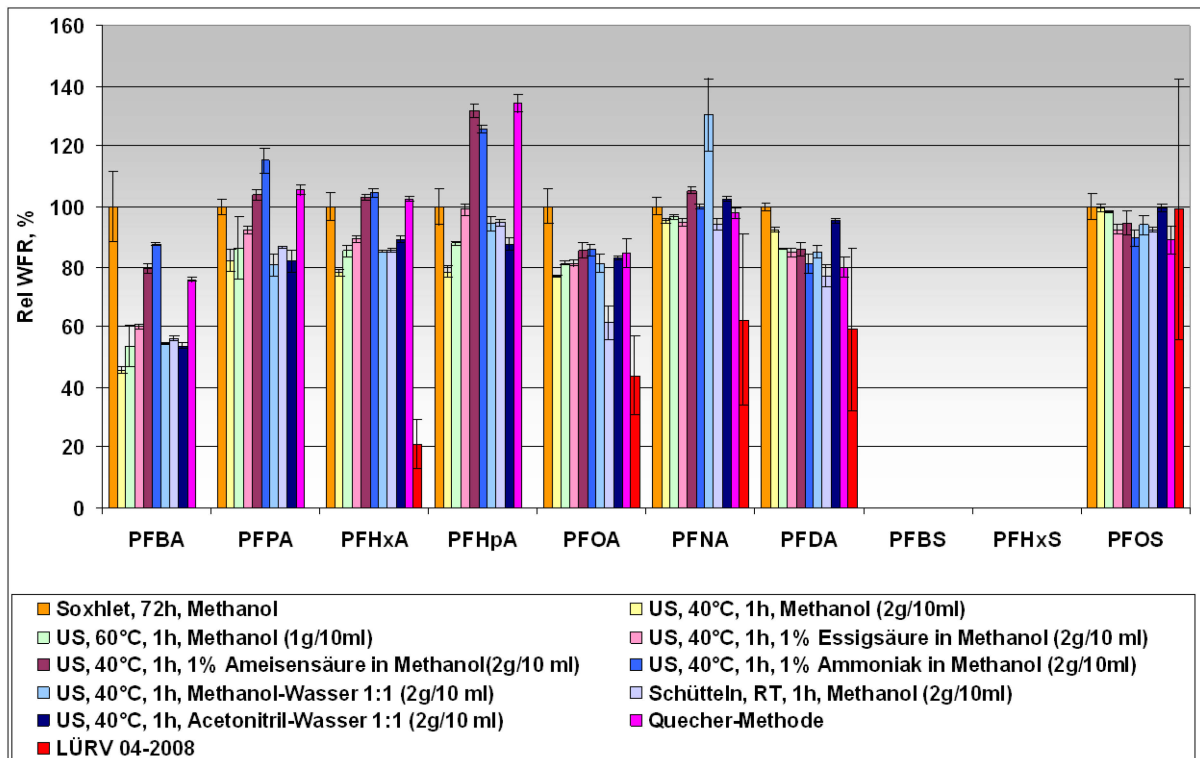


Bild 14 – PFC-Ausbeuten mit verschiedenen Extraktionsmitteln und -methoden am Beispiel einer Klärschlammprobe

Gesamtmittelwerte des LÜR V 04-2008, alle Massenanteile in $\mu\text{g}/\text{kg m}_T$: PFBA (56), PFPA (22), PFHxA (83), PFHpA (30), PFOA (490), PFNA (83), PFDA (810), PFBS (<10), PFHxS (<10), PFOS (340)

Bilder 14 und 15 zeigen, dass die Ausbeuten der Soxhlet-Extraktion mit dem Verfahren der Ultraschallextraktion meist nicht erreicht werden. Dies wird besonders deutlich bei den Carboxylaten in der Bodenprobe (Bild 15). Weitgehend unabhängig vom Extraktionsmittel und den Bedingungen werden z. B. bei PFBA nur 60 % der Ausbeute der Soxhlet-Extraktion erzielt. Mit zunehmender Kettenlänge fällt die Wiederfindungsrate etwas günstiger aus und erreicht mit Methanol als Extraktionsmittel für PFOA etwa 80 %. Die Wiederfindungsraten der Schüttelextraktion und der Quecher-Methode liegen bei der Bodenprobe meist niedriger als die der Ultraschallextraktion.

Im Vergleich etwas günstiger fallen die Ergebnisse für die Klärschlammprobe aus. Für PFOS wird bei beiden Proben weitgehend unabhängig von den Extraktionsbedingungen eine gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Soxhlet-Extraktion erzielt.

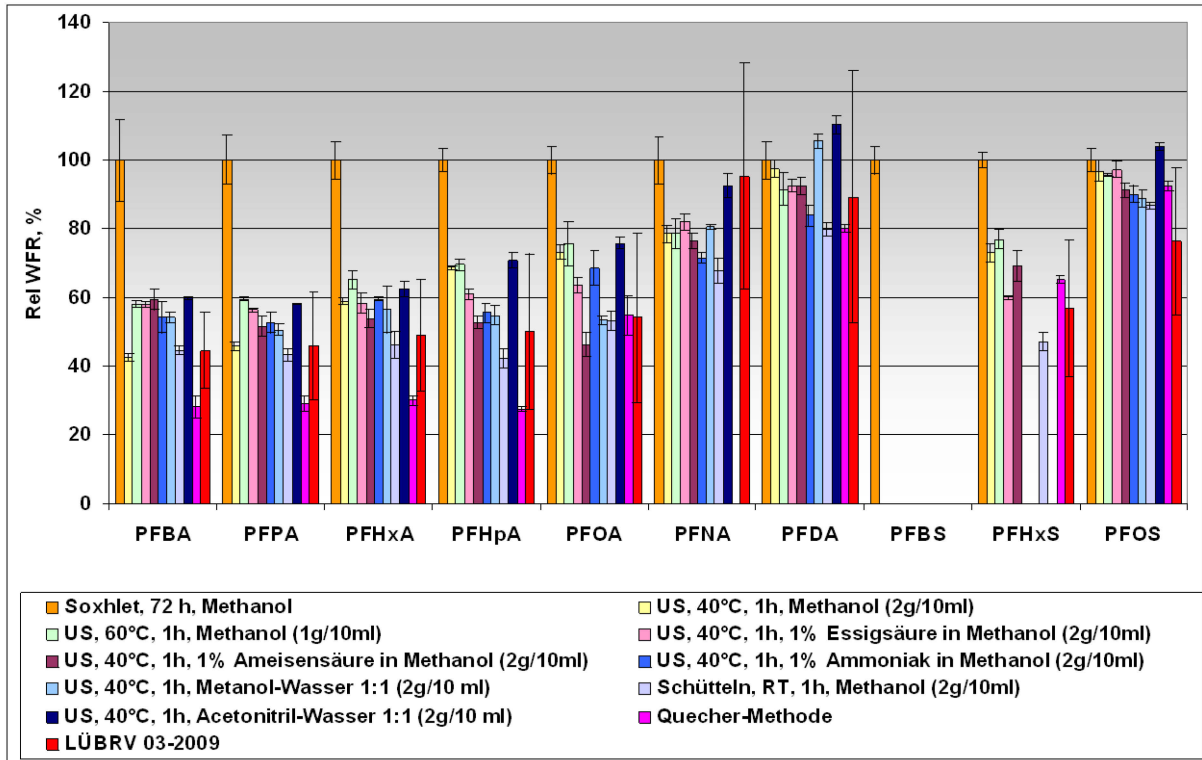


Bild 15 – PFC-Ausbeuten mit verschiedenen Extraktionsmitteln und -methoden am Beispiel einer Bodenprobe

Gesamtmittelwerte des LÜBRV 03-2009, alle Massenanteile in $\mu\text{g}/\text{kg m}_T$: PFBA (72), PFPA (52), PFHxA (120), PFHpA (240), PFOA (3500), PFNA (14), PFDA (40), PFBS (<10), PFHxS (20), PFOS (6020)

Auch durch mehrstufige, ultraschallunterstützte Extraktion mit Methanol können die Wiederfindungsraten bei den kurzkettigen Caboxylaten nicht wesentlich erhöht werden (Bild 16). Andererseits nimmt der Aufwand für die Durchführung der Extraktion deutlich zu und das Volumen des Extraktes, gegebenenfalls nach Aufkonzentrierung, muss zusätzlich ermittelt werden, womit weitere Arbeitsschritte hinzukommen.

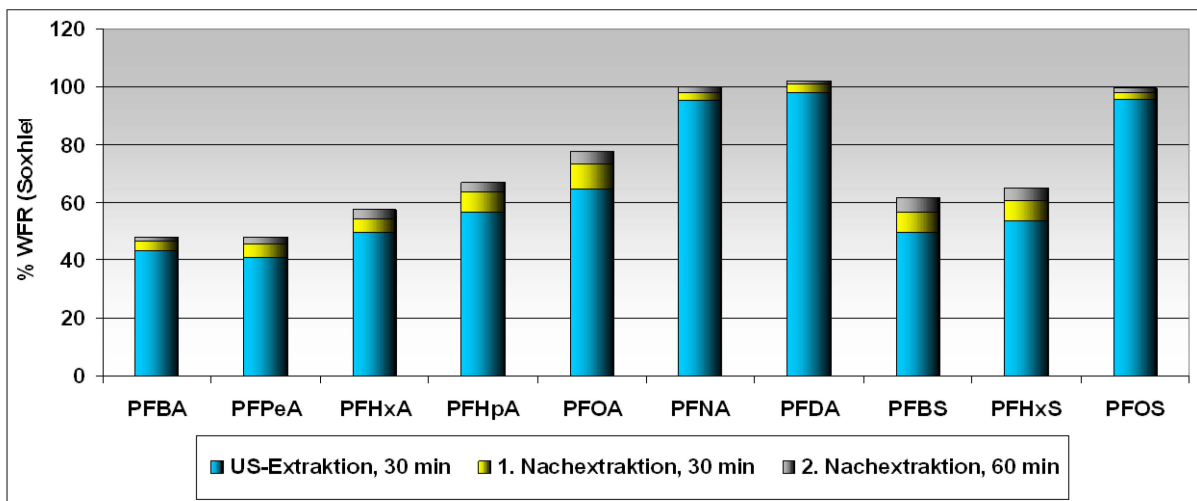


Bild 16 – Extraktionsausbeuten bei mehrstufiger Ultraschallextraktion mit Methanol

Bodenprobe: LÜBRV 03-2009

Die Untersuchungen wurden unabhängig von einem anderen Labor durchgeführt und beziehen sich in diesem Fall auf eine 12-stündige Soxhletextraktion, die mit den Werten der 72-stündigen Extraktion (Legende zu Bild 15) gut übereinstimmt.

Im Vergleich zur Ultraschallextraktion höhere Extraktionsausbeuten, besonders bei den kurzkettigen Carboxylaten, werden bei Anwendung der Mikrowellenextraktion erzielt (Bild 17). Voraussetzung hierfür ist, dass die Probe während der Extraktion gerührt wird, was bei den meisten Geräten standardmäßig jedoch nicht möglich ist. Wegen des relativ geringen Verbreitungsgrades solcher Geräte wurde diese Extraktionstechnik im Arbeitskreis nicht weiter verfolgt.

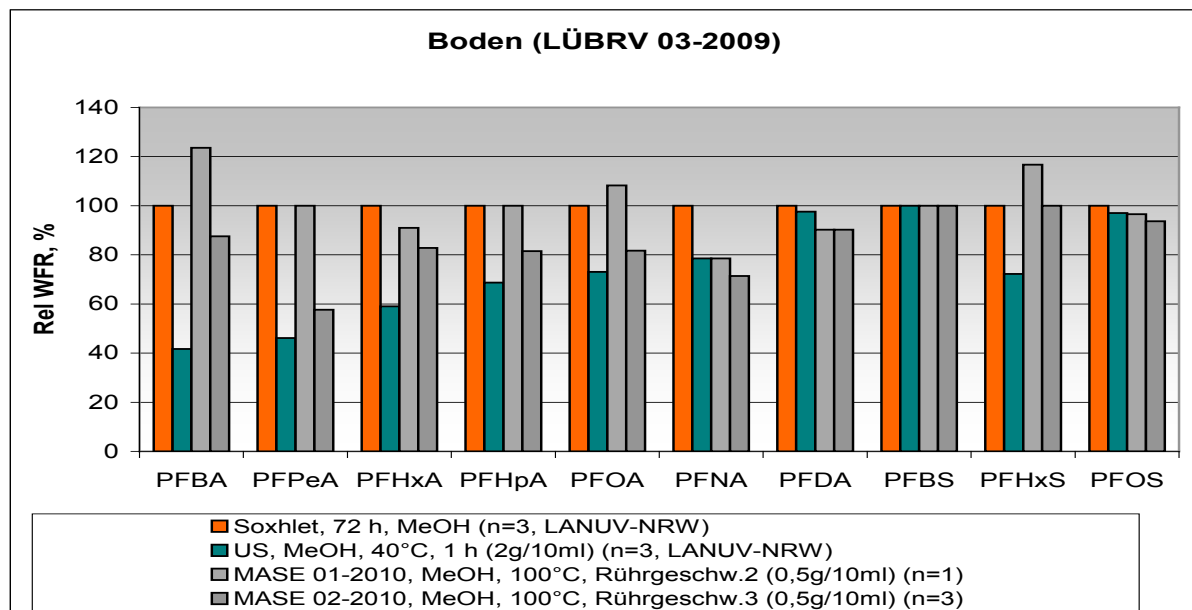


Bild 17 – Relative Extraktionsausbeuten bei Mikrowellenextraktion

Aus praktischen Gründen wurde an der einfachen Ultraschallextraktion mit Methanol bei 40 °C festgehalten, die dabei auftretenden Minderbefunde bei den kurzkettigen PFC, besonders bei der Extraktion von Boden, wurden in Kauf genommen. Die Wiederfindungsraten für PFOA sind mit etwa 80 % akzeptabel, und für PFOS kann von einer quantitativen Extraktion ausgegangen werden.

6.3 Reinigung von Extrakten

Nach der Norm können farblose und klare Extrakte ohne weitere Reinigung analysiert werden. Hierzu ist ein Teilvolumen des Extraktes mit Wasser zu verdünnen, wobei der Anteil an Methanol nicht unter 40 % liegen darf (siehe Abschnitt 4). Fallen die Wiederfindungsraten der internen Standards bei der direkten Analyse zu gering aus, muss der Extrakt gereinigt werden. Um Störungen zu vermeiden, sollte die Reinigung grundsätzlich dann erfolgen, wenn farbige oder trübe Extrakte vorliegen. Dies ist meistens bei Klärschlamm, Kompost und Gewässersediment der Fall.

Die Reinigung erfolgt durch Festphasenextraktion unter Verwendung eines schwachen Anionenaustauschers auf Polymerbasis, der sauer konditioniert und mit einem sauer gestellten Extrakt beladen wird. Bei einer Sorbensmasse von 60 mg und einem Volumenanteil des Extraktes von 50 % darf das Probevolumen bis zu 2 ml betragen. Die Waschlösungen und deren Volumina entsprechen dem Extraktionsverfahren nach DIN 38407-42. Tabelle 5 zeigt, dass unter diesen Bedingungen selbst bei hochdotierten, matrixreichen Proben der Durchbruch der Analyten bei den Waschschrritten vernachlässigbar ausfällt.

Tabelle 5 – Durchbruch von PFC bei der Reinigung matrixreicher Proben

| PFC | Durchbruch (%) bezogen auf die Dotierung | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------|--|------|------|------|---------------|------|------|------|------------|------|------|------|-------------------------|------|------|------|----------------------|------|------|------|
| | Boden-1, RV | | | | Hafensediment | | | | Maissilage | | | | Klärschlamm industriell | | | | Klärschlamm kommunal | | | |
| Ablauf | P | W1 | W2 | W3 | P | W1 | W2 | W3 | P | W1 | W2 | W3 | P | W1 | W2 | W3 | P | W1 | W2 | W3 |
| PFBA | <1 | <1 | 2,9 | <1 | <1 | <1 | 2,9 | <1 | <1 | <1 | 2,6 | <1 | <1 | <1 | 3,4 | <1 | <1 | <1 | 2,5 | <1 |
| PFPeA | n.n. | n.n. | 1,5 | n.n. | n.n. | n.n. | 1,5 | n.n. | n.n. | n.n. | 1,3 | n.n. | n.n. | n.n. | 1,7 | n.n. | n.n. | n.n. | 1,3 | n.n. |
| PFHxA | <1 | <1 | 1,7 | <1 | <1 | <1 | 1,7 | <1 | <1 | <1 | 1,6 | <1 | <1 | <1 | 2,1 | <1 | <1 | <1 | 1,9 | <1 |
| PFHpA | n.n. | n.n. | 1,5 | n.n. | n.n. | n.n. | 1,5 | n.n. | n.n. | n.n. | 1,6 | n.n. | n.n. | n.n. | 2,6 | n.n. | n.n. | n.n. | 2,1 | n.n. |
| PFOA | <1 | <1 | <1 | <1 | <1 | <1 | <1 | <1 | <1 | <1 | <1 | <1 | <1 | <1 | 2,4 | <1 | <1 | <1 | 2,6 | <1 |
| PFNA | n.n. | n.n. | 1,3 | n.n. | n.n. | n.n. | 1,3 | n.n. | n.n. | n.n. | 2,8 | n.n. | n.n. | n.n. | 3,6 | n.n. | n.n. | n.n. | 3,5 | n.n. |
| PFDA | <1 | <1 | 1,2 | <1 | <1 | <1 | 1,2 | <1 | <1 | <1 | 2,9 | <1 | <1 | <1 | 4,4 | <1 | <1 | <1 | 4,1 | <1 |
| PFBS | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. |
| PFHxS | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. |
| PFOS | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. |

Probenvorbereitung: Von der gefriergetrockneten, homogenisierten Feststoffprobe 2 g mit 10 ml Methanol 1 Stunde im Ultraschallbad bei 40 °C extrahieren. Von dem Extrakt 1 ml abnehmen und den Extrakt mit 20 µl PFC-Standardlösung in Methanol ($\rho_i = 25 \mu\text{g/ml}$) dotieren (Matrixanteil 0,2 g). Die Massenkonzentration im Extrakt beträgt 0,5 µg/ml, der Massenanteil an PFC 2,5 mg/kg m_T (ohne Berücksichtigung der Vorbelastung).

Sorbens: Phenomenex, Strata X-AW, 60 mg, 3 ml Kartusche

Konditionierung: 2 ml 0,1% Ameisensäure in Methanol; 2 ml Methanol; 2 ml Wasser

Probe (P): Methanol-Extrakt (1 ml) mit Wasser auf 2 ml aufgefüllt und mit Ameisensäure sauer gestellt (0,1%), Methanol-Wasser 1:1

Waschen: 2 ml Wasser (W1) ; 2 ml Aceton-Acetonitril-Ameisensäure 50:50:1 (W2) ; 2 ml Methanol (W3)

Aufarbeitung: Ablauf von der Probenaufgabe und Waschlösungen getrennt auffangen und jeweils 10 µl entnehmen und zu 1 ml ISTD-Lösung geben.

Alternativ zu dieser Arbeitsweise kann die Reinigung von Extrakten nach Verdünnung mit Wasser analog dem Extraktionsverfahren nach DIN 38407-42 erfolgen. Der Volumenanteil an Methanol darf bei einem Gesamtvolumen von 50 ml dabei 5 % nicht überschreiten. Hinsichtlich der Robustheit des Verfahrens wird auf das Validierungsdokument zu DIN 38407-42 verwiesen.

Die Eluate können ohne Verluste bei den Analyten zur Trockene eingengt werden. Bei den meisten Anwendungen erfolgte dieser Arbeitsschritt durch Abblasen des Lösemittels mit Stickstoff in temperierten Vorrichtungen, häufig bei 40 °C. Bei der Verwendung von Rotationsverdampfern traten in einigen Fällen erhebliche Blindwerte auf, die auf das in diesen Geräten üblicherweise verwendete Dichtungsmaterial zurückzuführen sind.

Bei der Aufnahme des trockenen Rückstandes können Verluste bei den Analyten durch Sorption entstehen, wenn der Volumenanteil an Methanol in der Aufnahmelösung zu gering ist (siehe 4).

Als unproblematisch erwies sich dagegen die Klarfiltration der Messlösung, bei der keine Verluste der Analyten nachweisbar waren.

6.4 Massenspektrometrische Messung

Die in Tabelle 6 angegebenen Massenübergänge für die zu bestimmenden Substanzen wurden mit Tandem-Massenspektrometern und Elektro-Spray-Ionisation (ESI) an Geräten verschiedener Hersteller ermittelt. Da geringe Abweichungen vorkommen können, sind die jeweils optimalen m/z -Werte möglichst unter den Bedingungen der Chromatographie zu ermitteln (vgl. Tabellen 9 - 13).

Tabelle 6 – Massenübergänge der zu bestimmenden Substanzen

| Substanz | ESI-Modus | Quantifizierung | | Absicherung |
|----------|-----------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | | Vorläufer-Ion m/z^a | 1. Produkt-Ion m/z | 2. Produkt-Ion m/z |
| PFBA | negativ | 213 | 169 | — |
| PFPeA | negativ | 263 | 219 | 119 |
| PFHxA | negativ | 313 | 269 | 119 |
| PFHpA | negativ | 363 | 319 | 169 |
| PFOA | negativ | 413 | 369 | 169 |
| PFNA | negativ | 463 | 419 | 219 |
| PFDA | negativ | 513 | 469 | 219 |
| PFBS | negativ | 299 | 80 | 99 |
| PFHxS | negativ | 399 | 80 | 99 |
| PFOS | negativ | 499 | 80 | 99 |

^a Masse zu Ladung

Tabelle 7 zeigt typische Fragmentierungen am Beispiel von PFOA und PFOS.

Tabelle 7 – Beispiel für Fragmentierungen

| Substanz | Vorläufer-Ion | 1. Produkt-Ion | 2. Produkt-Ion |
|----------|------------------|------------------|------------------|
| PFOA | m/z 412,97 | m/z 368,98 | m/z 168,99 |
| PFOS | m/z 498,93 | m/z 79,96 | m/z 98,96 |

Für PFBA wird nur ein Produkt-Ion erhalten und bei den Stoffen PFPeA und PFHxA ist die Intensität des 2. Produkt-Ions für eine Absicherung zu gering.

Bei der Untersuchung von Proben können Störungen einzelner Massenübergänge auftreten, die es erforderlich machen, das 2. Produkt-Ion zur Quantifizierung heranzuziehen. Diese Störungen treten gelegentlich bei der Untersuchung von behandeltem Abwasser auf.

Die Messung sollte so optimiert werden, dass jeder Peak mit mindestens 12 Datenpunkten registriert wird. Durch eine zu geringe Anzahl an Datenpunkten kann bei niedrigen Flächen- bzw. Höhenwerten die Reproduzierbarkeit beeinträchtigt werden. Je nach Rechenmethode

kann eine zu geringe Anzahl an Datenpunkten außerdem zu einem unverhältnismäßig hohen Verlust an Signalintensität führen [1].

Wenn mit Zeitfenstern gearbeitet wird, ist sicherzustellen, dass verzweigte Isomere der einzelnen Analyte erfasst werden. Die verzweigten Isomere eluieren meist unmittelbar vor der unverzweigten Verbindung und treten insbesondere bei den Verbindungen PFOA, PFHxS und PFOS auf. Bei PFOS werden mehrere verzweigte Isomere detektiert.

Bilder 18 und 19 zeigen beispielhaft die Lage verzweigter Isomere im Chromatogramm.

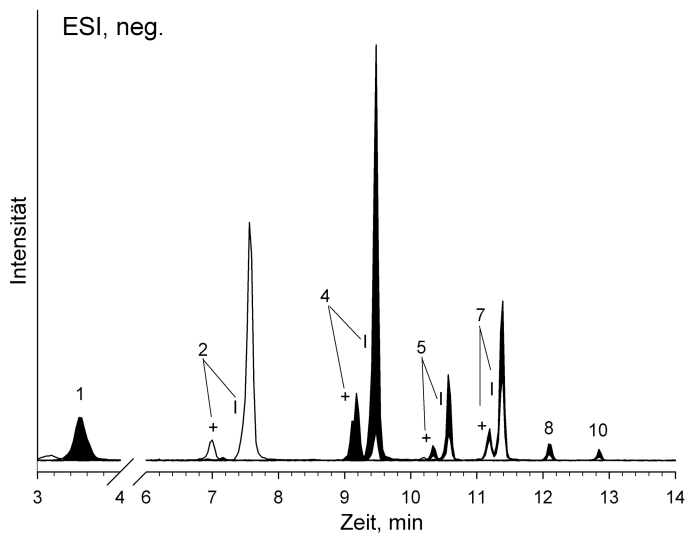


Bild 18 – Beispiel für ein MS-Chromatogramm einer Probe mit verzweigten und unverzweigten Carbonsäuren

Peak-Nummer siehe Legende zu Bild 6, + verzweigte Isomere, I unverzweigte Isomere

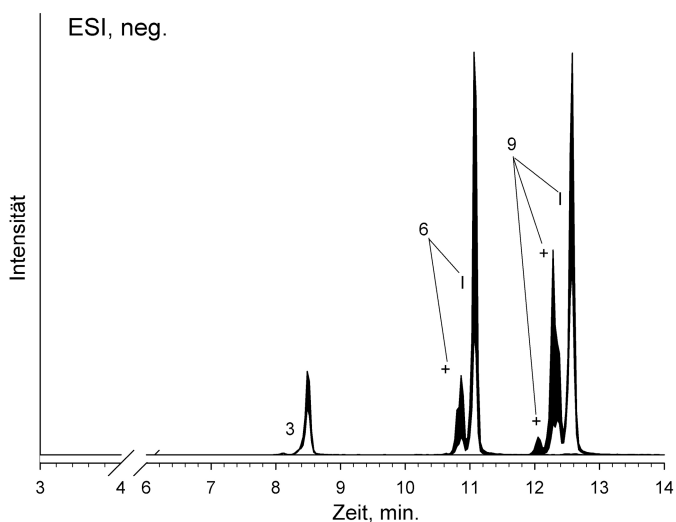


Bild 19 – Beispiel für ein MS-Chromatogramm einer Probe mit verzweigten und unverzweigten Sulfonsäuren

Peak-Nummer siehe Legende zu Bild 6, + verzweigte Isomere, I unverzweigte Isomere

7 Ermittlung von Verfahrenskenndaten

7.1 Kalibrierverfahren

Nach der Norm ist für die Untersuchung von Proben ausschließlich die interne Standardisierung zulässig. Dabei müssen mindestens für die Stoffe PFBA, PFHxA, PFOA und PFOS entsprechende ¹³C-markierte Verbindungen als interne Standards eingesetzt werden. Stoffe, für die kein eigener interner Standard eingesetzt wird oder verfügbar ist, dürfen auf andere interne Standards bezogen werden, sofern die Wiederfindungsraten der Analyten im gleichen Bereich liegen, wie die der internen Standards (Tabelle 8). Diese Anforderung ist jedoch nicht immer erfüllt, so dass sich grundsätzlich die Verwendung weiterer interner Standards, besonders für Stoffe, die regelmäßig vorgefunden werden, empfiehlt.

Tabelle 8 – Massenübergänge interner Standardsubstanzen und Beispiel für Fremdbezug

| Substanz | Relative molare Masse | ESI-Modus | Vorläufer-Ion <i>m/z</i> | Produkt-Ionen <i>m/z</i> | Zuordnung nach DIN 38414-14 |
|-------------------------------------|-----------------------|-----------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| ¹³ C ₄ -PFBA | 218,01 | negativ | 217 | 172 | PFBA |
| ¹³ C ₅ -PFPeA | 269,01 | negativ | 268 | 223 | |
| ¹³ C ₂ -PFHxA | 316,04 | negativ | 315 | 270 / 119 | PFHxA, PFPeA, PFBS, PFHxS |
| ¹³ C ₃ -PFHxS | 403,07 | negativ | 402 | 99 | |
| ¹⁸ O ₂ -PFHxS | 404,09 | negativ | 403 | 103 | |
| ¹³ C ₄ -PFHpA | 368,03 | negativ | 367 | 322 | |
| ¹³ C ₄ -PFOA | 418,04 | negativ | 417 | 372 / 169 | PFOA, PFHpA, PFNA, PFDA |
| ¹³ C ₄ -PFOS | 504,10 | negativ | 503 | 80 / 99 | PFOS |
| ¹³ C ₅ -PFNA | 469,04 | negativ | 468 | 423 / 223 / 219 | |
| ¹³ C ₂ -PFDA | 516,07 | negativ | 515 | 470 / 220 / 219 | |

Die erhältlichen Standards der Sulfonate liegen als Natriumsalz vor.

Die Anwendung des Verfahrens hat gezeigt, dass es nicht grundsätzlich notwendig ist, die Kalibrierung des Messsystems mit jeder Untersuchungsserie neu zu erstellen.

Bild 20 gibt die Peakflächen bzw. die Flächenverhältnisse am Beispiel einiger PFC von insgesamt 24 Kalibrierungen unter Routinebedingungen wieder und zeigt, dass die Responsewerte nur wenig schwanken. Dies gilt in jedem Fall für das Flächenverhältnis bei den Analyten aber auch meistens für die absoluten Peakflächen der internen Standards. Solange die Anforderungen hinsichtlich der Genauigkeit nach Abschnitt 11.4 der Norm erfüllt sind, kann eine vorhandene Kalibrierung weiter verwendet werden.

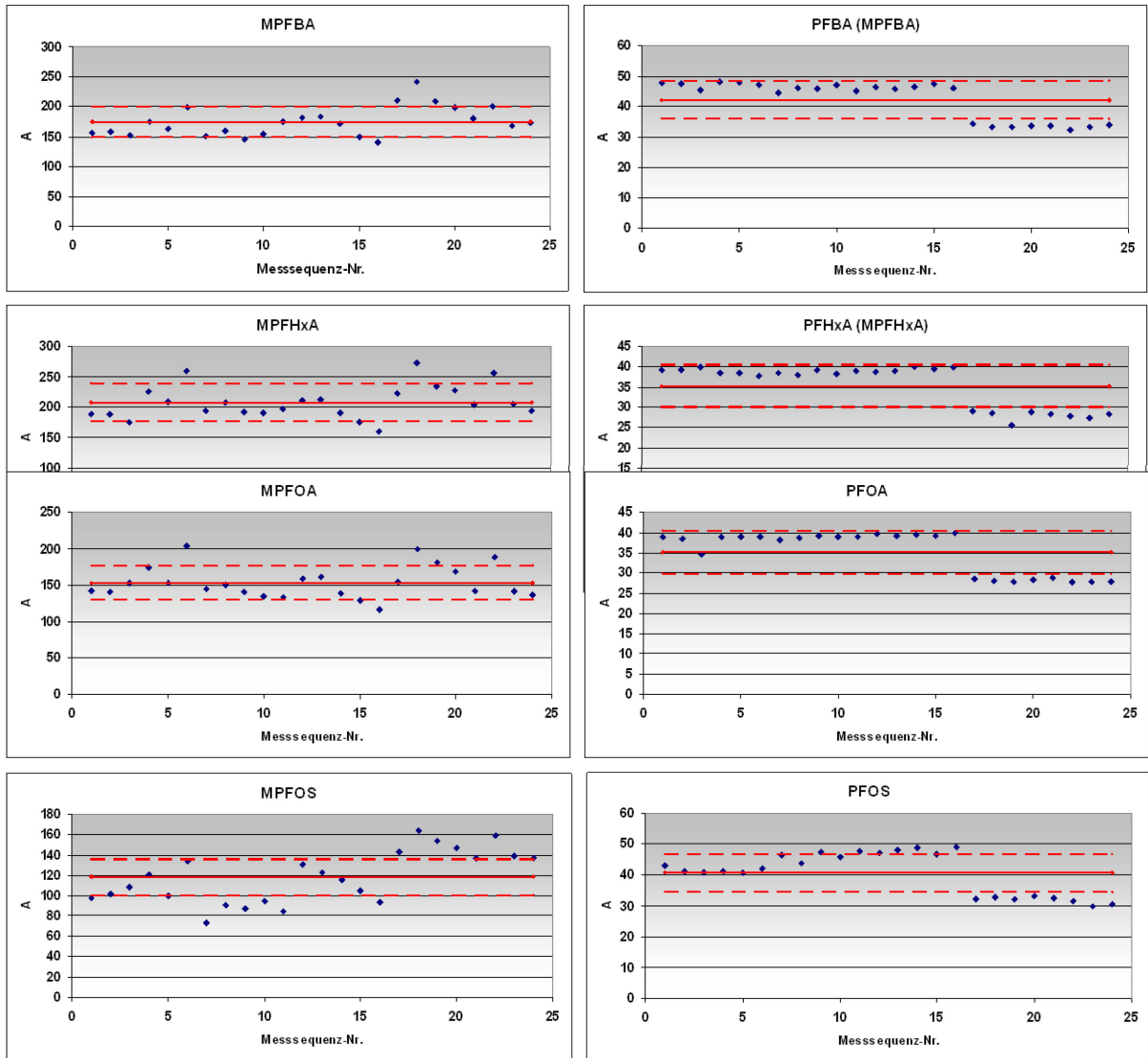


Bild 20 – Stabilität von Kalibrierungen, Beispiel

Messsequenzen mit durchschnittlich 30 – 40 Umweltproben und regelmäßiger Reinigung des MS-Gerätes, Messbedingungen siehe Tabelle 13

7.2 Kalibriersubstanzen

Für die Kalibrierung dürfen nach der Norm nur unverzweigte PFC eingesetzt werden, die für die Sulfonate zurzeit nur als Lösungen kommerziell sind (Tabelle 4).

Die Richtigkeit dieser Lösungen und die Genauigkeit der Kalibrierung sind mit einem unabhängigen Standard zu prüfen, der neben den unverzweigten auch verzweigte Isomere enthält. Ein solcher Standard ist im Handel verfügbar (Tabelle 4) und wurde im Rahmen des Ringversuches untersucht.

7.3 Kenndaten der Grundkalibrierung und Messbedingungen

Tabellen 9 – 13 zeigen beispielhaft Kenndaten der Grundkalibrierung, die mit verschiedenen Messgeräten erzielt wurden. Die Messbedingungen sind jeweils angegeben.

Tabelle 9 – Kenndaten und Messbedingungen, Beispiel 1

Kalibrierbereich: 0,5 - 5 ng/ml
 Anzahl Konzentrationsniveaus: 10
 Messung/Niveau: 10 oben und unten, sonst eine Messung

| Stoffname | m/z | b | a | r | S _{x0} | V _{x0} | CV _{r(UAG)} n = 8 | CV _{r(OAG)} n = 10 | S/N | S _{RT} n = 10 |
|----------------------|---|---------|-------|--------|-----------------|-----------------|-------------------------------|--------------------------------|-----|---------------------------|
| PFBA | 213 > 169 | 189016 | 49237 | 0,9986 | 0,0836 | 3,0 | 4,8 | 3,0 | 5 | 0,01 |
| PFPeA | 263 > 219 | 318253 | 7273 | 0,9981 | 0,1006 | 3,7 | 8,3 | 2,4 | 8 | 0,01 |
| PFHxA | 313 > 269 | 283988 | 9617 | 0,9988 | 0,0790 | 2,9 | 6,9 | 3,3 | 10 | 0,01 |
| PFHpA | 363 > 319 | 432019 | 90351 | 0,9983 | 0,0943 | 3,4 | 4,4 | 2,8 | 11 | 0,01 |
| PFOA | 413 > 369 | 426772 | 43635 | 0,9977 | 0,1101 | 4,0 | 3,9 | 2,7 | 21 | 0,01 |
| PFNA | 463 > 419 | 426774 | 45531 | 0,9983 | 0,0951 | 3,5 | 5,2 | 4,2 | 24 | 0,01 |
| PFDA | 513 > 469 | 408732 | -6842 | 0,9972 | 0,1197 | 4,4 | 9,5 | 2,7 | 24 | 0,01 |
| PFBS | 299 > 80 | 58337 | 29062 | 0,9928 | 0,1944 | 7,1 | 7,3 | 1,7 | 20 | 0,01 |
| PFHxS | 399 > 80 | 39536 | 2264 | 0,9972 | 0,1204 | 4,4 | 10,9 | 3,5 | 325 | 0,01 |
| PFOS | 499 > 80 | 21370 | -5287 | 0,9959 | 0,1450 | 5,2 | 6,0 | 3,0 | 280 | 0,01 |
| MPFBA | 217 > 172 | 1792249 | 0 | - | 0,0231 | 2,6 | - | 2,1 | - | 0,01 |
| MPFHxA | 315 > 270 | 3458214 | 0 | - | 0,0213 | 2,4 | - | 1,3 | - | 0,01 |
| MPFOA | 421 > 376 | 5127197 | 0 | - | 0,0251 | 2,8 | - | 3,0 | - | 0,01 |
| MPFOS | 503 > 80 | 215570 | 0 | - | 0,0220 | 2,4 | - | 2,9 | - | 0,01 |
| Messgerät | HPLC-System 1100 (Entgaser, binäre Pumpe, thermost. Probengeber, Säulenofen), TSQ Quantum Discovery Max | | | | | | | | | |
| Säule | Phenomenex Fusion-RP 4 mm x 2 mm // Phenomenex Fusion-RP 4 µm (100 mm x 2 mm) | | | | | | | | | |
| Injektion | 20 µl | | | | | | | | | |
| Eluent | A: Wasser (5 % Methanol, 2 mmol Ammoniumacetat, 0,1 % Essigsäure) B: Methanol (2 mmol Ammoniumacetat, 0,1 % Essigsäure) 0 - 4 min 25 % A // 4 - 7 min 60 % A // 7 - 12 min 80 % A // 12 - 12,5 min 80 % A // 12,5 - 13 min 25 % A | | | | | | | | | |
| Fluss | 0,3 ml/min | | | | | | | | | |
| Temp. | 50 °C | | | | | | | | | |
| Druck | bei Anfangsbedingungen 94 bar, bei Endbedingungen 75 bar | | | | | | | | | |
| Detektion | MRM-Mode, ESI neg., Ion Transfer Capillary Temp.: 270 °C, Sheathgas 70, Spray Voltage: 3000 V, Stossgasdruck (Argon): 1,5 mTorr | | | | | | | | | |
| b | Steigung, in ml/ng | | | | | | | | | |
| a | Achsenabschnitt, Flächenwert | | | | | | | | | |
| r | Korrelationskoeffizient | | | | | | | | | |
| S _{x0} | Verfahrensstandardabweichung, in ng/ml | | | | | | | | | |
| V _{x0} | Rel. Verfahrensstandardabweichung, in % | | | | | | | | | |
| CV _{r(UAG)} | Wiederholstandardabweichung an der unteren Arbeitsbereichsgrenze, in % | | | | | | | | | |
| CV _{r(OAG)} | Wiederholstandardabweichung an der oberen Arbeitsbereichsgrenze, in % | | | | | | | | | |
| S/N | Verhältnis des Signals zum Rauschen (Peak to Peak) an der unteren Anwendungsgrenze | | | | | | | | | |
| S _{RT} | Standardabweichung der Retentionszeiten, in min | | | | | | | | | |

Tabelle 10 – Kenndaten und Messbedingungen, Beispiel 2

Kalibrierbereich: 1 - 10 ng/ml
 Anzahl Konzentrationsniveaus: 10
 Messung/Niveau: 1

| Stoffname | m/z | b | a | r | S _{x0} | V _{x0} | CV _{r(UAG)} n = 8 | CV _{r(OAG)} n = 10 | S/N | S _{RT} n = 10 |
|-------------------------------|--|-------|-------|--------|-----------------|-----------------|-------------------------------|--------------------------------|-----|---------------------------|
| PFBA | 212,9 > 169,0 | 15297 | 966 | 0,9984 | 0,1820 | 3,3 | 6,4 | 2,0 | 45 | 0,01 |
| PFPeA | 262,9 > 219,0 | 19617 | -1232 | 0,9975 | 0,2286 | 4,2 | 6,6 | 2,2 | 68 | 0,01 |
| PFHxA | 312,6 > 269,0 | 22028 | 1146 | 0,9989 | 0,1526 | 2,8 | 2,8 | 2,1 | 143 | 0,01 |
| PFHpA | 363,0 > 319,0 | 21207 | 1744 | 0,9973 | 0,2347 | 4,3 | 6,1 | 2,0 | 149 | 0,01 |
| PFOA | 412,9 > 369,0 | 20737 | 1699 | 0,9976 | 0,2214 | 4,0 | 2,7 | 2,1 | 173 | 0,01 |
| PFNA | 462,9 > 419,0 | 15768 | 1355 | 0,9975 | 0,2254 | 4,1 | 3,6 | 1,9 | 151 | 0,01 |
| PFDA | 512,9 > 469,0 | 10288 | 1591 | 0,9969 | 0,2529 | 4,6 | 5,5 | 2,7 | 106 | 0,01 |
| PFBS | 298,8 > 79,9 | 23250 | 3994 | 0,9989 | 0,1353 | 2,8 | 5,7 | 2,2 | 123 | 0,01 |
| PFHxS | 398,6 > 80,0 | 15431 | -961 | 0,9973 | 0,2235 | 4,3 | 2,3 | 2,2 | 133 | 0,01 |
| PFOS | 498,5 > 79,9 | 11886 | 294 | 0,9989 | 0,1435 | 2,7 | 7,0 | 2,3 | 132 | 0,01 |
| MPFBA | 217,0 > 172,0 | 16579 | 0 | - | 0,3550 | 3,6 | - | 3,0 | - | 0,01 |
| MPFHxA | 315,0 > 270,0 | 23376 | 0 | - | 0,3303 | 3,3 | - | 2,5 | - | 0,01 |
| MPFOA | 416,9 > 372,1 | 22505 | 0 | - | 0,4527 | 4,5 | - | 3,7 | - | 0,01 |
| MPFOS | 502,9 > 80,1 | 25691 | 0 | - | 0,3267 | 3,3 | - | 2,8 | - | 0,01 |
| Messgerät | HPLC-System 1100 (Entgaser, binäre Pumpe, Probengeber, Säulenthermostat), MS/MS-Triplequad (API 2000) | | | | | | | | | |
| Säule | Phenomenex Max-RP 4 mm x 2,0 mm // MN NUCLEODUR C18 Pyramid 3 µm (125 mm x 2,0 mm) | | | | | | | | | |
| Injektion | 10 µl | | | | | | | | | |
| Eluent | A: 10 mmol Ammoniumacetat/Wasser-Methanol (75/25, v/v) B: 10 mmol Ammoniumacetat/Acetonitril-Methanol (75/25, v/v) 0 - 5 min: 0 V % B nach 30 V % B, linear 5 - 8 min: 30 V % B nach 55 V % B, linear 8 - 19 min: 55 V % B nach 80 V % B, linear Posttime: 12 min 0 V % B, isokratisch | | | | | | | | | |
| Fluss | 0,30 ml/min | | | | | | | | | |
| Temp. | 50 °C, beidseitig, Wärmeaustauscher: 3 µl | | | | | | | | | |
| Druck | bei Anfangsbedingungen: 179 bar, bei Endbedingungen: 93 bar | | | | | | | | | |
| Detektion | MRM-Modus: Elektrospray Ionisierung (ESI) Ionspray Voltage: -1500 V // Curtain Gas (N ₂): 40 psi // Nebulizer Gas (N ₂): 60 psi // Heater Gas (N ₂): 70 psi // Interface Heater: on // Heater Temp: 400 °C // CAD Gas (N ₂): 3,5 x 10 ⁻⁵ Torr Auflösung Q1: Unit, Ion Energy: - 1,7 V // Auflösung Q3: Unit, Ion Energy: - 4,0 V Multiplifier-Spannung: 2200 V, Detektor-Spannung: 175 V | | | | | | | | | |
| Formelzeichen siehe Tabelle 9 | | | | | | | | | | |

Tabelle 11 – Kenndaten und Messbedingungen, Beispiel 3

Kalibrierbereich: 0,1 - 25 ng/ml
 Anzahl Konzentrationsniveaus: 8
 Messung/Niveau: 1

| Stoffname | m/z | b | a | r | s _{x0} | v _{x0} | CV _{r(UAG)} n = 6 | CV _{r(OAG)} n = 6 | S/N | S _{RT} n = 10 |
|-------------------------------|---|--------|-------|--------|-----------------|-----------------|-------------------------------|-------------------------------|-----|---------------------------|
| PFBA | 213 > 169 | 42665 | 1345 | 0,9956 | - | 3,52 | 7,0 | 4,8 | 45 | 0,0208 |
| PFPeA | 263 > 219 | 43159 | 1266 | 0,9965 | - | 4,25 | 5,3 | 2,4 | 70 | 0,0241 |
| PFHxA | 313 > 269 | 47254 | 4361 | 0,9950 | - | 3,82 | 4,5 | 3,1 | 100 | 0,0260 |
| PFHpA | 363 > 319 | 36199 | 563 | 0,9965 | - | 3,41 | 5,9 | 4,5 | 80 | 0,0273 |
| PFOA | 413 > 369 | 20757 | 1694 | 0,9999 | - | 2,00 | 3,9 | 2,3 | 80 | 0,0284 |
| PFNA | 463 > 419 | 26552 | 532 | 0,9939 | - | 2,45 | 5,0 | 7,1 | 100 | 0,0292 |
| PFDA | 513 > 469 | 15229 | 1242 | 0,9932 | - | 4,28 | 3,7 | 4,2 | 100 | 0,0301 |
| PFBS | 299 > 80 | 103077 | 3320 | 0,9999 | - | 3,99 | 3,6 | 1,1 | 90 | 0,0242 |
| PFHxS | 399 > 80 | 63760 | 32 | 0,9996 | - | 2,28 | 7,8 | 2,2 | 100 | 0,0178 |
| PFOS | 499 > 80 | 52219 | 280 | 0,9976 | - | 0,67 | 2,3 | 0,7 | 110 | 0,0291 |
| MPFBA | 217 > 172 | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,0208 |
| MPFHxA | 315 > 270 | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,0260 |
| MPFOA | 421 > 376 | 9844 | 1249 | 0,9942 | - | 6,6 | 10,0 | 5,4 | - | 0,0282 |
| MPFOS | 503 > 80 | 42098 | -2814 | 0,9992 | - | 7,0 | 3,5 | 3,1 | - | 0,0291 |
| Messgerät | HPLC-System 1200, MS/MS API 4000 | | | | | | | | | |
| Säule | Agilent Zorbax XDB C8 5 µm; 150 mm x 4,6 mm | | | | | | | | | |
| Injektion | 5 µl | | | | | | | | | |
| Eluent | A: 2mmol NH ₄ Ac; 0,1 % Ameisensäure; B: Methanol 30 % nach 85 % B in 21 min | | | | | | | | | |
| Fluss | 0,35 ml/min | | | | | | | | | |
| Temp. | 25 °C | | | | | | | | | |
| Druck | - | | | | | | | | | |
| Detektion | scan type: MRM, polarity: ESI negativ, ion source: turbo spray; drying gas: 150 °C; 35 psi, collision gas: 2 mTorr | | | | | | | | | |
| Formelzeichen siehe Tabelle 9 | | | | | | | | | | |

Tabelle 12 – Kenndaten und Messbedingungen, Beispiel 4

Kalibrierbereich: 0,5 - 5 ng/ml
 Anzahl Konzentrationsniveaus: 10
 Messung/Niveau: 3

| Stoffname | m/z | b | a | r | S _{x0} | V _{x0} | CV _{r(UAG)} n = 6 | CV _{r(OAG)} n = 6 | S/N | S _{RT} n = 6 |
|-------------------------------|--|------|------|--------|-----------------|-----------------|-------------------------------|-------------------------------|-----|--------------------------|
| PFBA | 212,9 > 168,9 | 3722 | 159 | 0,9998 | 0,0329 | 1,2 | 3,6 | 1,4 | 101 | 0,00 |
| PFPeA | 262,8 > 218,9 | 2708 | 179 | 0,9997 | 0,0400 | 1,5 | 6,6 | 3,4 | 81 | 0,00 |
| PFHxA | 312,9 > 268,9 | 3254 | -38 | 0,9994 | 0,0551 | 2,0 | 3,9 | 0,6 | 361 | 0,01 |
| PFHpA | 362,9 > 318,8 | 4098 | 497 | 0,9998 | 0,0293 | 1,1 | 5,9 | 1,2 | 417 | 0,01 |
| PFOA | 413,0 > 368,8 | 2610 | 199 | 0,9998 | 0,0268 | 1,1 | 2,3 | 0,9 | 162 | 0,01 |
| PFNA | 462,9 > 418,8 | 2712 | 309 | 0,9993 | 0,0590 | 2,1 | 7,0 | 1,7 | 102 | 0,01 |
| PFDA | 512,9 > 468,8 | 3113 | -138 | 0,9992 | 0,0652 | 2,4 | 6,8 | 0,8 | 140 | 0,01 |
| PFBS | 298,9 > 79,9 | 3527 | 258 | 0,9992 | 0,0554 | 2,3 | 7,4 | 1,4 | 124 | 0,00 |
| PFHxS | 398,9 > 79,9 | 3689 | 79 | 0,9997 | 0,0369 | 1,4 | 5,0 | 0,7 | 84 | 0,02 |
| PFOS | 498,9 > 79,9 | 2435 | 128 | 0,9993 | 0,0569 | 2,2 | 6,9 | 0,4 | 61 | 0,01 |
| MPFBA | 217,0 > 171,9 | 3334 | 0 | - | 0,1480 | 2,2 | - | 3,7 | - | 0,00 |
| MPFHxA | 315,0 > 269,8 | 4751 | 0 | - | 0,0600 | 1,3 | - | 3,8 | - | 0,01 |
| MPFOA | 421,1 > 375,9 | 2411 | 0 | - | 0,1270 | 5,3 | - | 2,6 | - | 0,01 |
| MPFOS | 502,9 > 79,9 | 3086 | 0 | - | 0,0530 | 5,0 | - | 1,7 | - | 0,01 |
| Messgerät | Waters UPLC Acquity (Entgaser, binäre Pumpe, Sample Manager, Column Manager) MS/MS-Triplequad (Waters Acquity TQ Detector) | | | | | | | | | |
| Säule | Waters Acquity UPLC BEH 1,7 µm, 2,1 mm x 100 mm // Waters Acquity HSS T3 1,8 µm, 2,1 mm x 150 mm | | | | | | | | | |
| Injektion | 50 µl | | | | | | | | | |
| Eluent | A: 5 mmol Ammoniumacetat/Wasser // B: 5 mmol Ammoniumacetat/Methanol Methode 1: 40 % B nach 95 % B in 2 min, 95 % B bis 3,5 min Methode 2 (PFOA/PFOS): 75 % B nach 90 % B in 2 min | | | | | | | | | |
| Fluss | 0,3 ml/min | | | | | | | | | |
| Temp. | 40 °C, beidseitig | | | | | | | | | |
| Druck | bei Anfangsbedingungen: 11360 psi, bei Endbedingungen: 6390 psi bei Anfangsbedingungen: 10620 psi, bei Endbedingungen: 8560 psi | | | | | | | | | |
| Detektion | MRM-Modus: Elektrospray Ionisierung (ESI) Kapillarspannung: 3,6 kV // Extraktor: 3 V // RF-Lense: 0,2 V // Quell-Temperatur: 120 °C Cone-Gas: 50 L N ₂ /h // Desolvation Temperatur: 450 °C // Desolvation Gas: 900 L N ₂ /h Auflösung LM1/HM1 15 // Ion Energy 1: 0,5 Entrance Kollisionszelle: 50 // Exit Kollisionszelle: 50,00 Auflösung LM2/HM2 15 // Ion Energy 2: 4 Multiplier-Spannung: 621 V | | | | | | | | | |
| Formelzeichen siehe Tabelle 9 | | | | | | | | | | |

Tabelle 13 – Kenndaten und Messbedingungen, Beispiel 5

Kalibrierbereich: 0,1 - 5 ng/ml
 Anzahl Konzentrationsniveaus: 5
 Messung/Niveau: 2

| Stoffname | m/z | b | a | r | s _{x0} | v _{x0} | CV _{r(UAG)} n = 6 | CV _{r(OAG)} n = 6 | S/N | S _{RT} n = 6 |
|-------------------------------|--|------|------|--------|-----------------|-----------------|-------------------------------|-------------------------------|-----|--------------------------|
| PFBA | 216,6 > 168,4 | 9446 | 170 | 0,9998 | 0,0239 | 1,4 | 1,1 | 1,0 | 37 | 0,00 |
| PFPeA | 262,5 > 218,7 | 8068 | -25 | 0,9995 | 0,0436 | 2,5 | 2,3 | 1,1 | 16 | 0,00 |
| PFHxA | 312,6 > 268,8 | 9254 | 35 | 0,9995 | 0,0442 | 2,5 | 1,3 | 1,1 | 100 | 0,00 |
| PFHpA | 362,6 > 318,7 | 9585 | -98 | 0,9994 | 0,0488 | 2,8 | 2,1 | 1,4 | 75 | 0,00 |
| PFOA | 412,5 > 368,9 | 7296 | -34 | 0,9994 | 0,0511 | 2,9 | 2,1 | 1,6 | 60 | 0,01 |
| PFNA | 462,6 > 418,6 | 6559 | -102 | 0,9979 | 0,0940 | 5,3 | 3,3 | 3,0 | 80 | 0,00 |
| PFDA | 512,7 > 468,6 | 6888 | -811 | 0,9897 | 0,2084 | 11,8 | 2,3 | 4,7 | 100 | 0,00 |
| PFBS | 298,6 > 79,5 | 4926 | -66 | 0,9990 | 0,0570 | 3,7 | 0,7 | 1,8 | 100 | 0,01 |
| PFHxS | 398,6 > 79,5 | 5084 | -70 | 0,9997 | 0,0468 | 2,8 | 1,7 | 1,0 | 110 | 0,01 |
| PFOS | 498,3 > 79,9 | 5475 | -383 | 0,9975 | 0,1376 | 8,1 | 2,8 | 2,9 | 130 | 0,00 |
| MPFBA | 216,6 > 172,0 | 8757 | 0 | - | 0,0610 | 2,7 | - | 0,8 | - | 0,00 |
| MPFHxA | 314,6 > 269,8 | 9698 | 0 | - | 0,0564 | 2,5 | - | 1,2 | - | 0,01 |
| MPFOA | 416,5 > 371,9 | 8548 | 0 | - | 0,0883 | 3,9 | - | 1,9 | - | 0,00 |
| MPFOS | 502,1 > 79,9 | 5014 | 0 | - | 0,1528 | 6,7 | - | 2,2 | - | 0,00 |
| Messgerät | HPLC-System 1100 (Entgaser, binäre Pumpe, Probengeber, Säulenthermostat), MS/MS-Triplequad (Quattro Micro) | | | | | | | | | |
| Säule | Phenomenex Fusion-RP 4 mm x 2,0 mm // Zorbax Eclipse XDB-C18, 3,5µm (100 mm x 2,1 mm) | | | | | | | | | |
| Injektion | 20 µl | | | | | | | | | |
| Eluent | A: 5 mmol Ammoniumacetat/Wasser // B: 0,05 V % Essigsäure/Methanol | | | | | | | | | |
| Fluss | 0,25 ml/min | | | | | | | | | |
| Temp. | 40 °C, beidseitig, Wärmeaustauscher: 3 µl | | | | | | | | | |
| Druck | bei Anfangsbedingungen: 118 bar, bei Endbedingungen: 63 bar | | | | | | | | | |
| Detektion | MRM-Modus: Elektrospray Ionisierung (ESI) Kapillarspannung: 0,8 V // Extraktor: 1,0 V // RF Lens: 0,0 V // Quell-Temperatur: 120 °C Cone Gas: 50 L N ₂ /h // Desolvation Temperatur: 400 °C // Desolvation Gas: 800 L N ₂ /h Auflösung LM1/HM1: 12,0, Ion Energy 1: 0,5 Entrance Kollisionszelle: -1; Exit Kollisionszelle: 2 Auflösung LM2/HM2: 10,0; Ion Energy 2: 2,0 Multiplier-Spannung: 650 V | | | | | | | | | |
| Formelzeichen siehe Tabelle 9 | | | | | | | | | | |

8 Untersuchungen zur Richtigkeit und Präzision

Tabellen 14 – 16 geben Wiederfindungsraten für die verschiedenen Anwendungsbereiche des Verfahrens wieder. Die Werte wurden in verschiedenen Laboren nach den Vorgaben der Norm ermittelt. Die Auswertung erfolgte mit externem Standard ohne weitere Korrektur. Bei der Ermittlung der Wiederfindungsraten wurden Befunde an PFC in den Originalproben jeweils berücksichtigt.

Tabellen 14 – 16 zeigen, dass die Vorgaben bezüglich der Wiederfindungsraten der internen Standards (50 % bis 150 %) bis auf wenige Ausnahmen eingehalten werden.

Tabelle 14 – Beispiele für Wiederfindungsraten aus Boden und Gewässersediment

| Labor | 1 | | 2 | | 2 | | 1 | | 3 | | 4 | |
|--|--------------------------|-----|-------|------|----------|------|-------|-----|------------------|-----|-------|------|
| Probe | Boden B1 | | | | Boden B2 | | | | Gewässersediment | | | |
| Analysenwerte | TOC = 1,41 % | | | | - | | | | TOC = 7,74 % | | | |
| m_P (g) | 2 | | 1 | | 1 | | 2 | | 0,5 | | 1 | |
| N ($\mu\text{g}/\text{kg } m_T$) | 50 | | 50 | | 50 | | 50 | | 50 | | 25 | |
| V_E (ml) | 10 | | 10 | | 10 | | 10 | | 10 | | 20 | |
| V_T (ml) | 1 | | 1 | | 1 | | 1 | | 1 | | 2 | |
| Festphase | Strata-X-AW ^a | | | | | | | | | | | |
| m_S (mg) | 60 | | 60 | | 60 | | 60 | | 60 | | 200 | |
| n | 4 | | 6 | | 6 | | 4 | | 2 | | 3 | |
| Stoffe | A_i | s | A_i | s | A_i | s | A_i | s | A_i | s | A_i | s |
| PFBA | 94,8 | 2,5 | 95,3 | 7,6 | 88,9 | 6,2 | 82,3 | 3,4 | 83,0 | 7,6 | 65,0 | 10,5 |
| PFPeA | 93,4 | 1,4 | 90,4 | 7,8 | 85,3 | 6,8 | 78,8 | 5,1 | 93,1 | 0,1 | 64,3 | 11,0 |
| PFHxA | 94,5 | 2,0 | 82,4 | 8,8 | 79,5 | 8,6 | 82,0 | 3,2 | 91,1 | 0,1 | 70,0 | 14,0 |
| PFHpA | 92,2 | 1,7 | 97,3 | 10,2 | 92,7 | 10,0 | 80,8 | 3,3 | 88,9 | 1,8 | 66,0 | 12,8 |
| PFOA | 92,8 | 1,1 | 98,1 | 9,2 | 86,3 | 6,8 | 85,2 | 1,3 | 82,3 | 2,7 | 68,3 | 12,9 |
| PFNA | 91,6 | 1,6 | 100,4 | 7,6 | 95,2 | 5,0 | 84,4 | 0,3 | 86,5 | 1,0 | 72,0 | 12,3 |
| PFDA | 88,8 | 2,0 | 96,1 | 8,6 | 86,0 | 5,8 | 82,9 | 2,2 | 95,2 | 0,8 | 74,7 | 11,0 |
| PFBS | 87,1 | 1,0 | 84,1 | 6,2 | 83,3 | 4,2 | 78,3 | 2,0 | 95,0 | 1,7 | 79,0 | 7,8 |
| PFHxS | 91,2 | 1,5 | 94,1 | 6,4 | 90,6 | 4,2 | 80,7 | 2,0 | 92,3 | 0,7 | 80,7 | 8,1 |
| PFOS | 89,9 | 2,1 | 95,1 | 4,2 | 88,5 | 5,2 | 89,5 | 2,4 | 96,7 | 0,6 | 67,7 | 4,1 |
| ¹³ C ₄ -PFBA | 95,0 | 3,4 | 77,6 | 7,0 | 60,9 | 6,0 | 81,6 | 2,9 | 109,0 | 2,8 | 52,7 | 2,3 |
| ¹³ C ₂ -PFHxA | 90,2 | 2,8 | 92,6 | 8,5 | 88,7 | 9,5 | 76,2 | 2,2 | 113,5 | 3,5 | 56,3 | 5,9 |
| ¹³ C ₄ -PFOA | 88,9 | 2,3 | 100,8 | 5,5 | 98,7 | 3,5 | 77,6 | 1,4 | 102,0 | 1,4 | 66,0 | 12,0 |
| ¹³ C ₅ -PFNA ^b | 86,5 | 3,5 | - | - | - | - | 77,8 | 0,9 | - | - | 64,0 | 12,2 |
| ¹³ C ₂ -PFDA ^b | 83,9 | 3,2 | - | - | - | - | 76,7 | 1,8 | - | - | 72,7 | 11,7 |
| ¹⁸ O ₂ -PFHxS ^b | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 88,3 | 5,9 |
| ¹³ C ₄ -PFOS | 86,5 | 2,6 | 100,6 | 5,0 | 98,0 | 5,0 | 79,2 | 1,2 | 118,5 | 3,5 | 83,7 | 2,9 |

m_P Masse der Probe, die extrahiert wurde, in Gramm (g);
 N Konzentrationsniveau, Aufstockung der Probe, in Mikrogramm je Kilogramm Trockenmasse ($\mu\text{g}/\text{kg } m_T$);
 V_E Volumen des Extraktionsmittels, in Milliliter (ml);
 V_T Teilvolumen des Extraktes, das aufgearbeitet wird, in Milliliter (ml);
 m_S Masse der Festphase, in Milligramm (mg);
 n Anzahl der parallelen Analysen;
 A_i mittlere Wiederfindungsrate für die Substanz i , in Prozent (%);
 s Standardabweichung der Wiederfindungsrate, in Prozent (%).

^a Strata-X-AW ist ein Beispiel für geeignetes handelsübliches Produkt. Die Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender der Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produktes durch das DIN.

^b Zusätzlich im Analysenverfahren

Tabelle 15 – Beispiele für Wiederfindungsraten aus Klärschlamm

| Labor | 1 | | 3 | | 5 | | 6 | | | 6 | | |
|---|--------------------------|------|----------------|-----|-----------------|-----|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Probe | Klärschlamm K1 | | Klärschlamm K2 | | Klärschlamm K3 | | Klärschlamm K4 | | | Klärschlamm K5 | | |
| Analysenwerte | TOC = 28,5 % | | - | | - | | - | | | - | | |
| m _P (g) | 2 | | 0,5 | | 0,1 | | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| N (µg/kg m _T) | 100 | | 50 | | 100 | | 100 | 200 | 300 | 100 | 200 | 300 |
| V _E (ml) | 10 | | 10 | | 10 | | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| V _T (ml) | 1 | | 1 | | 2 | | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| Festphase | Strata-X-AW ^a | | | | | | | | | | | |
| m _S (g) | 60 | | 60 | | 200 | | 60 | | | 60 | | |
| n | 3 | | 3 | | 3 | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Stoffe | A _i | s | A _i | s | A _i | s | A _i | A _i | A _i | A _i | A _i | A _i |
| PFBA | 60,3 | 5,1 | 63,5 | 2,9 | 111 | 0,8 | 119 | 83 | 93 | 82 | 82 | 89 |
| PFPeA | 66,0 | 5,1 | 96,8 | 5,3 | 125 | 0,7 | 101 | 89 | 92 | 89 | 89 | 80 |
| PFHxA | 79,7 | 5,0 | 104,7 | 3,6 | 122 | 3,1 | 96 | 93 | 93 | 84 | 78 | 73 |
| PFHpA | 86,6 | 6,1 | 99,9 | 4,5 | 119 | 3,1 | 114 | 107 | 107 | 89 | 85 | 80 |
| PFOA | 99,4 | 5,5 | 104,0 | 7,7 | 117 | 8,2 | 111 | 101 | 107 | 89 | 77 | 81 |
| PFNA | 97,4 | 7,2 | 99,9 | 5,3 | 110 | 3,5 | 126 | 118 | 111 | 98 | 87 | 84 |
| PFDA | 100,7 | 7,2 | 93,7 | 1,3 | 37 ^c | 5,1 | 105 | 101 | 100 | 96 | 87 | 84 |
| PFBS | 82,3 | 4,1 | 99,4 | 2,6 | 101 | 2,3 | 87 | 89 | 90 | n.a. | 88 | 80 |
| PFHxS | 91,1 | 6,3 | 91,8 | 5,4 | 102 | 2,0 | 82 | 80 | 85 | 94 | 87 | 82 |
| PFOS | 64,7 | 16,5 | 89,0 | 8,3 | 15 ^c | 2,1 | 89 | 95 | 92 | 98 | 87 | 87 |
| ¹³ C ₄ -PFBA | 61,2 | 4,7 | 64,7 | 3,4 | 98 | 2,2 | 96 | 84 | 95 | 88 | 87 | 81 |
| ¹³ C ₂ -PFHxA | 71,7 | 4,3 | 102,6 | 5,0 | 102 | 1,3 | 95 | 86 | 89 | 74 | 77 | 73 |
| ¹³ C ₄ -PFOA | 90,9 | 4,1 | 103,7 | 4,0 | 103 | 1,1 | 102 | 90 | 97 | 80 | 73 | 71 |
| ¹³ C ₅ -PFNA ^b | 90,8 | 4,0 | - | - | 103 | 2,1 | 107 | 99 | 104 | 88 | 75 | 71 |
| ¹³ C ₂ -PFDA ^b | 101,5 | 3,4 | - | - | 110 | 3,2 | 97 | 87 | 93 | 85 | 81 | 79 |
| ¹⁸ O ₂ -PFHxS ^b | - | - | - | - | 112 | 4,7 | 79 | 90 | 85 | 83 | 85 | 76 |
| ¹³ C ₄ -PFOS | 89,7 | 3,6 | 99,4 | 3,9 | 113 | 3,0 | 88 | 87 | 87 | 82 | 80 | 76 |
| Formelzeichen siehe Tabelle 14 | | | | | | | | | | | | |
| ^a Strata-X-AW ist ein Beispiel für geeignetes handelsübliches Produkt. Die Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender der Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produktes durch das DIN. ^b Zusätzlich im Analysenverfahren ^c Aufstockung im Vergleich zur Vorbelastung zu gering gewählt. | | | | | | | | | | | | |

Tabelle 16 – Beispiele für Wiederfindungsraten aus Kompost

| Labor | 1 | | 5 | | 7 | | 8 | | 8 | | 8 | |
|--|--------------------------|------|----------------|------|------------------------|-----|--------------------------------|-----|------------------|-----|-------------------|-----|
| Probe | Gärrückstände | | | | Bio-Kompost | | Kompost Gärreste | | Kompost Pflanzen | | Kompost Bioabfall | |
| Analysenwerte | TOC = 36,2 % | | | | - | | TOC = 36,2 % | | - | | - | |
| m _P | 2 | | 0,5 | | 1 | | 1 | | 1 | | 1 | |
| N (µg/kg m _T) | 50 | | 50 | | 100 | | 100 | | 100 | | 100 | |
| V _E | 10 | | 10 | | 10 | | 10 | | 10 | | 10 | |
| V _T | 1 | | 2 | | 1 | | 0,5 | | 0,5 | | 0,5 | |
| Festphase | Strata-X-AW ^a | | | | Oasis-WAX ^a | | Chromabond HR-XAW ^a | | | | | |
| m _S (g) | 60 | | 200 | | 60 | | 60 | | | | | |
| n | 4 | | 3 | | 5 | | 4 | | 4 | | 4 | |
| Stoffe | A _i | s | A _i | s | A _i | s | A _i | s | A _i | s | A _i | s |
| PFBA | 81,7 | 7,7 | 101 | 4,7 | 84 | 3,3 | 98,0 | 2,9 | 90,8 | 6,9 | 108 | 5,0 |
| PFPeA | 83,4 | 11,1 | 98,9 | 7,2 | 104 | 7,7 | 92,5 | 1,9 | 77,0 | 4,5 | 99,8 | 5,1 |
| PFHxA | 84,6 | 10,5 | 94,4 | 5,4 | 91 | 2,9 | 97,0 | 3,2 | 85,3 | 2,7 | 110 | 1,4 |
| PFHpA | 86,4 | 8,8 | 106 | 4,9 | 88 | 4,6 | 102 | 4,1 | 88,2 | 4,9 | 107 | 4,9 |
| PFOA | 92,0 | 10,1 | 83,1 | 8,5 | 93 | 5,0 | 94,1 | 2,6 | 84,6 | 3,1 | 114 | 2,5 |
| PFNA | 97,3 | 9,3 | 102 | 4,4 | 95 | 7,7 | 97,4 | 1,0 | 90,2 | 1,5 | 98,6 | 3,7 |
| PFDA | 99,8 | 11,5 | 110 | 4,0 | 84 | 5,7 | 99,4 | 3,0 | 90,3 | 1,3 | 108 | 3,1 |
| PFBS | 92,3 | 6,7 | 95 | 7,0 | 84 | 7,3 | 81,9 | 2,9 | 77,9 | 1,4 | 86,8 | 2,3 |
| PFHxS | 98,7 | 8,8 | 115 | 4,5 | 87 | 1,8 | 92,9 | 2,8 | 85,9 | 1,4 | 96,6 | 1,5 |
| PFOS | 97,6 | 9,5 | 103 | 11,9 | 89 | 2,5 | 92,6 | 0,5 | 83,6 | 0,8 | 96,1 | 2,1 |
| ¹³ C ₄ -PFBA | 79,1 | 7,4 | 92,4 | 4,9 | 82 | 3,3 | 116 | 8,9 | 93,9 | 9,6 | 130 | 5,3 |
| ¹³ C ₂ -PFHxA | 79,1 | 8,3 | 90,5 | 4,7 | 88 | 3,4 | 105 | 5,4 | 95,5 | 4,7 | 107 | 5,9 |
| ¹³ C ₄ -PFOA | 85,5 | 8,2 | 90,1 | 6,6 | 92 | 5,7 | 106 | 4,2 | 90,9 | 4,9 | 111 | 5,9 |
| ¹³ C ₅ -PFNA ^b | 89,8 | 7,2 | 94,5 | 4,7 | - | - | 100 | 6,1 | 99,3 | 4,6 | 106 | 4,1 |
| ¹³ C ₂ -PFDA ^b | 92,4 | 7,4 | 102 | 3,5 | - | - | 104 | 3,4 | 102 | 2,6 | 103 | 6,4 |
| ¹⁸ O ₂ -PFHxS ^b | - | - | 104 | 3,1 | - | - | 97,4 | 3,3 | 97,4 | 1,3 | 102 | 7,3 |
| ¹³ C ₄ -PFOS | 93,5 | 7,1 | 103 | 4,3 | 88 | 5,8 | 94,5 | 7,7 | 90,1 | 2,0 | 102 | 9,6 |

Formelzeichen siehe Tabelle 14

^a Strata-X-AW, Oasis WAX und Chromabond HR-XAW sind Beispiele für geeignete handelsübliche Produkte. Die Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender der Norm und bedeutet keine Anerkennung dieser genannten Produkte durch das DIN.

^b Zusätzlich im Analysenverfahren

9 Robustheit

9.1 Extraktion

Die Extraktionsausbeuten erwiesen sich in einem Bereich von 0,1 g – 1 g bei einem Volumen des Extraktionsmittels von 5 ml Methanol unabhängig von der Probenmenge. Ein Temperatureinfluß auf die Extraktionsausbeuten war im Bereich von 40 °C – 60 °C nicht feststellbar. Von weniger großem Einfluss erwies sich auch die Extraktionszeit, wobei teilweise nach 30 min die gleichen Ausbeuten erhalten wurden wie nach 60 min. Von Wichtigkeit dagegen ist, dass die Probe während der Extraktion mehrfach aufgeschüttelt wird, da sich sonst Minderbefunde ergeben können.

Die Dichtheit der Extraktionsgefäße stellt in der Praxis kein Problem dar.

9.2 Reinigung von Extrakten

Die saure Konditionierung des Festphasenmaterials in Verbindung mit einer sauer eingestellten Probe ermöglicht die Sorption der Analyten aus Mischungen mit Methanolanteilen bis zu 50 %. Unter diesen Bedingungen darf das Probenvolumen 2 ml betragen. An einer Reihe von Proben aus den verschiedenen Anwendungsbereichen des Analysenverfahrens wurde nachgewiesen, dass keine relevanten Verluste an PFC infolge von Durchbruch bei der Reinigung auftreten. Tabelle 5 zeigt eine Auswahl von Ergebnissen dieser Untersuchungen. Die Verdünnung des Methanolextraktes mit Wasser erwies sich als notwendig, da bei reinen Methanolextrakten teilweise Durchbruch von PFC festgestellt wurde.

Alternativ kann das Festphasenmaterial alkalisch, gem. DIN 38407-42, konditioniert werden. Unter diesen Bedingungen darf der Volumenanteil an Methanol höchstens 5 % bei einem Probenvolumen von bis zu 50 ml betragen. Die Durchführung der Reinigung erfolgt entsprechend der Extraktion nach DIN 38407-42. Die maßgeblichen Einflussgrößen, wie Phasenverhältnis, Volumenanteil Methanol in der Probe, Volumina bei Waschschritten und Elution, wurden eingehend untersucht und die Arbeitsweise so festgelegt, dass genügend Abstand zu den Grenzbereichen besteht (siehe Abschnitt 6.3 und Validierungsdokument zur Norm 38407-42).

9.3 Massenspektrometrische Messung

Spezielle Untersuchungen zur Robustheit der massenspektrometrischen Detektion im Zusammenhang mit der Analyse von Feststoffextrakten wurden nicht durchgeführt, da davon auszugehen ist, dass die Verhältnisse sich nicht wesentlich von denen des Verfahrens DIN 38407-42 unterscheiden, wenn die Extrakte gereinigt wurden.

10 Verfahrenskenndaten aus Ringversuchen

10.1 Allgemeine Angaben

Der Validierungsringversuch zu DIN 38414-14 wurde im Zeitraum vom 06.01.2011 bis 28.01.2011 arbeitskreisintern an 4 Proben durchgeführt:

Probe 1: Standardlösung in Methanol

Probe 2: Klärschlamm

Probe 3: Boden

Probe 4: Futtermittel (Grassilage)

In jeder Probe waren die folgenden Verbindungen mit jeweils 4 parallelen Messungen bzw. Analysen quantitativ zu bestimmen:

Perfluorbutansäure (PFBA), Perfluorpentansäure (PFPeA), Perfluorhexansäure (PFHxA), Perfluorheptansäure (PFHpA), Perfluoroctansäure (PFOA), Perfluornonansäure (PFNA), Perfluordecansäure (PFDA), Perfluorbutansulfonsäure (PFBS), Perfluorhexansulfonsäure (PFHxS), Perfluoroctansulfonsäure (PFOS)

An der Untersuchung haben 20 Laboratorien teilgenommen und Ergebnisse abgegeben.

Die Auswertung des Ringversuches erfolgte nach DIN 38402-42 bzw. DIN/ISO 5725-2.

Die Anwendungsbereiche Gewässersediment und Kompost wurden nicht in den Ringversuch einbezogen, da kein geeignetes Probenmaterial zur Verfügung stand und von einer Aufstockung abgesehen wurde.

10.2 Herstellung der Ringversuchsproben

Die Probe 1 wurde aus einer PFC-Standardlösung der Firma Chiron durch Verdünnung mit Methanol hergestellt (Anlage). Die Probe wurde in 1,5-ml-CERTAN-Flaschen abgefüllt.

Die Herstellung der Proben 2 und 3 erfolgte aus Rückstellproben, die trocken, gemahlen und auf 250 µm abgeseibt aus früheren Untersuchungen zur Verfügung standen.

Zur Herstellung der Probe 2 wurden zwei Klärschlämme kommunaler Prägung gemischt und die Mischung in einem Taumelmischer homogenisiert. Entsprechend dieser Vorgehensweise wurde die Probe 3 aus zwei Ackerböden belasteter Flächen hergestellt. Die Probenmenge der Mischungen betrug jeweils etwa 500 g.

Die Probe 4 wurde freundlicherweise fertig vorbereitet vom Landesbetrieb Hessisches Landeslabor für den Ringversuch zur Verfügung gestellt.

Im Rahmen der Voruntersuchung wurden folgende TOC-Werte für die Ringversuchsproben ermittelt:

Probe 2, Klärschlamm, TOC 28 %

Probe 3, Boden, TOC 2,5 %

Probe 4, Futtermittel (Grassilage), TOC 45 %

Die Homogenität der Proben wurde mit jeweils 6 parallelen Analysen geprüft (Bild 21). Dabei wurden für die Klärschlammprobe und für die Grassilage relative Wiederholstandard-

abweichungen von weniger als 2 % erzielt, was auf eine homogene Zusammensetzung der Proben schließen lässt. Deutlich höher liegen die Werte für die Bodenprobe, wobei besonders die Standardabweichung von PFOA auffällt.

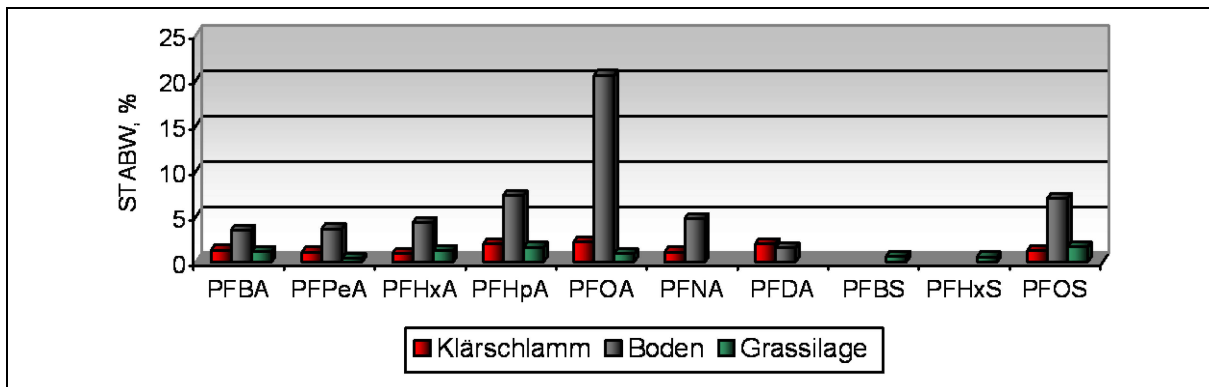


Bild 21 – Wiederholstandardabweichung bei Untersuchungen zur Homogenität der Ringversuchsproben

Die Feststoffproben wurden in 100-ml-Weithalsgläser mit Schraubkappe und Dichtung aus Polyethylen abgefüllt und die Klärschlammproben (je 20 g) durch Zugabe von 30 g Wasser auf einen Wassergehalt von 60 % eingestellt. Den Bodenproben (je 20 g) wurden jeweils 5 g Wasser zugefügt, die Grassilage (je 8 g) wurde trocken verschickt.

Beim Ringversuch wurde für die Probe 2 ein mittlerer Wassergehalt von 64,1 % und für die Probe 3 von 21,4 % ermittelt.

10.3 Angaben zur Analytik

Die Trocknung der Feststoffproben erfolgte vorwiegend durch Gefriertrocknung. Die Trocknung bei 40 °C an der Luft wurde bei der Klärschlammprobe nur von 2 Laboratorien, bei der Probe 3 von 9 und bei der Probe 4 von 7 Laboratorien angewendet. Bei fast allen Teilnehmern wurden die Proben gemahlen und überwiegend auch gesiebt (250 µm), so dass die Ergebnisse des Ringversuches das Gesamtverfahren widerspiegeln.

Die Feststoffproben wurden durchweg mit Methanol unter Einwirkung von Ultraschall extrahiert. Das Phasenverhältnis (Probenmasse/Volumen des Extraktionsmittels) variiert im Bereich von 0,01 – 0,1 g/ml und erfüllt damit in allen Fällen die Vorgabe (< 0,2 g/ml).

Bei den meisten Teilnehmern wurde der Extrakt einer Reinigung unterzogen, bei der Klärschlammprobe bei 19 Laboratorien, bei den Proben 3 und 4 bei 13 bzw. 17 Laboratorien. Entsprechend den normativen Vorgaben wurden hierzu ausschließlich Festphasenmaterialien mit schwacher Anionenaustauscherfunktion auf Polymerbasis, häufig mit einer Sorbensmasse von 60 mg, eingesetzt. Verwendet wurden die Materialien Strata-XAW (Firma Phenomenex), HR-XAW (Firma Macherey-Nagel) und Oasis WAX (Firma Waters). Aufgrund des geringeren Arbeitsaufwandes kam das Cleanup-Verfahren mit saurer Konditionierung etwas häufiger als das mit basischer Konditionierung zur Anwendung.

Die direkte Injektion des Extraktes wurde besonders bei der Analyse der Bodenprobe angewendet, da bei den zum Teil notwendigen hohen Verdünnungen des Extraktes die Matrix eine untergeordnete Rolle spielte.

Für die chromatographische Trennung wurden insgesamt 11 verschiedene Phasen eingesetzt, dabei häufiger die Materialien Acquity BEH C18 (Firma Waters), Synergi Fusion-RP (Firma Phenomenex) und Zorbax Eclipse (Plus) C18 (Firma Agilent Technologies). Als

Elutionsmittel wurden meistens Methanol/Wasser in Gegenwart von Acetatpuffer verwendet. Die Injektionsvolumina lagen in einem Bereich von 5 – 25 µl.

Insgesamt kamen 14 verschiedene Tandemmassenspektrometer von 4 verschiedenen Herstellern zum Einsatz.

Ein Einfluss der Arbeitsweise, die bei allen Teilnehmern den normativen Vorgaben entsprach, oder des Gerätetyps auf die Ergebnisse konnte nicht festgestellt werden.

Neben den geforderten isotoopenmarkierten Standards für PFBA, PFHxA, PFOA und PFOS wurden bei mehr als der Hälfte der Teilnehmer zusätzlich auch entsprechende Standardsubstanzen für PFNA, PFDA und PFHxS für die Quantifizierung verwendet.

10.4 Ergebnisse

10.4.1 Wiederfindungsraten von internen Standardsubstanzen

Bild 22 zeigt die Wiederfindungsraten der verwendeten internen Standardsubstanzen für die Proben 1 – 4 der einzelnen Laboratorien. Nach der Norm müssen die Wiederfindungs-raten bei der Untersuchung von Proben in einem Bereich von 50 % - 150 % liegen. Diese Anforderung wurde bei insgesamt 12 Mittelwerten (4 x PFBA, 3 x PFOS und je 1 x PFNA, PFDA, PFOA, PFHxA und PFHxS) nicht erfüllt. Die entsprechenden Einzelwerte der Laboratorien, insgesamt 1,5 % aller Einzelwerte, konnten deshalb bei der Auswertung nicht berücksichtigt werden.

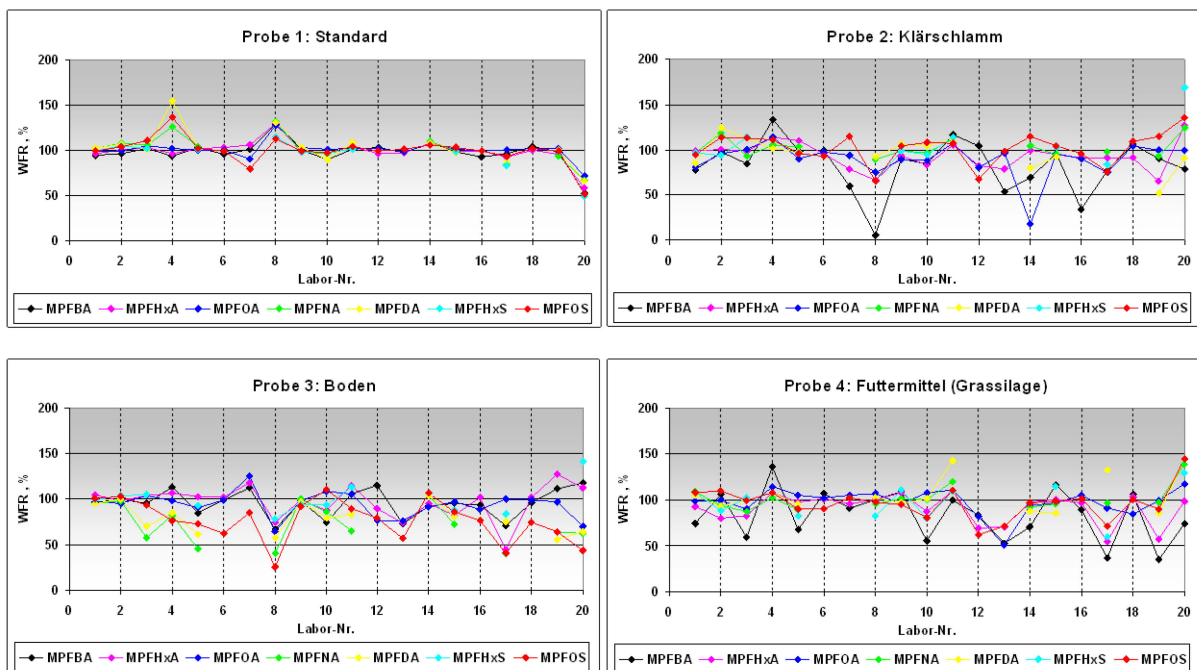


Bild 22 – Wiederfindungsraten interner Standardsubstanzen

10.4.2 Verfahrenskennndaten

Der Ringversuch wurde ausgewertet nach DIN 38402-42 bzw. DIN/ISO 5725-2. Die Tabellen 17 – 20 geben die Verfahrenskennndaten wieder.

Die Verfahrenskennndaten zeigen, dass der Ringversuch mit wenigen Ausnahmen für alle 4 Proben zufriedenstellend ausgefallen ist.

Die für die HPLC-MS/MS-Messung ermittelten Vergleichsvariationskoeffizienten liegen in einem Bereich von 10,5 % (PFBA) – 20,6 % (PFOS). Bis auf PFOS liegen die Werte unter 15 % und sind für die LC-MS typisch und akzeptabel. Zu hoch fällt lediglich der Wert für PFOS aus, wofür sich jedoch keine Erklärung ergibt (Tabelle 17). Die Wiederfindungsraten für PFPeA und PFHpA fallen mit rund 87 % zu gering aus. Die Wiederholvariationskoeffizienten sind zufriedenstellend und der Anteil an Ausreißern nicht zu hoch.

Tabelle 17 – Verfahrenskennndaten für die HPLC-MS/MS-Messung (Probe 1)

| Substanz | l | n | o | \bar{x} | X | η | s_R | $C_{V,R}$ | s_r | $C_{V,r}$ |
|----------|-----|-----|------|-----------|------|--------|-------|-----------|-------|-----------|
| PFBA | 19 | 76 | 5,0 | 91,6 | 100 | 91,6 | 9,63 | 10,5 | 2,09 | 2,3 |
| PFPeA | 19 | 76 | 5,0 | 88,7 | 101 | 87,9 | 10,61 | 12,0 | 2,27 | 2,6 |
| PFHxA | 18 | 72 | 5,3 | 98,6 | 102 | 96,7 | 11,10 | 11,3 | 2,22 | 2,3 |
| PFHpA | 20 | 80 | 0,0 | 88,7 | 102 | 87,0 | 11,49 | 12,9 | 2,96 | 3,3 |
| PFOA | 19 | 76 | 5,0 | 94,5 | 101 | 93,6 | 10,49 | 11,1 | 2,87 | 3,0 |
| PFNA | 18 | 72 | 10,0 | 98,9 | 99,4 | 99,5 | 14,03 | 14,2 | 2,71 | 2,7 |
| PFDA | 17 | 68 | 10,5 | 95,9 | 102 | 94,0 | 12,19 | 12,7 | 3,62 | 3,8 |
| PFBS | 19 | 76 | 5,0 | 96,1 | 99,6 | 96,5 | 11,02 | 11,5 | 3,54 | 3,7 |
| PFHxS | 19 | 76 | 0,0 | 100,0 | 100 | 100,0 | 12,77 | 12,8 | 2,84 | 2,8 |
| PFOS | 18 | 72 | 10,0 | 96,3 | 99,6 | 96,7 | 19,84 | 20,6 | 2,48 | 2,6 |

Legende:

l Anzahl der Laboratorien nach Ausreißereliminierung
 n Anzahl der Analysenergebnisse nach Ausreißereliminierung
 o Ausreißeranteil in %
 \bar{x} Gesamtmittelwert aller Analysenergebnisse (ohne Ausreißer) in ng/ml
 X Sollwert in ng/ml
 η Wiederfindungsrate in %
 s_R Vergleichsstandardabweichung in ng/ml
 $C_{V,R}$ Vergleichsvariationskoeffizient in %
 s_r Wiederholstandardabweichung in ng/ml
 $C_{V,r}$ Wiederholvariationskoeffizient in %

Insgesamt gesehen fallen die Vergleichsvariationskoeffizienten für die HPLC-MS/MS-Messung etwas höher aus als bei dem Ringversuch zu DIN 38407-42 (Bild 23). Das dürfte darauf zurückzuführen sein, dass die Probe 1 aus einer anderen Quelle stammt als die in den meisten Fällen verwendeten Lösungen für die Kalibrierung. Die Stoffe PFHxS und PFOS in der Probe 1 enthalten außerdem neben den unverzweigten auch verzweigte Isomere. Letzteres kann auch ein Grund für den höheren Vergleichsvariationskoeffizienten von PFOS bei Probe 1 sein.

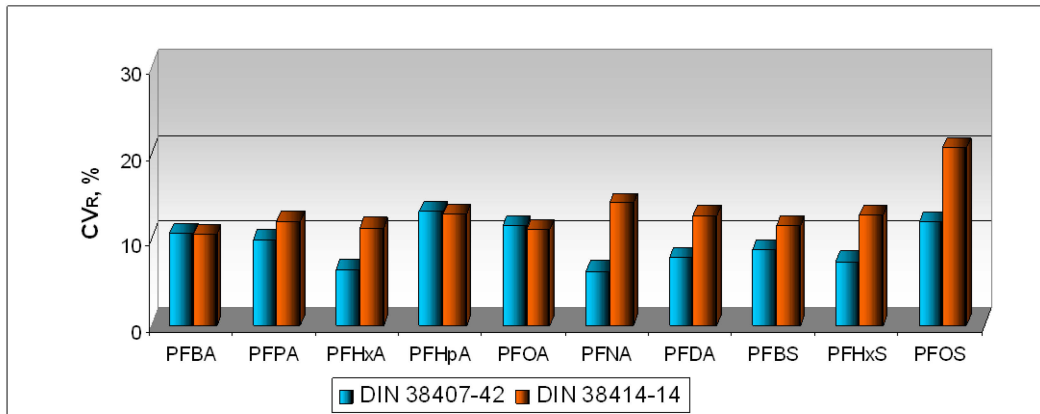


Bild 23 – Vergleichsvariationskoeffizienten für die HPLC-MS/MS-Messung (Standardlösung)

Tabelle 18 gibt die Kenndaten für die Matrix Klärschlamm wieder. Die Werte sind zufriedenstellend und der Anteil an Ausreißern meist gering. Die Massenanteile für PFBS und PFHxS lagen unterhalb von $10 \mu\text{g}/\text{kg m}_T$, so dass für diese Stoffe keine Kenndaten für die Matrix Klärschlamm angegeben werden können.

Tabelle 18 – Verfahrenskennndaten für die Matrix Klärschlamm (Probe 2)

| Parameter | <i>l</i> | <i>n</i> | <i>o</i> | \bar{x} | s_R | $C_{V,R}$ | s_f | $C_{V,f}$ |
|-----------|----------|----------|----------|-----------|-------|-----------|-------|-----------|
| PFBA | 15 | 59 | 18,1 | 65,7 | 6,86 | 10,4 | 2,05 | 3,1 |
| PFPeA | 20 | 80 | 0,0 | 39,6 | 8,46 | 21,4 | 2,27 | 5,7 |
| PFHxA | 20 | 80 | 0,0 | 115 | 13,5 | 11,8 | 3,53 | 3,1 |
| PFHpA | 19 | 76 | 5,0 | 70,0 | 13,0 | 18,6 | 2,44 | 3,5 |
| PFOA | 18 | 72 | 5,3 | 535 | 67,3 | 12,6 | 23,3 | 4,4 |
| PFNA | 20 | 80 | 0,0 | 111 | 19,6 | 17,7 | 4,23 | 3,8 |
| PFDA | 19 | 76 | 0,0 | 727 | 104,7 | 14,4 | 26,2 | 3,6 |
| PFOS | 20 | 80 | 0,0 | 275 | 42,1 | 15,3 | 13,1 | 4,8 |

Legende:

- l* Anzahl der Laboratorien nach Ausreißereliminierung
- n* Anzahl der Analysenergebnisse nach Ausreißereliminierung
- o* Ausreißeranteil in %
- \bar{x} Gesamtmittelwert aller Analysenergebnisse (ohne Ausreißer) in $\mu\text{g}/\text{kg m}_T$
- s_R Vergleichsstandardabweichung in $\mu\text{g}/\text{kg m}_T$
- $C_{V,R}$ Vergleichsvariationskoeffizient in %
- s_f Wiederholstandardabweichung in $\mu\text{g}/\text{kg m}_T$
- $C_{V,f}$ Wiederholvariationskoeffizient $\mu\text{g}/\text{kg m}_T$

Die Verfahrenskennndaten für die Matrix Boden fallen insgesamt gesehen ebenfalls zufriedenstellend aus (Tabelle 19). Auffallend ist lediglich der etwas höhere Vergleichsvariationskoeffizient für PFOA, der vermutlich auf eine gewisse Inhomogenität der Probe zurückzuführen ist (Bild 21).

Die Massenanteile für PFBS und PFHxS lagen unterhalb von $10 \mu\text{g}/\text{kg m}_T$, so dass für diese Stoffe keine Kenndaten für die Matrix Boden angegeben werden können.

Tabelle 19 – Verfahrenskennndaten für die Matrix Boden (Probe 3)

| Parameter | <i>l</i> | <i>n</i> | <i>o</i> | \bar{x} | <i>s_R</i> | <i>C_{V,R}</i> | <i>s_r</i> | <i>C_{V,r}</i> |
|-----------|----------|----------|----------|-----------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|
| PFBA | 19 | 76 | 5,0 | 198 | 27,9 | 14,1 | 7,97 | 4,0 |
| PFPeA | 19 | 76 | 5,0 | 50,9 | 5,59 | 11,0 | 2,40 | 4,7 |
| PFHxA | 19 | 76 | 0,0 | 73,7 | 15,3 | 20,7 | 3,35 | 4,5 |
| PFHpA | 17 | 68 | 15,0 | 126 | 28,3 | 22,5 | 6,17 | 4,9 |
| PFOA | 18 | 72 | 10,0 | 1357 | 470,5 | 34,7 | 94,9 | 7,0 |
| PFNA | 10 | 39 | 0,0 | 10,7 | 2,23 | 20,9 | 0,74 | 6,9 |
| PFDA | 17 | 68 | 10,5 | 25,0 | 5,57 | 22,2 | 1,25 | 5,0 |
| PFOS | 17 | 68 | 0,0 | 4050 | 575,1 | 14,2 | 174,2 | 4,3 |

Legende: siehe Tabelle 18

Mit der Untersuchung einer Futtermittelprobe sollte gezeigt werden, dass das Analysenverfahren auch für andere Anwendungsbereiche eingesetzt werden kann.

Tabelle 20 zeigt, dass die Verfahrenskennndaten im gleichen Bereich liegen, wie die für Klärschlamm und Boden ermittelten Werte.

Tabelle 20 – Verfahrenskennndaten für die Matrix Grassilage/Futtermittel (Probe 4)

| Parameter | <i>l</i> | <i>n</i> | <i>o</i> | \bar{x} | <i>s_R</i> | <i>C_{V,R}</i> | <i>s_r</i> | <i>C_{V,r}</i> |
|-----------|----------|----------|----------|-----------|----------------------|------------------------|----------------------|------------------------|
| PFBA | 17 | 68 | 0,0 | 175 | 29,2 | 16,8 | 5,98 | 3,4 |
| PFPeA | 20 | 80 | 0,0 | 67,9 | 15,7 | 23,1 | 2,91 | 4,3 |
| PFHxA | 20 | 80 | 0,0 | 59,3 | 10,8 | 18,2 | 2,50 | 4,2 |
| PFHpA | 19 | 76 | 0,0 | 19,4 | 4,41 | 22,8 | 0,99 | 5,1 |
| PFOA | 18 | 72 | 10,0 | 74,0 | 10,9 | 14,8 | 2,38 | 3,2 |
| PFBS | 18 | 72 | 10,0 | 104 | 19,1 | 18,4 | 4,39 | 4,2 |
| PFHxS | 20 | 80 | 0,0 | 190 | 33,2 | 17,5 | 7,71 | 4,1 |
| PFOS | 20 | 80 | 0,0 | 320 | 60,4 | 18,9 | 13,90 | 4,3 |

Legende: siehe Tabelle 18

Bild 24 gibt eine Übersicht zu den festgestellten Ausreißern und zeigt, dass wie schon beim Ringversuch DIN 38407-42 überwiegend Ausreißer vom Typ C (zu hohe laborinterne Standardabweichung der Einzelwerte) auftreten. Sie sind nicht auf einzelne Laborwerte, sondern auf eine grundsätzlich zu hohe Streuung aller Einzelwerte einer Proben-Parameterkombination zurückzuführen, wie der geringe Anteil an Ausreißern vom Typ A signalisiert. Die Verteilung der Ausreißer vom Typ C macht deutlich, dass sie weder substanz- noch probenspezifisch sind. Vielmehr ist zu vermuten, dass die hohen laborinternen Wiederholstandardabweichungen auf nicht optimale Konditionen des Massenspektrometers, z.B. wegen Verschmutzung, zurückzuführen sind. So stammen mehr als die Hälfte aller Ausreißer vom Typ C vom Labor Nr. 20. Auch die Ausreißer vom Typ B treten nur bei einem Labor auf.

| Proben | Labor-Nr. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | | |
|------------------------------|-----------|---|---|---|----|---|---|---|----|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Probe 1 Standard | PFBA | C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | PFPeA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | C |
| | PFHxA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | C |
| | PFHpA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | C |
| | PFOA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | C |
| | PFNA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | C |
| | PFDA | | | | IS | | | | B | | | | | | | | | | | | | | C |
| | PFBS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | C |
| | PFHxS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | IS |
| | PFOS | C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | C |
| Probe 2 Klärschlamm | PFBA | | | | | C | | | IS | | A | | | C | | | IS | | | | | C | |
| | PFPeA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | PFHxA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | PFHpA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | C |
| | PFOA | | | | | | | | B | | | | | | | | IS | | | | | | |
| | PFNA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | PFDA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | PFBS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | PFHxS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | PFOS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Probe 3 Boden | PFBA | | | | | C | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | PFPeA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | C |
| | PFHxA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | PFHpA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | C |
| | PFOA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | C |
| | PFNA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | C |
| | PFDA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | C |
| | PFBS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | PFHxS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | PFOS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | IS |
| Probe 4 Futtermittel | PFBA | | | | | C | | | | | | | | | | | | | | | | IS | IS |
| | PFPeA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | PFHxA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | PFHpA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | PFOA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | C |
| | PFNA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | PFDA | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | PFBS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | PFHxS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | PFOS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Labor-Nr | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | | |
| WFR ISTD < 50 % oder > 150 % | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 4 | 0 | 1 | 2 | | |
| Anzahl Ausreißer Typ A | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Anzahl Ausreißer Typ B | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Anzahl Ausreißer Typ C | 2 | 0 | 0 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 14 | |

Bild 24 – Übersicht zu Ausreißern und nicht erfüllten Vorgaben für interne Standardsubstanzen

10.5 Graphische Darstellung der Ergebnisse des Ringversuchs

Ausreißerwerte sind in den Graphiken kenntlich gemacht.

10.5.1 Graphiken zu Probe 1 – Standardlösung

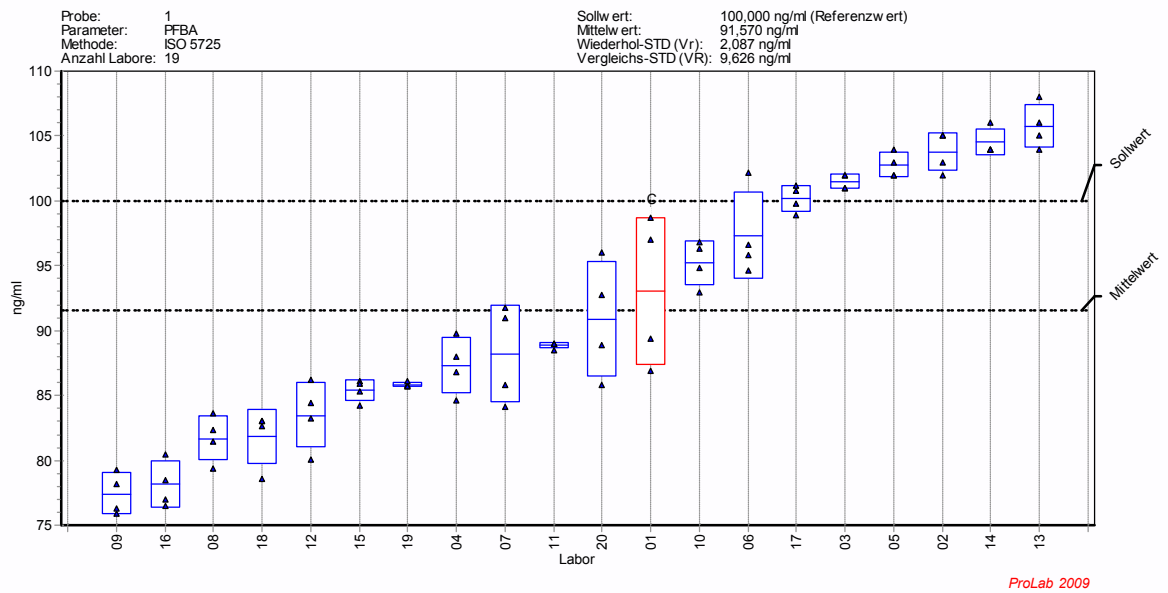


Bild 25.1 – PFBA, Probe 1

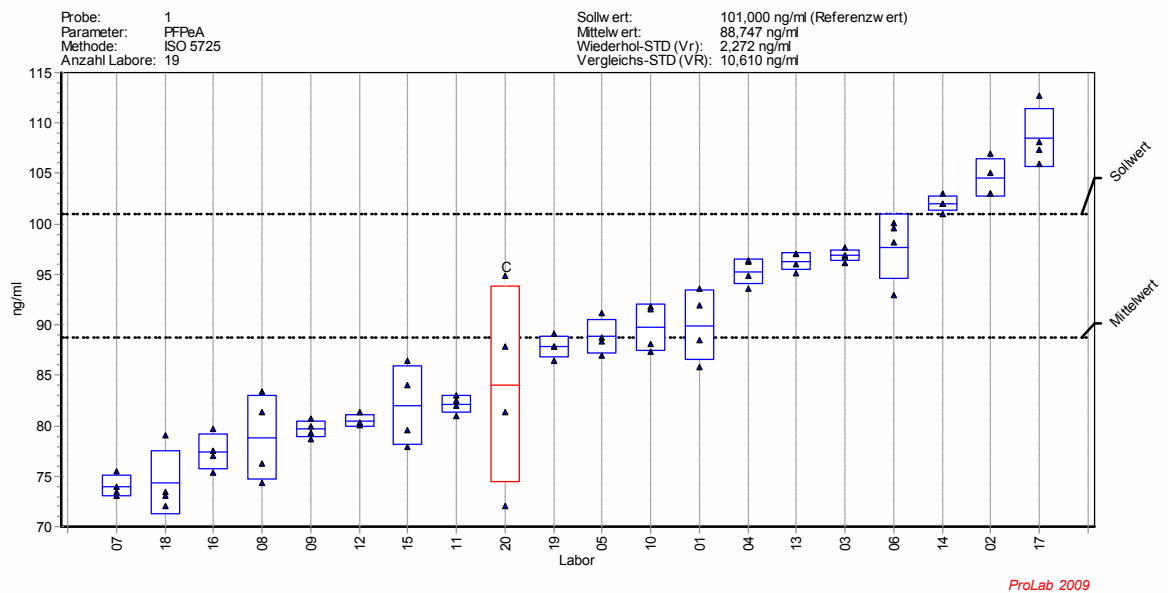


Bild 25.2 – PFPeA, Probe 1

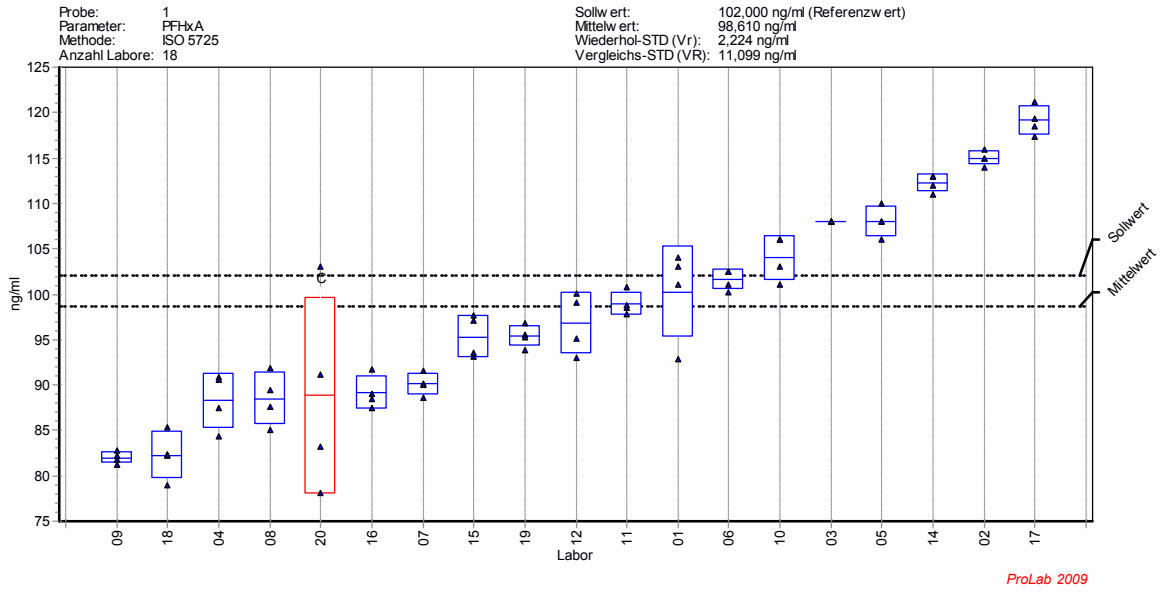


Bild 25.3 – PFHxA, Probe 1

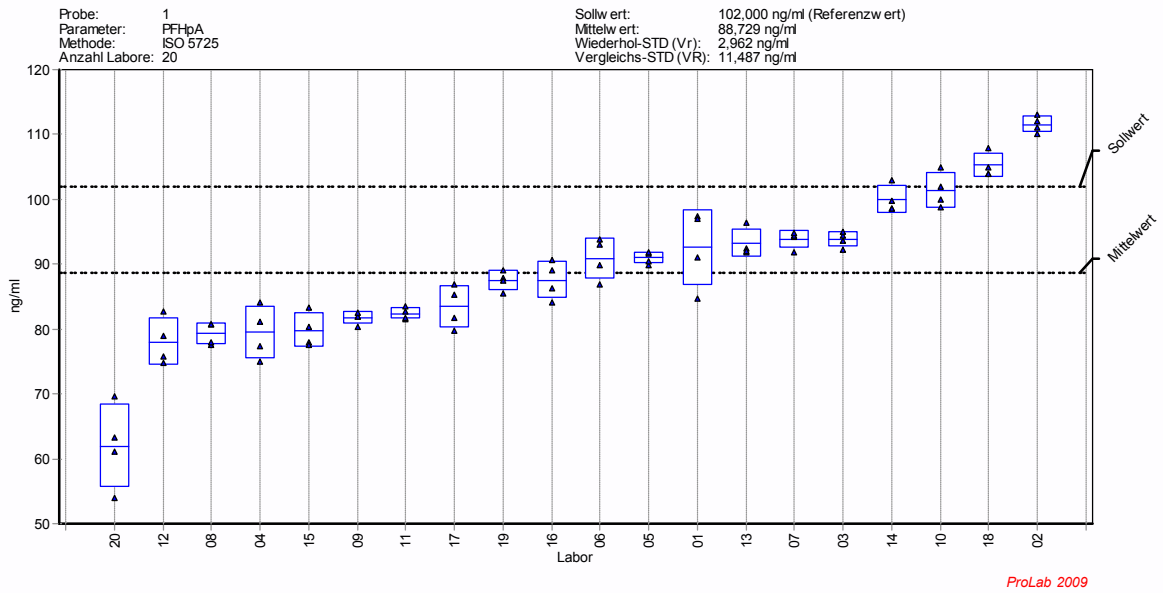


Bild 25.4 – PFHpA, Probe 1

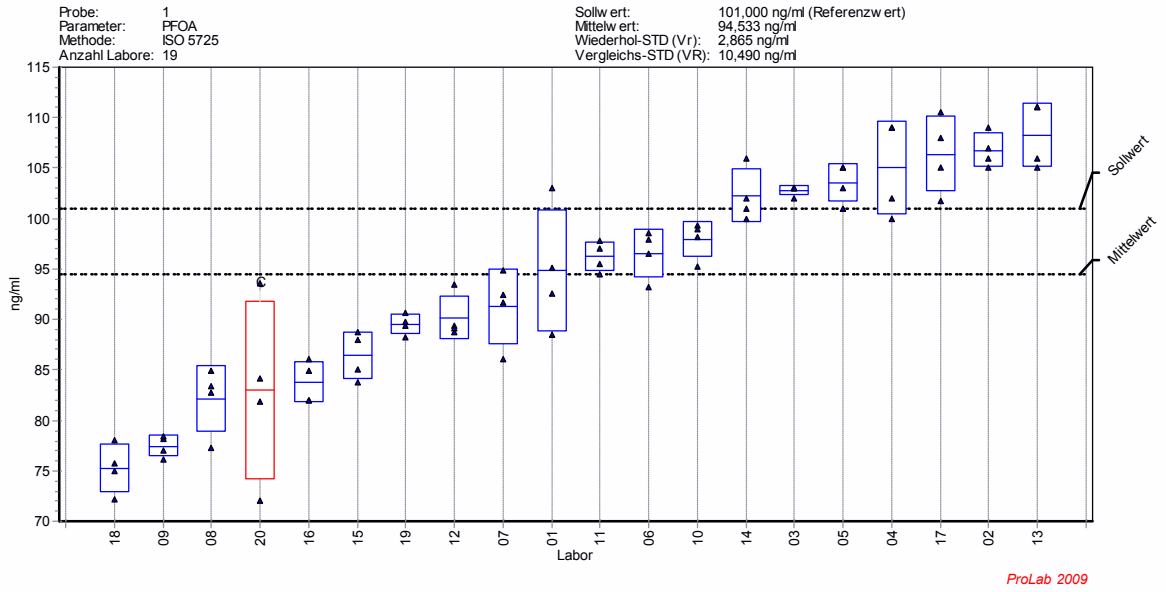


Bild 25.5 – PFOA, Probe 1

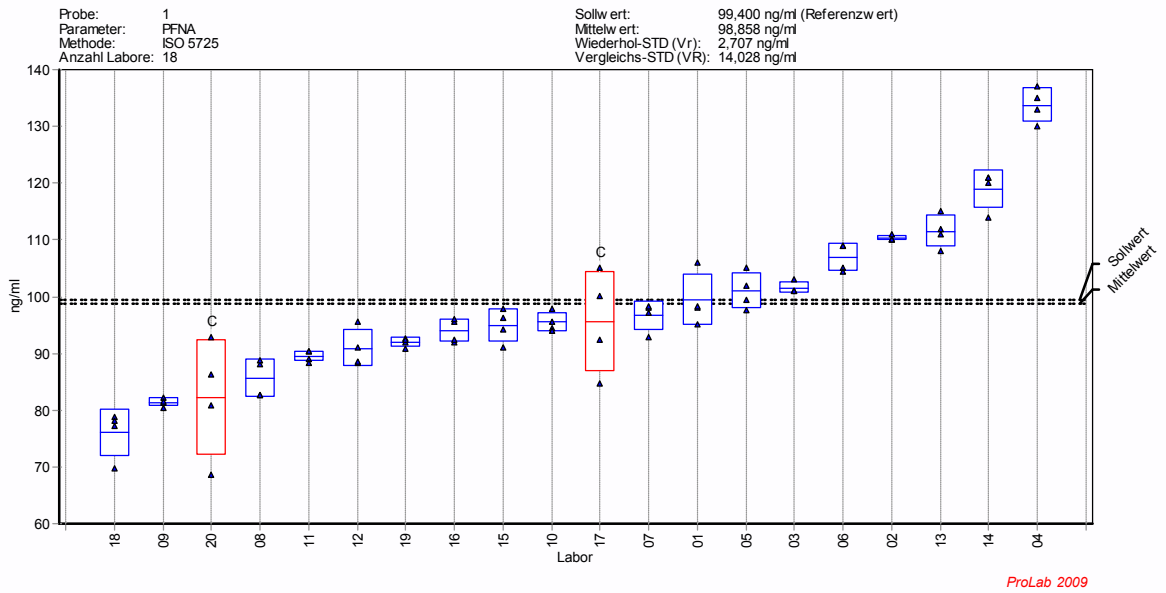


Bild 25.6 – PFNA, Probe 1

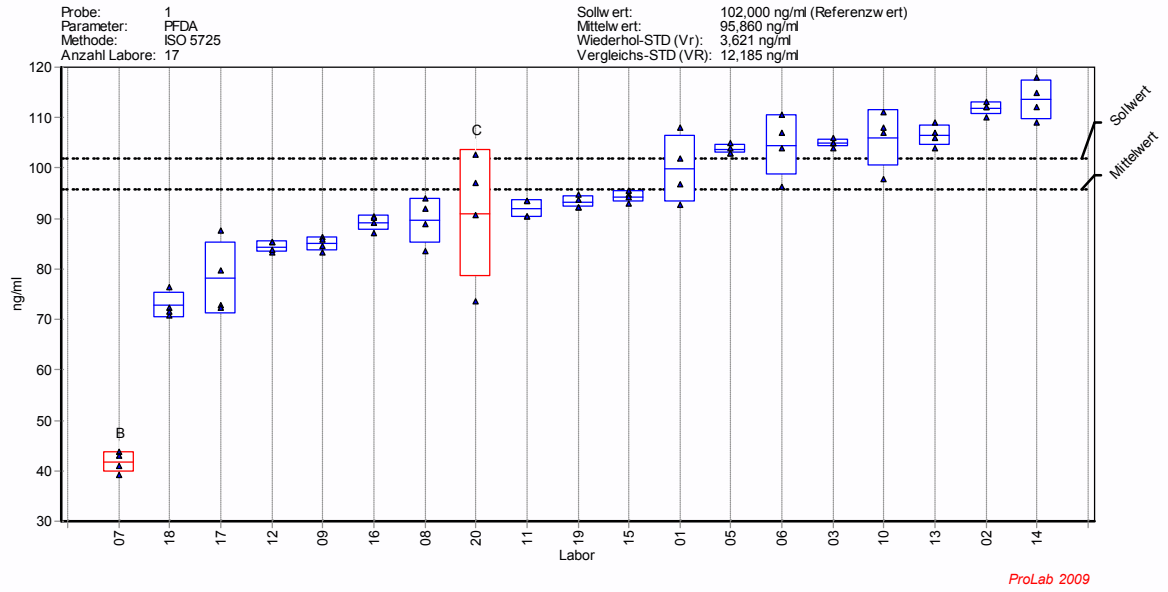


Bild 25.7 – PFDA, Probe 1

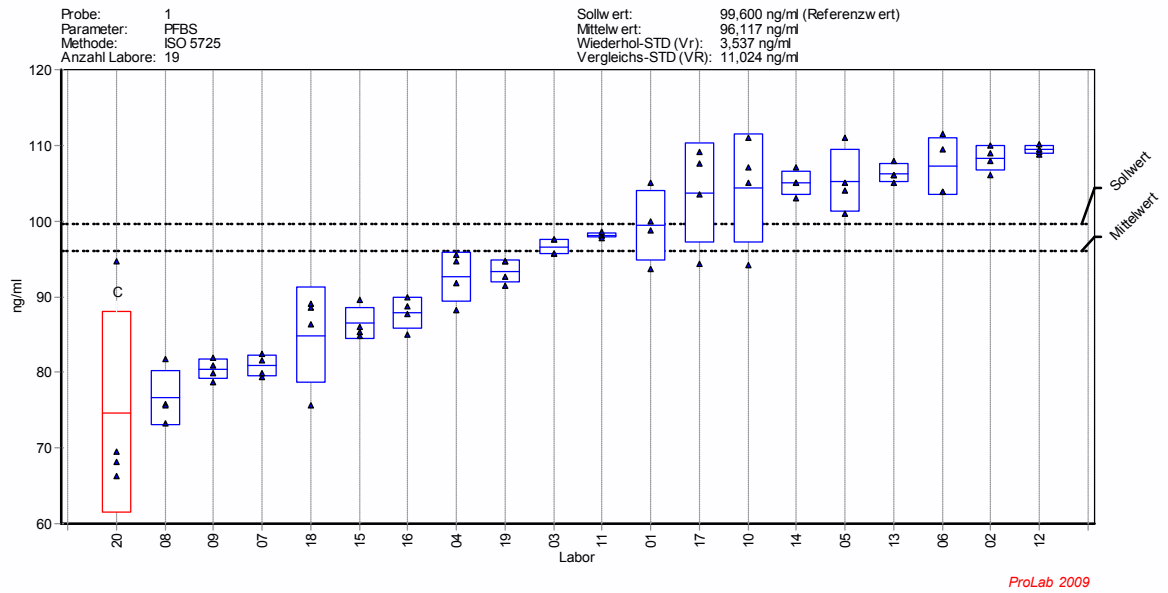


Bild 25.8 – PFBS, Probe 1

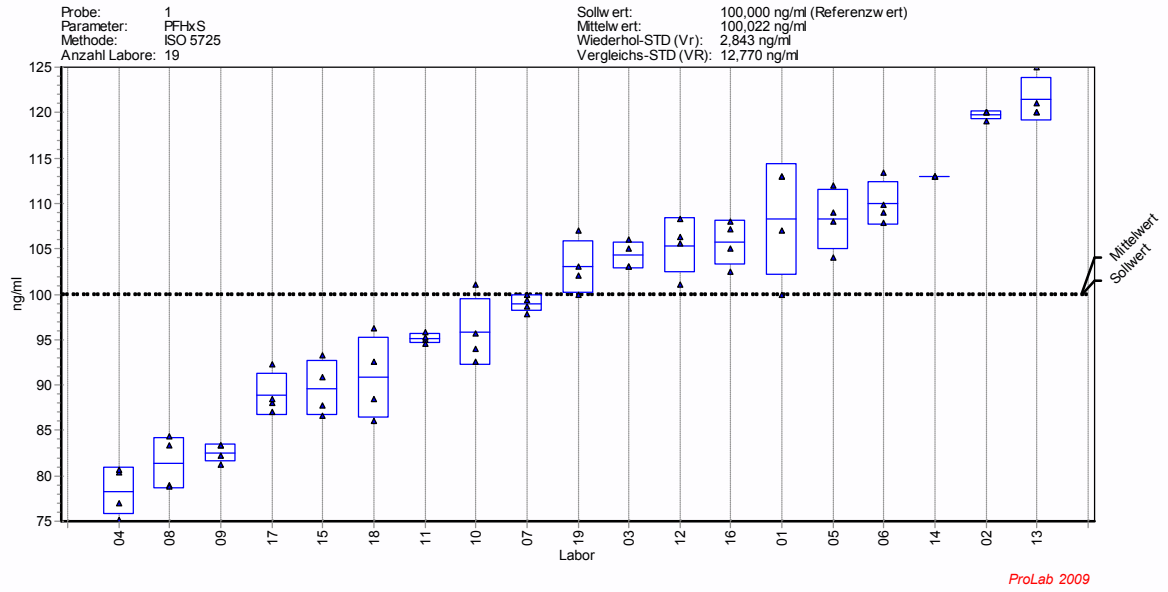


Bild 25.9 – PFHxS, Probe 1

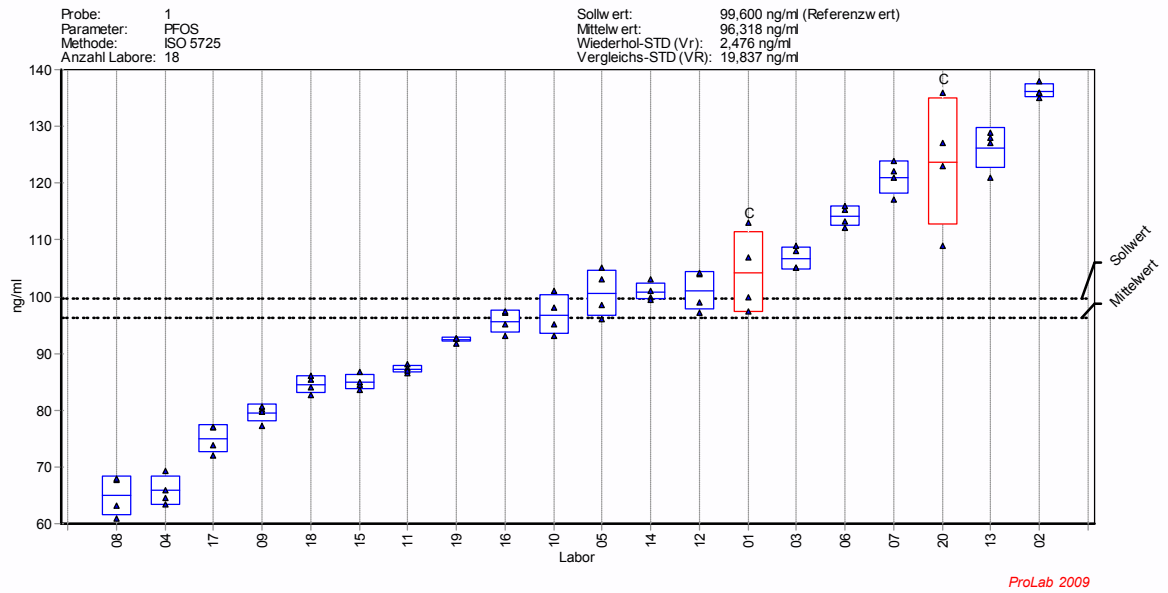


Bild 25.10 – PFOS, Probe 1

10.5.2 Graphiken zu Probe 2 – Klärschlamm

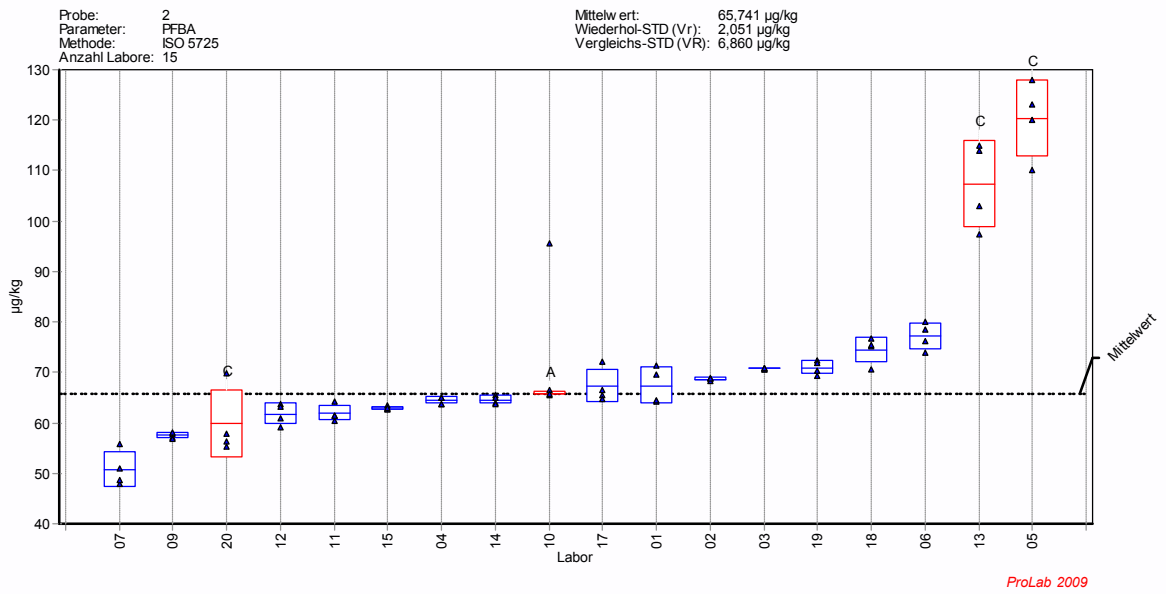


Bild 26.1 – PFBA, Probe 2

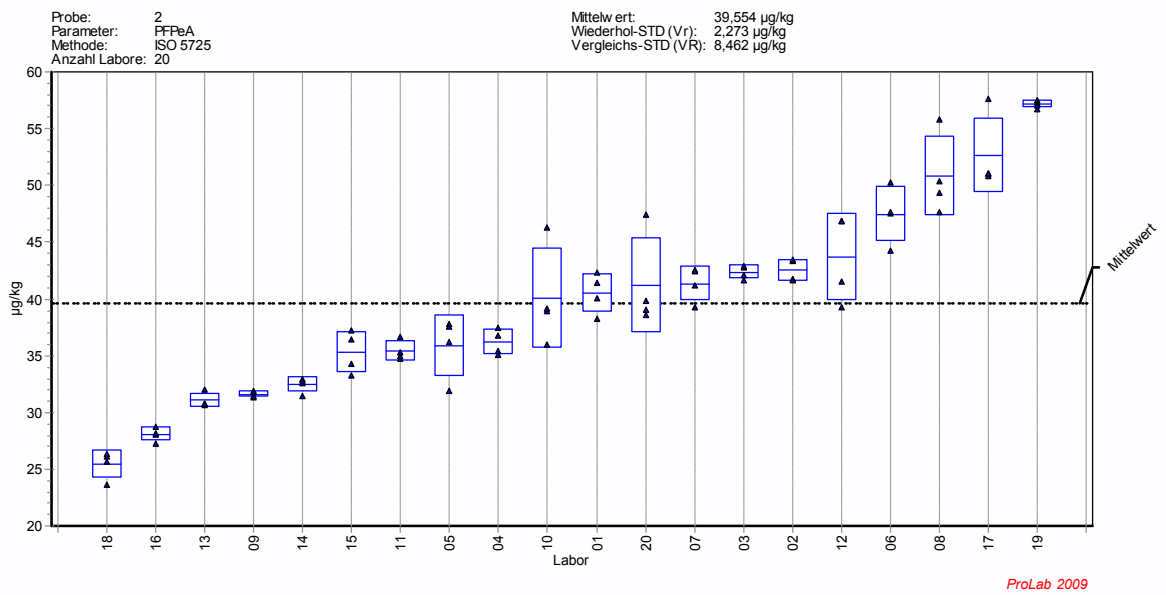


Bild 26.2 – PFPeA, Probe 2

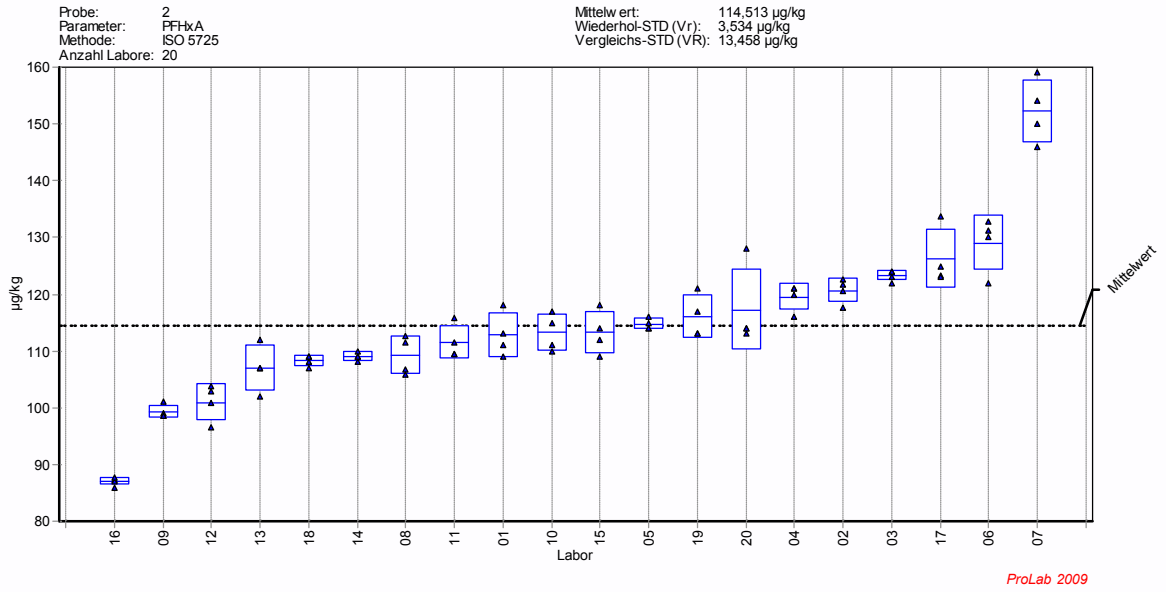


Bild 26.3 – PFHxA, Probe 2

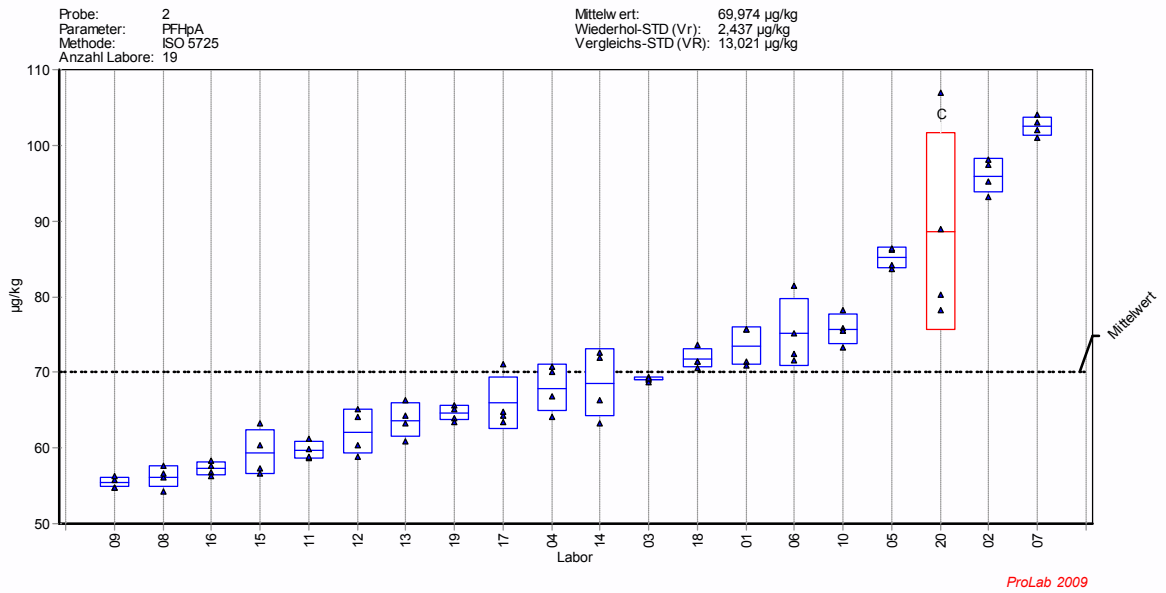


Bild 26.4 – PFHpA, Probe 2

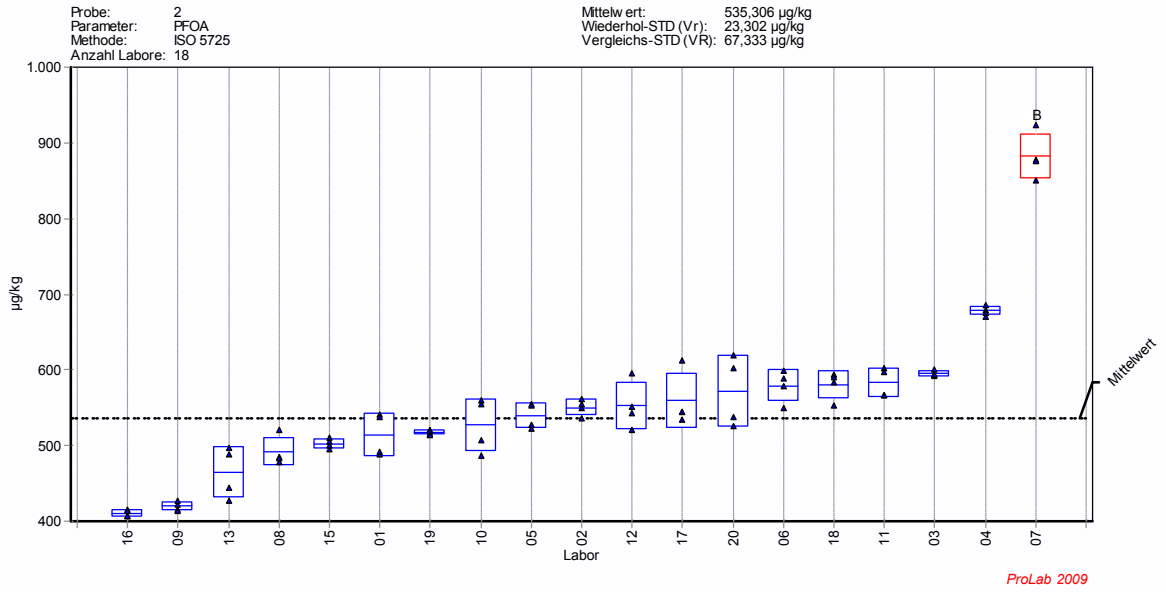


Bild 26.5 – PFOA, Probe 2

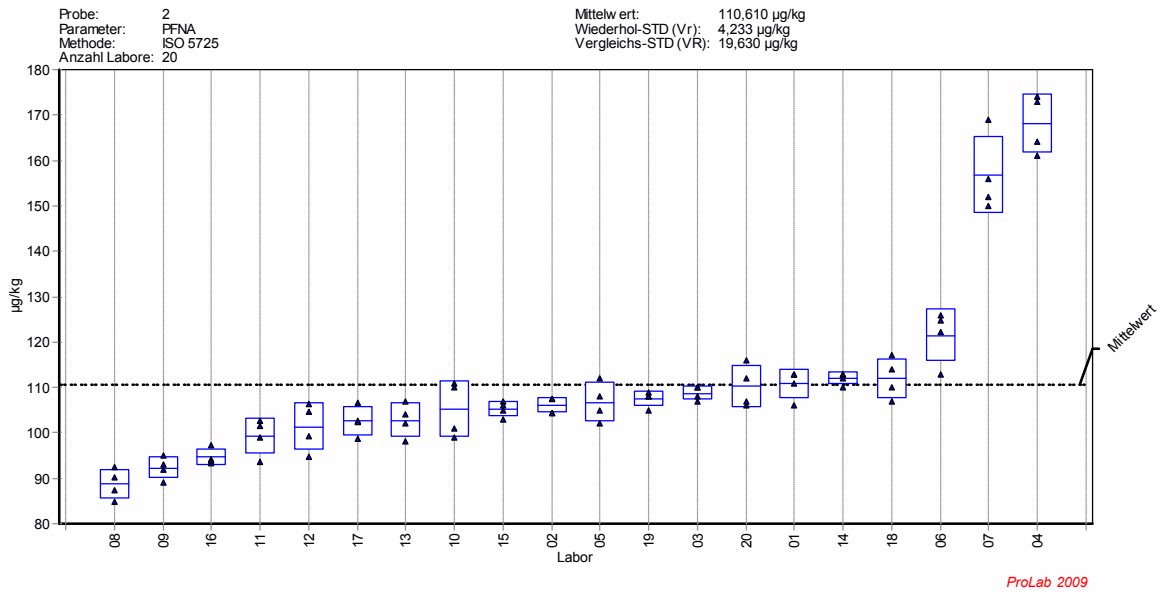


Bild 26.6 – PFNA, Probe 2

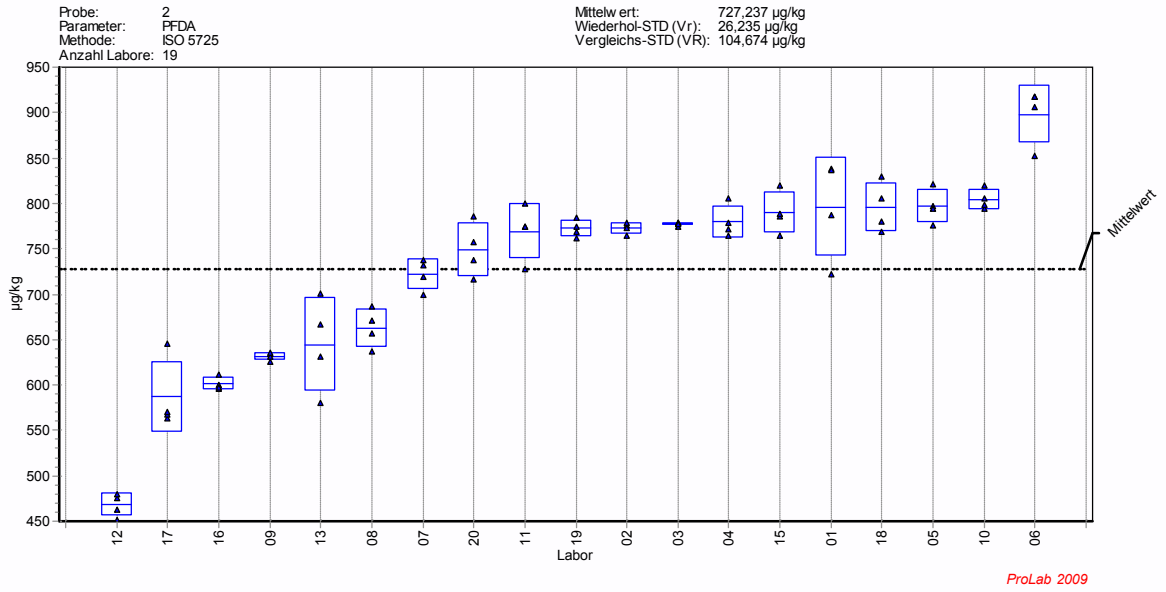


Bild 26.7 – PFDA, Probe 2

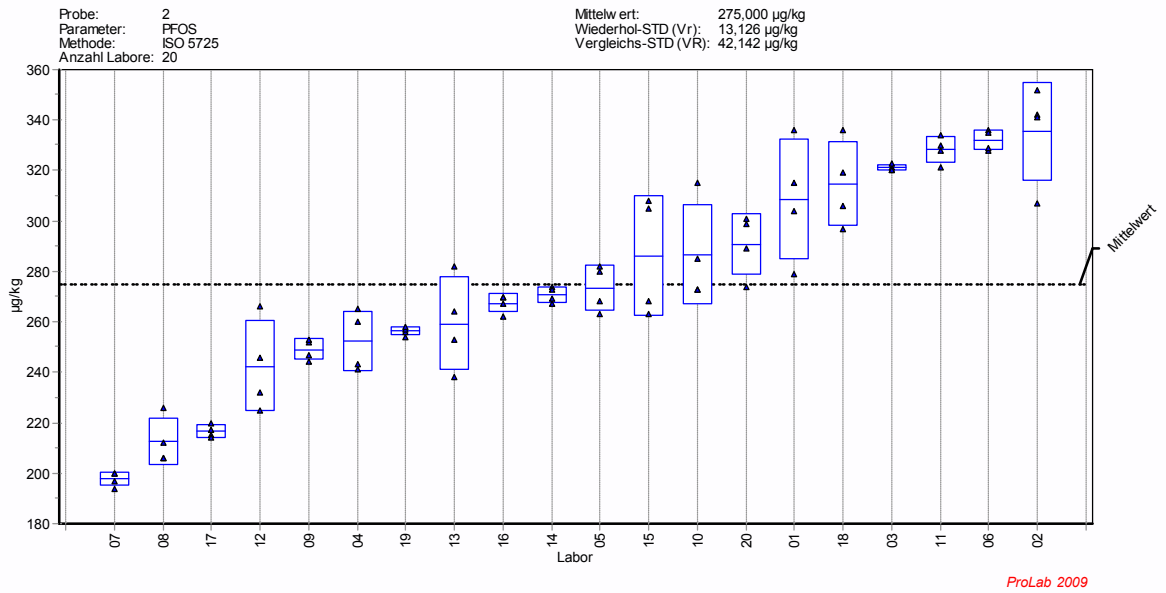


Bild 26.8 – PFOS, Probe 2

10.5.3 Graphiken zu Probe 3 – Boden

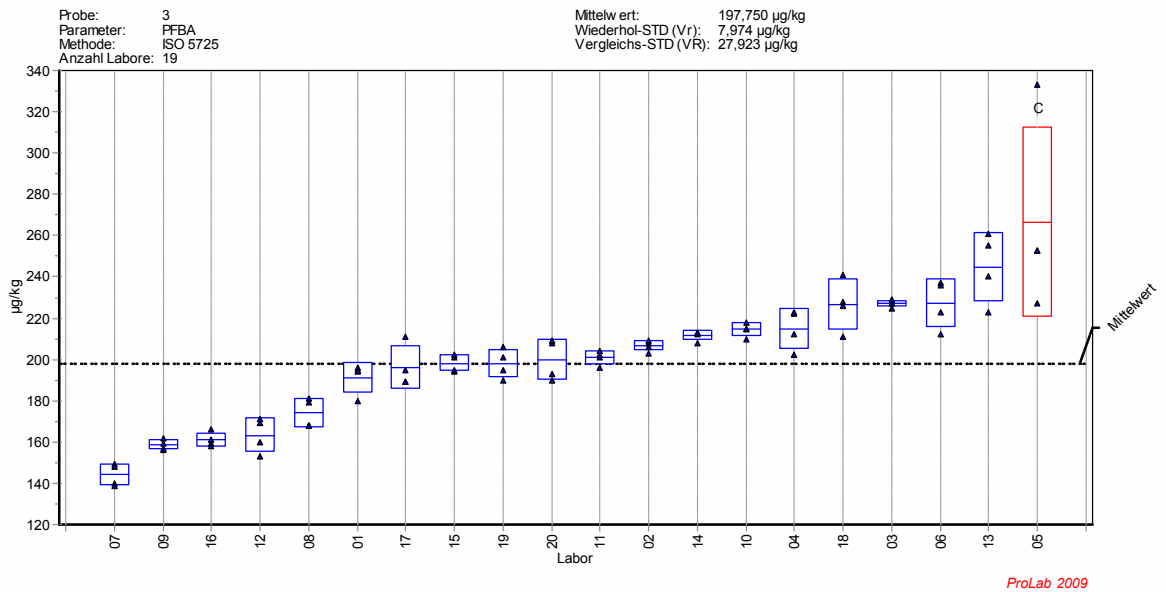


Bild 27.1 – PBFA, Probe 3

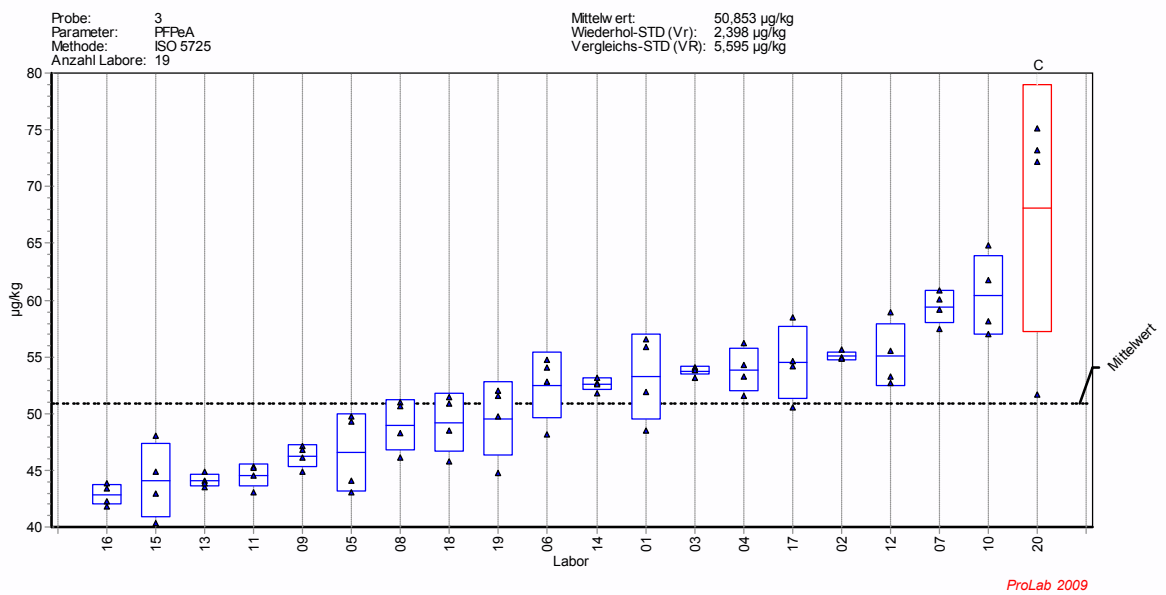


Bild 27.2 – PFPeA, Probe 3

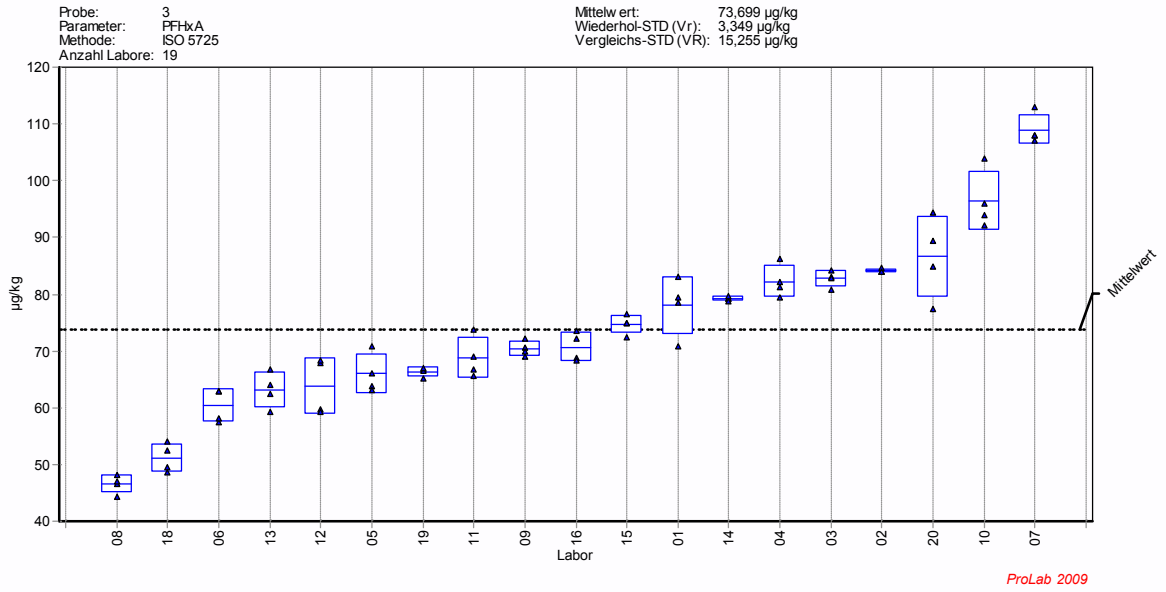


Bild 27.3 – PFHxA, Probe 3

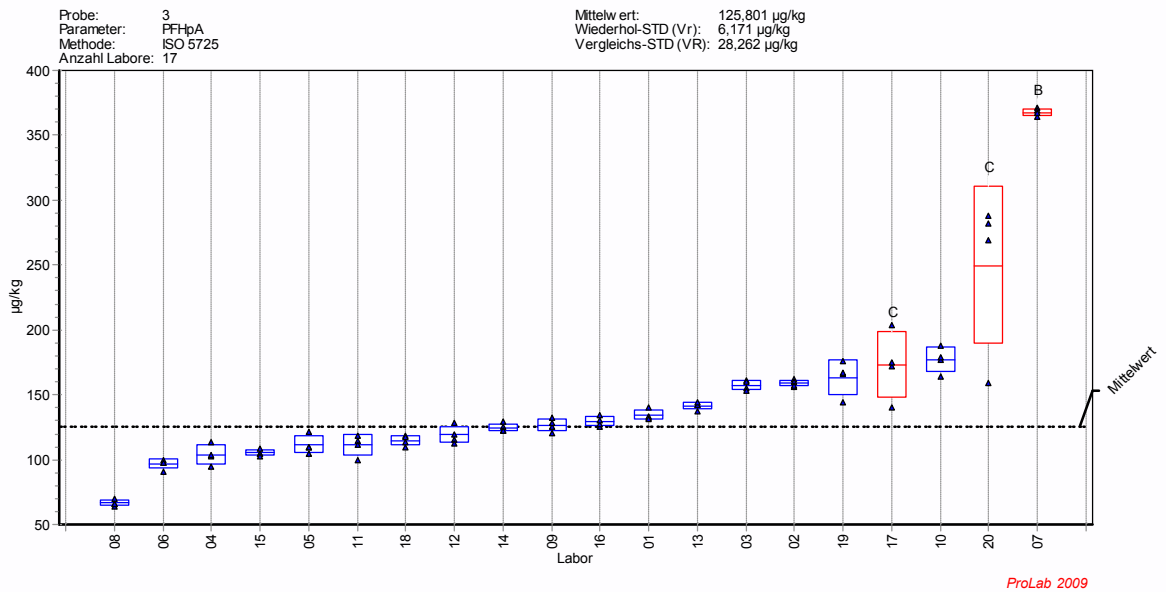


Bild 27.4 – PFHpA, Probe 3

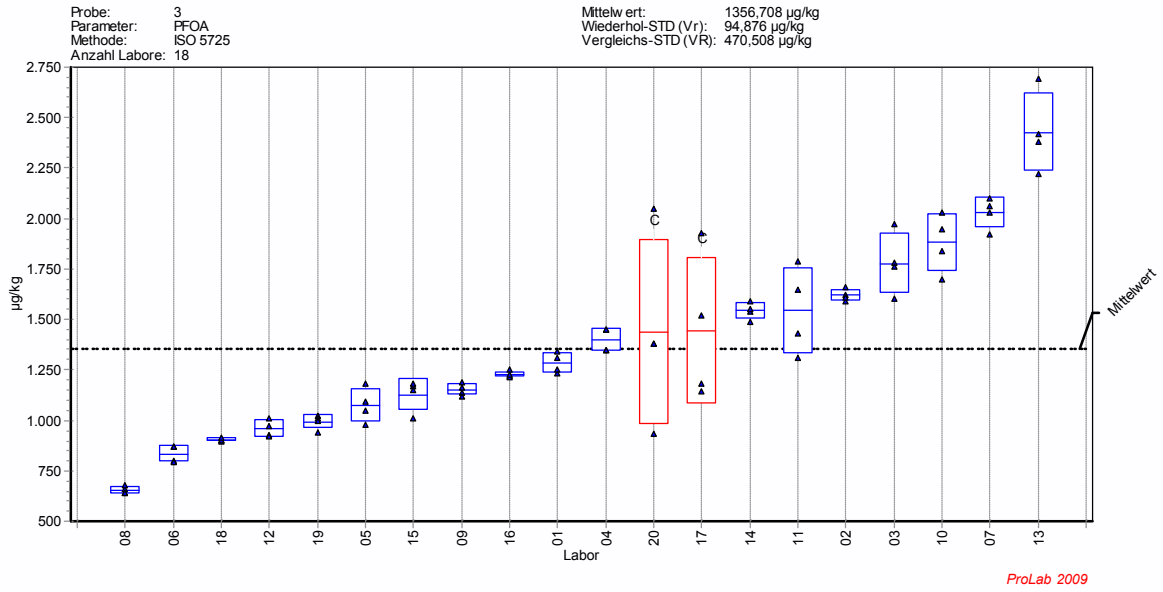


Bild 27.5 – PFOA, Probe 3

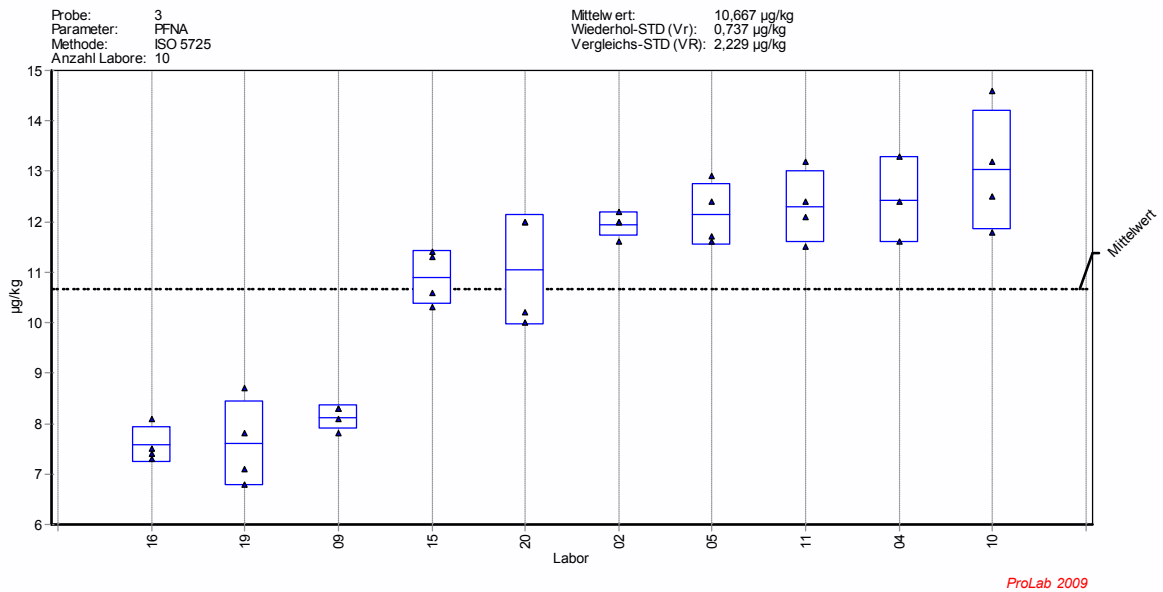


Bild 27.6 – PFNA, Probe 3

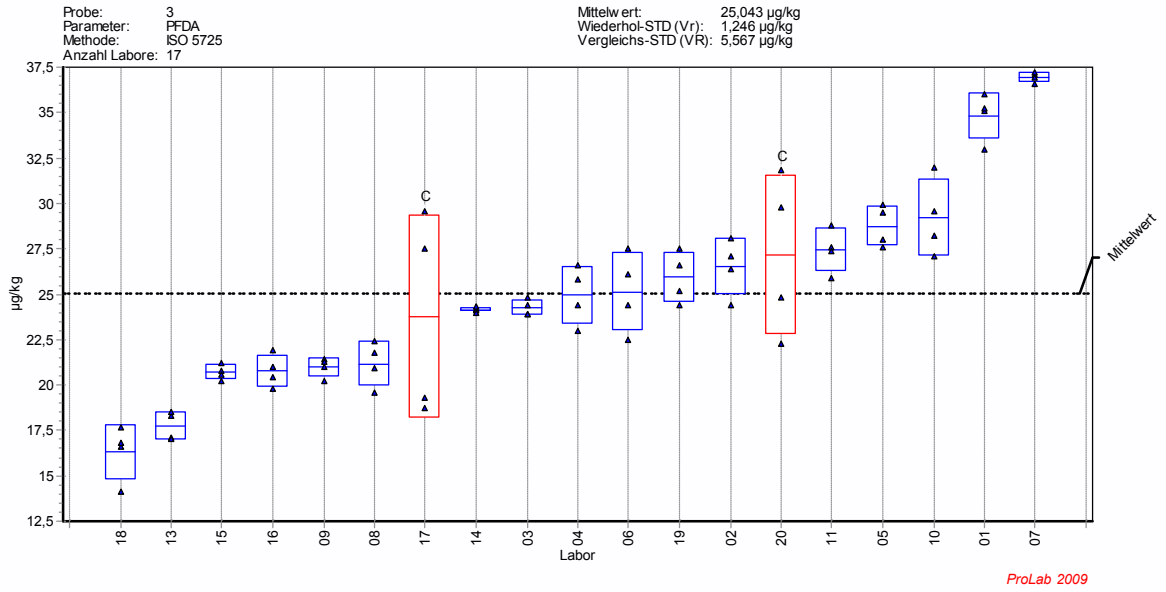


Bild 27.7 – PFDA, Probe 3

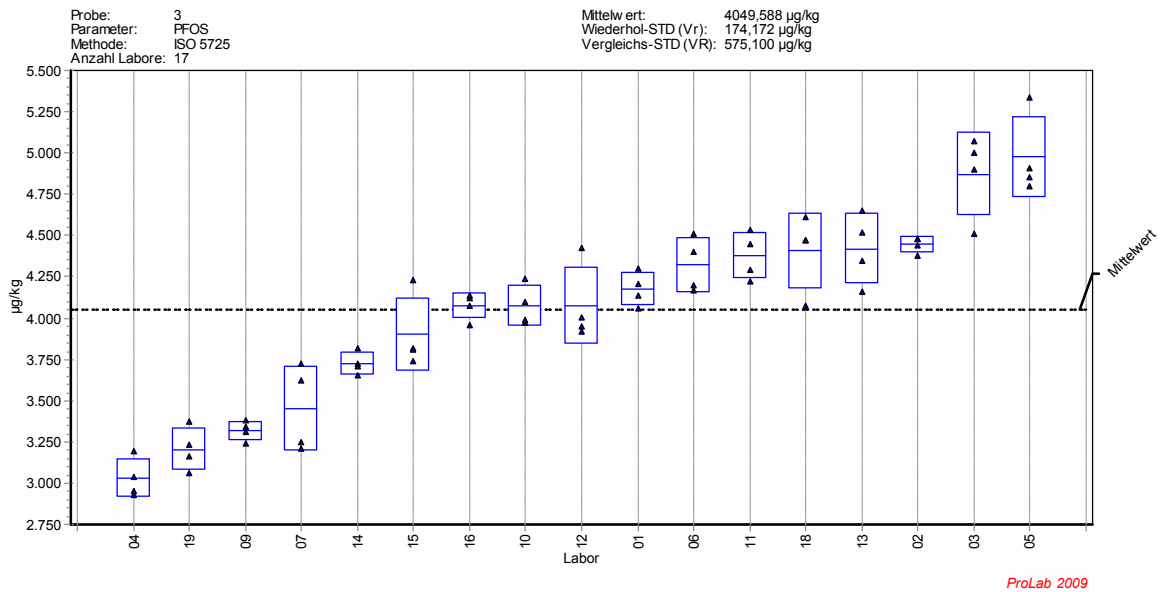


Bild 27.8 – PFOS, Probe 3

10.5.4 Graphiken zu Probe 4 – Grassilage (Futtermittel)

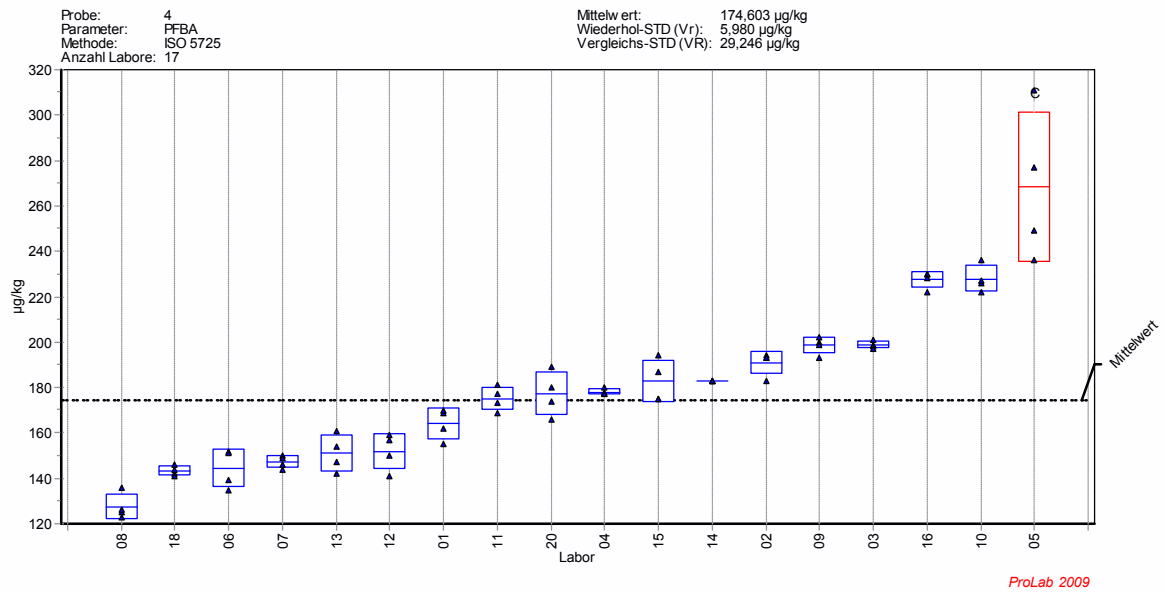


Bild 28.1 – PFBA, Probe 4

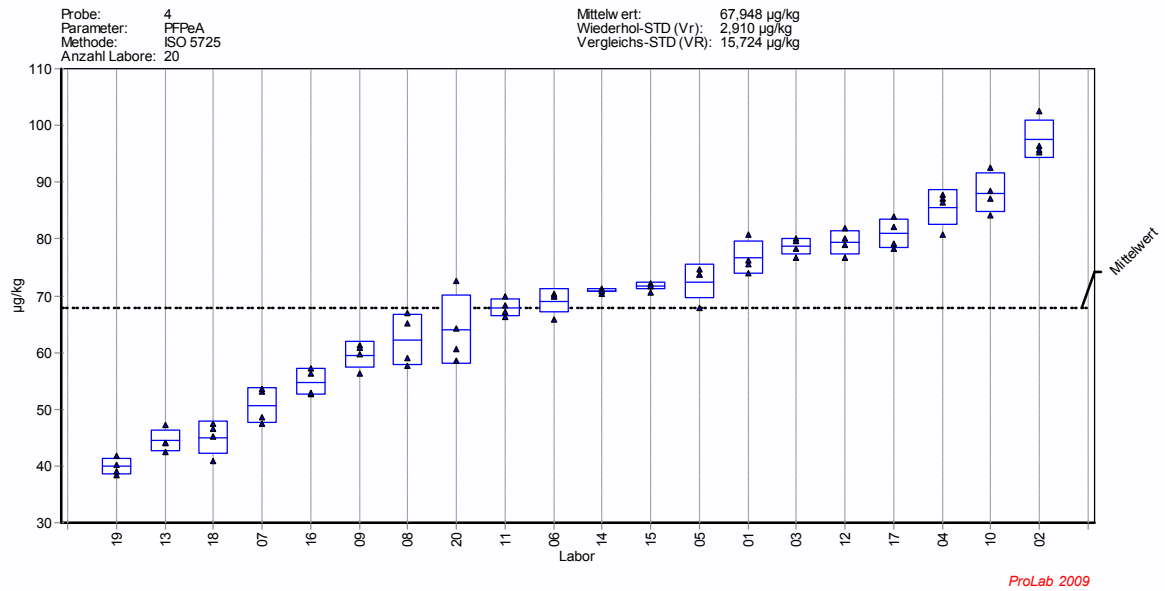


Bild 28.2 – PFPeA, Probe 4

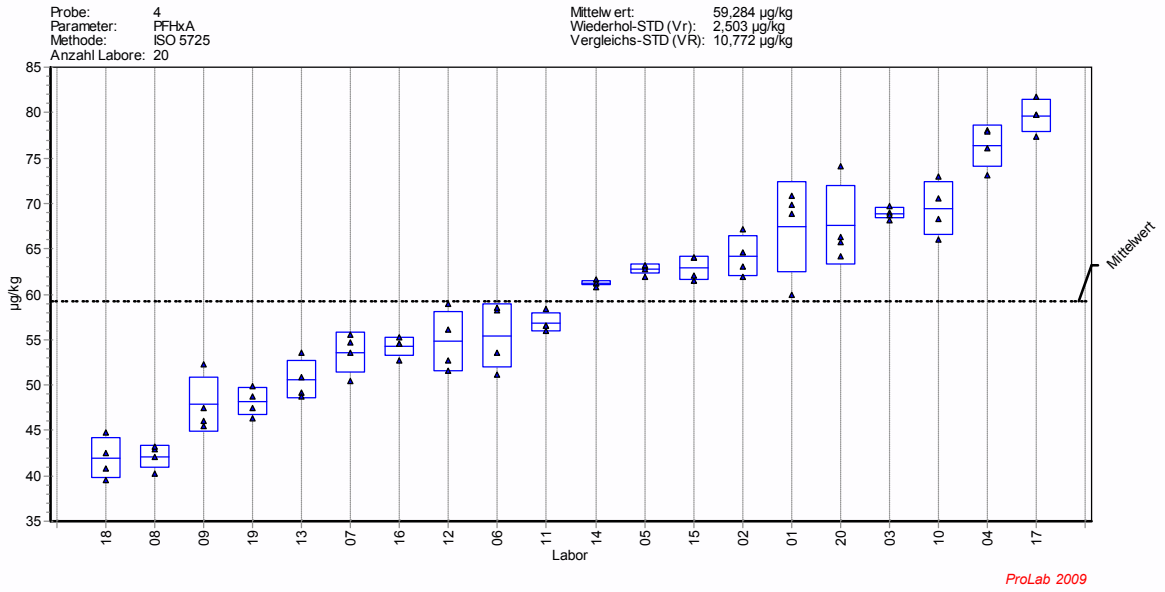


Bild 28.3 – PFHxA, Probe 4

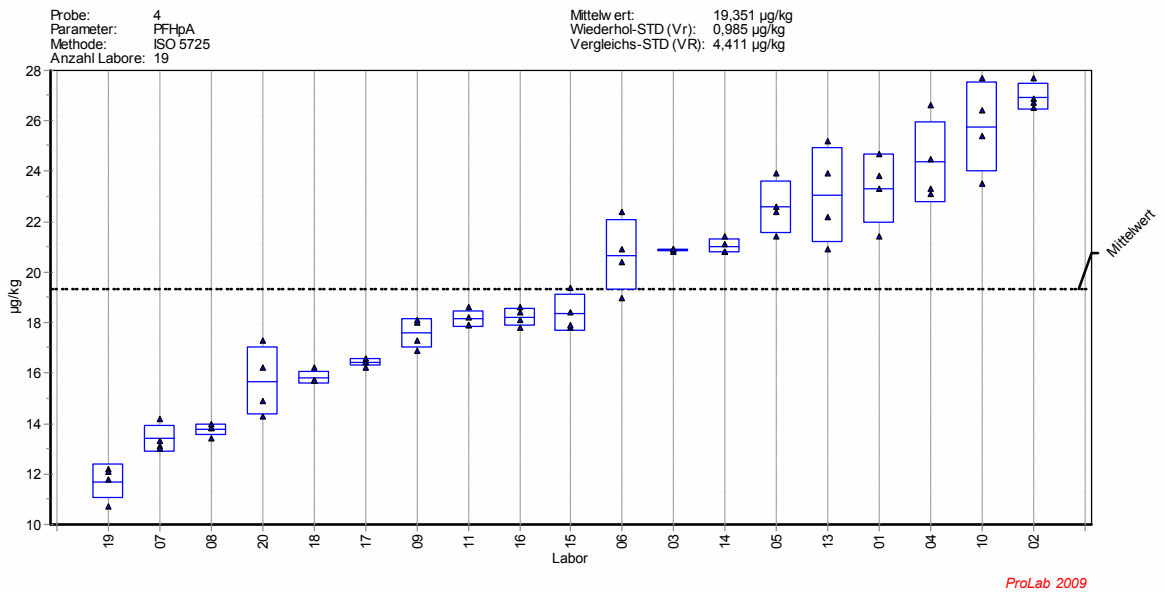


Bild 28.4 – PFHpA, Probe 4

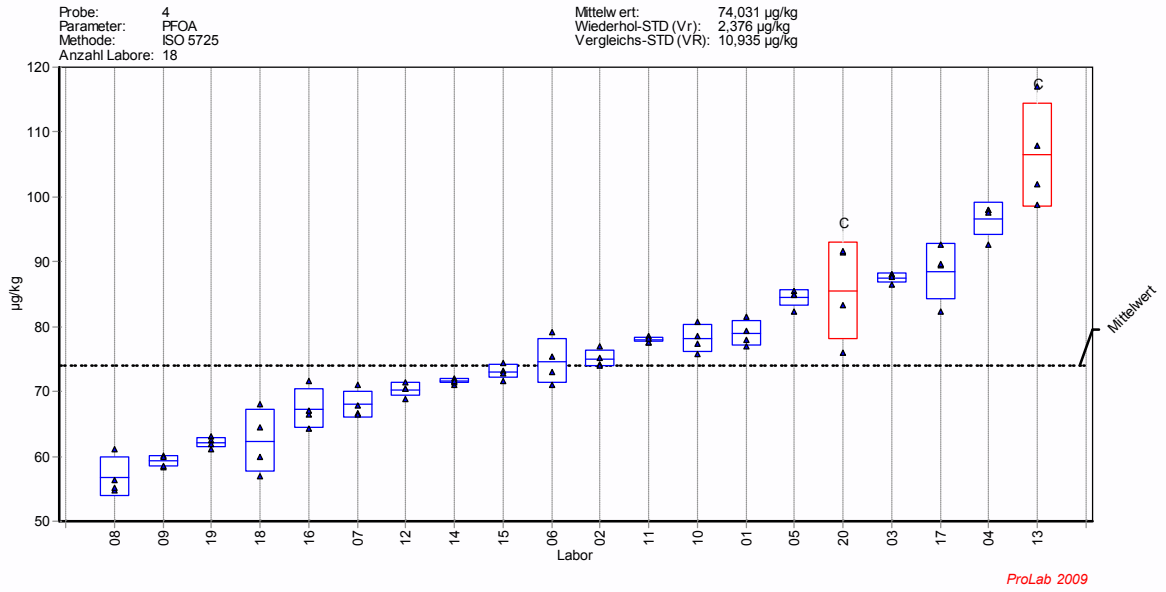


Bild 28.5 – PFOA, Probe 4

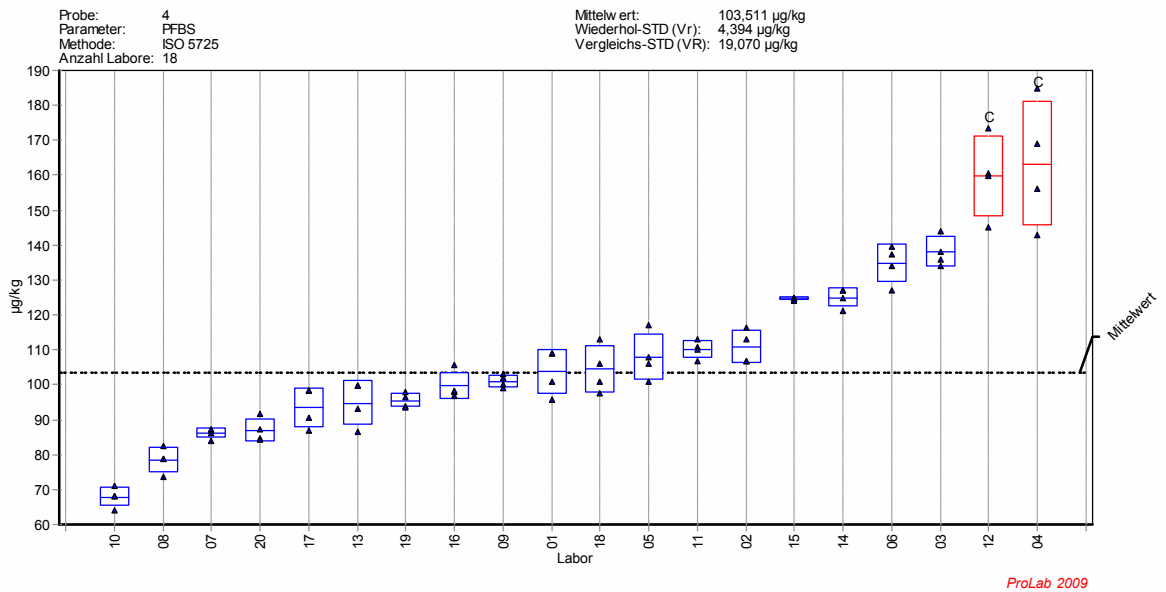


Bild 28.6 – PFBS, Probe 4

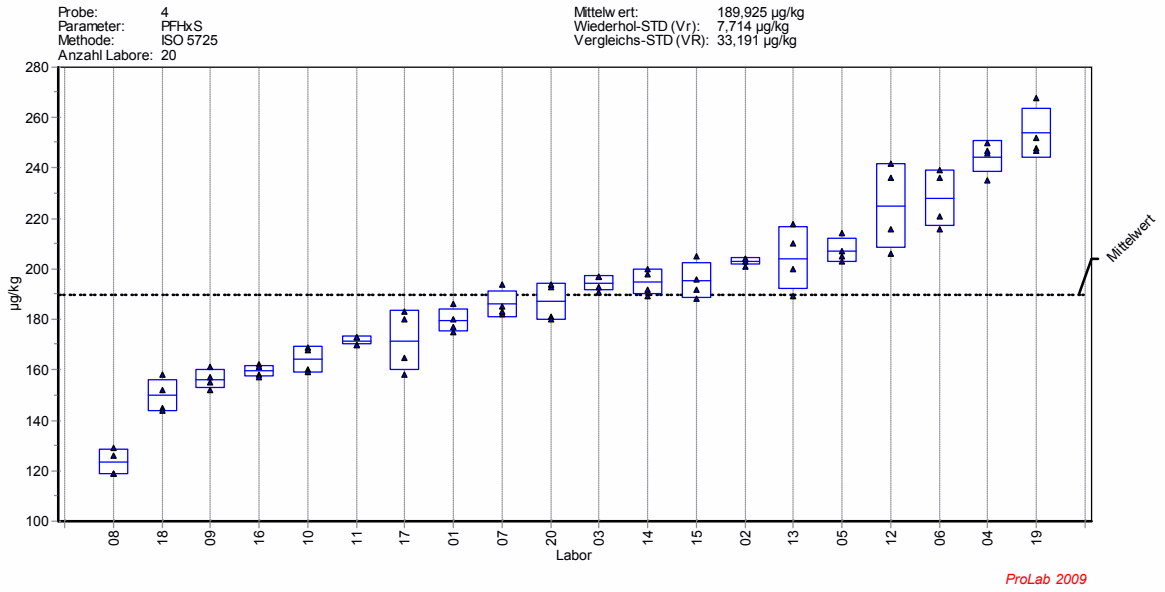


Bild 28.7 – PFHxS, Probe 4

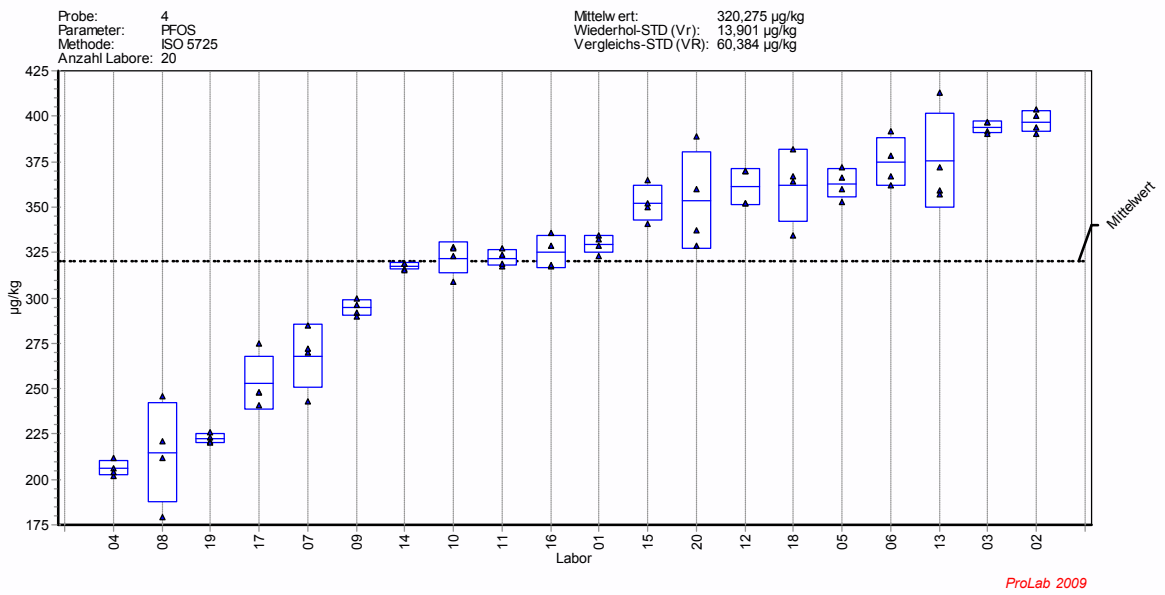


Bild 28.8 - PFOS, Probe 4

11 Auswertung

Bei der Auswertung wird jeweils die gesamte Peakfläche aller detektierten Isomere eines Analyten ermittelt und über die Kalibrierung der entsprechenden unverzweigten Komponente ausgewertet.

Diese Regelung wurde vereinbart, um die verzweigten Isomere bei der Quantifizierung zu berücksichtigen, da ihre Anteile besonders bei PFOS maßgeblich sein können und eine chromatographische Trennung aller Isomere unter den üblichen Bedingungen nicht möglich ist. Hinzu kommt, dass die notwendigen Reinsubstanzen für die Kalibrierung für die meisten Isomere nicht zur Verfügung stehen.

Tabelle 21 zeigt am Beispiel einiger typischer Proben, dass die Peakflächen der verzweigten Isomere bei PFOS durchaus in der Größenordnung der unverzweigten Komponente und zum Teil darüber liegen können. Bei den übrigen Stoffen ist der Anteil an verzweigten Isomeren deutlich geringer.

Tabelle 21 – Relativer Anteil verzweigter Isomere, Beispiele

| Probe | PFBA | PFPA | PFBS | PFHxA | PFHpA | PFHxS | PFOA | PFNA | PFOS | PFDA |
|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | + / I (%) | + / I (%) | + / I (%) | + / I (%) | + / I (%) | + / I (%) | + / I (%) | + / I (%) | + / I (%) | + / I (%) |
| OFW 1 | - | - | - | 11 | 12 | 21 | 10 | - | 94 | - |
| OFW 2 | - | - | 0,8 | 12 | 16 | 30 | 18 | - | 155 | - |
| OFW 3 | - | - | 0,6 | 12 | 16 | 23 | 12 | - | 206 | - |
| OFW 4 | - | - | 4,6 | 9 | 8 | 35 | 8 | - | 68 | - |
| OFW 5 | - | - | 7,3 | 11 | 13 | 34 | 11 | - | 107 | - |
| OFW 6 | - | - | 7,7 | 12 | 14 | 24 | 13 | - | 115 | - |
| OFW 7 | - | - | 0,7 | 13 | 16 | 25 | 15 | - | 114 | - |
| OFW 8 | - | - | 0,7 | 18 | 15 | 24 | 16 | - | 169 | - |
| OFW 9 | - | - | 0,7 | 11 | 10 | 30 | 12 | - | 123 | - |
| Abwasser 1 | - | - | 1,9 | 10 | 18 | 30 | 10 | - | 62 | - |
| Abwasser 2 | - | - | 24,5 | 6 | 11 | 17 | 8 | - | 62 | - |
| Abwasser 3 | - | - | - | 6 | 17,6 | - | 12 | - | 61 | - |
| OFW Oberflächenwasser + verzweigte Isomere, I unverzweigte Isomere | | | | | | | | | | |

Bild 29 gibt die chromatographische Trennung von PFOS-Isomeren bei beiden Massenübergängen wieder und zeigt, dass auch unter optimierten Bedingungen keine vollständige Trennung der Isomere gelingt. Weiterhin wird deutlich, dass die Responsefaktoren der verschiedenen Isomere sich erheblich voneinander unterscheiden und dass diesbezüglich große Unterschiede zwischen den beiden Massenübergängen bestehen.

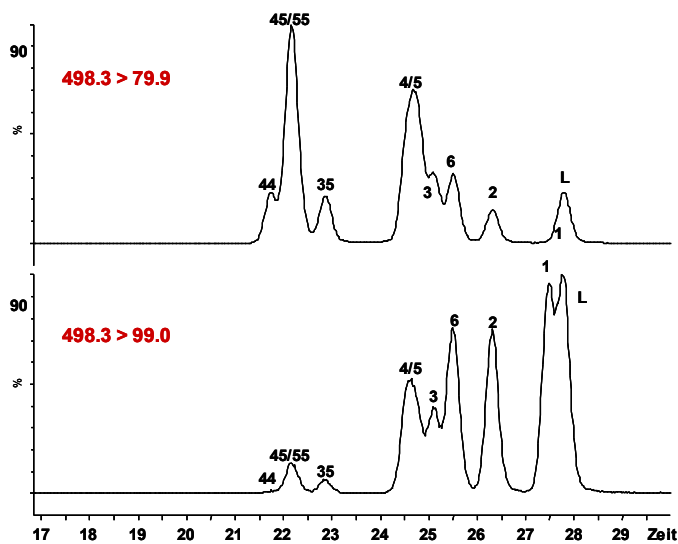


Bild 29 – Chromatographische Trennung von PFOS-Isomeren

Arbeitsbedingungen: Säule Zorbax Eclipse XDB-C18, 3,5 µm, 100 mm x 2 mm, Vorsäule Synergi Fusion-RP, 4 µm, 4 mm x 2 mm; $V_{inj} = 20 \mu\text{l}$, PFOS-Mixtur mit je 5 ng/ml in MeOH; A: 5 mmol NH_4Ac /Wasser // B: 0,05 % HAc/MeOH, Gradient: 50 % nach 65 % B in 30 min, linear; Fluss 0,25 ml/min, Temperatur 40 °C

Peak-Nr.: (L) n-Perfluoroktansulfonsäure, (1) 1-Methyl-perfluorheptansulfonsäure, (2) 2-Methyl-perfluorheptansulfonsäure, (6) 6-Methyl-perfluorheptansulfonsäure, (3) 3-Methyl-perfluorheptansulfonsäure,

(4) 4-Methyl-perfluorheptansulfonsäure, (5) 5-Methyl-perfluorheptansulfonsäure, (35) 3,5-Dimethyl-perfluorhexansulfonsäure, (45) 4,5-Dimethyl-perfluorhexansulfonsäure, (55) 5,5-Dimethyl-perfluorhexansulfonsäure, (44) 4,4-Dimethyl-perfluorhexansulfonsäure

Untersuchungen haben ergeben, dass in den üblichen Umweltproben neben dem unverzweigten PFOS hauptsächlich 6-Methylperfluorheptansulfonsäure und die Isomere 4- und 5-Methylperfluorheptansulfonsäure vorkommen. Die Dimethylverbindungen spielen beim PFOS dagegen so gut wie keine Rolle (Bild 30).

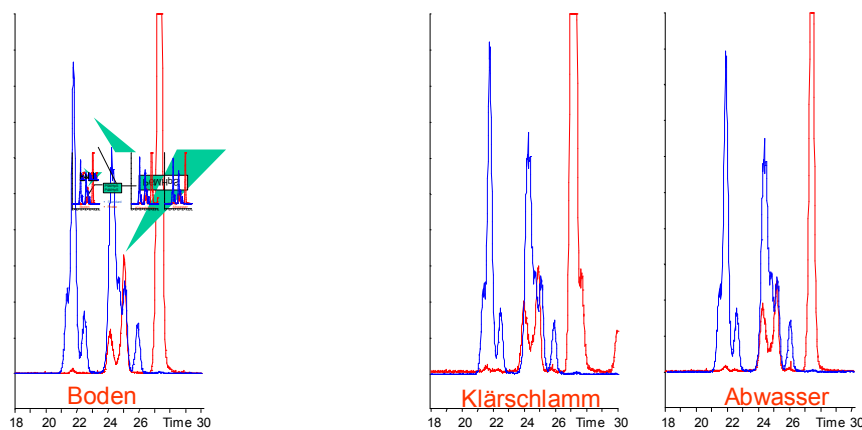


Bild 30 – Zuordnung verzweigter PFOS-Isomere in Umweltproben, Beispiele

Um den Fehler der konventionellen Auswertemethode abschätzen zu können, wurde für die Isomere 6-Methylperfluorheptansulfonsäure und für die Summe von 4-Methyl- und 5-Methylperfluorheptansulfonsäure unter den speziellen chromatographischen Bedingungen (Bild 31) für beide Massenübergänge jeweils eine Kalibrierung durchgeführt. Auf dieser Grundlage wurden einige typische Umweltproben untersucht und mit den Ergebnissen der konventionellen Auswertemethode verglichen.

Tabelle 22 zeigt, dass die Abweichungen der konventionellen Auswertemethode sich in Grenzen halten. Entsprechend den Responsefaktoren wird für den Massenübergang m/z 499 > m/z 99 eine geringfügige Unterbestimmung und für den Massenübergang m/z 499 > m/z 80 eine Überbestimmung erhalten. Diese Abweichungen werden für geringer eingeschätzt als die Nichteinbeziehung der verzweigten PFC.

Tabelle 22 – Fehlerabschätzung zur konventionellen Quantifizierungsmethode

| Kalibrierverfahren, Massenübergang m/z 499 > 99 | | Abwasser $\mu\text{g/l}$ | Klärschlamm $\mu\text{g/kg m}_T$ | Boden $\mu\text{g/kg m}_T$ |
|--|----------------|-----------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|
| Kalibrierung der unverzweigten Komponente | n-PFOS | 283 | 313 | 5313 |
| | (+)-PFOS | 41 | 16 | 497 |
| | Summe Isomere | 324 | 329 | 5800 |
| Kalibrierung der Isomeren | 4 MHpS + 5MHpS | 19 | 7 | 140 |
| | 6 MHpS | 41 | 15 | 498 |
| | Summe Isomere | 343 | 335 | 5951 |
| Vergleich | Abweichung, % | - 6 | - 2 | - 3 |
| Kalibrierverfahren, Massenübergang m/z 499 > 80 | | Abwasser $\mu\text{g/l}$ | Klärschlamm $\mu\text{g/kg m}_T$ | Boden $\mu\text{g/kg m}_T$ |
| Kalibrierung der unverzweigten Komponente | n-PFOS | 283 | 333 | 5199 |
| | (+)-PFOS | 101 | 39 | 1013 |
| | Summe Isomere | 384 | 372 | 6212 |
| Kalibrierung der Isomeren | 4 MHpS + 5MHpS | 22 | 7 | 154 |
| | 6 MHpS | 41 | 15 | 545 |
| | Summe Isomere | 346 | 355 | 5898 |
| Vergleich | Abweichung, % | 10 | 5 | 5 |

12 Literatur

[1] Validierungsdokument zu DIN 38407-42

DIN 38414-14 Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung-Schlamm und Sedimente (Gruppe S) – Teil 14: Bestimmung ausgewählter polyfluorierter Verbindungen (PFC) in Schlamm, Kompost und Boden – Verfahren mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS) (S14)

DEV A0-4 Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Leitfaden zur Abschätzung der Messunsicherheit aus Validierungsdaten

DIN 38407-42 Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung-Gemeinsam erfassbare Stoffgruppen (Gruppe F) – Teil 42: Bestimmung ausgewählter polyfluorierter Verbindungen (PFC) in Wasser – Verfahren mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS) nach Fest-Flüssig-Extraktion (F42)

13 Anlage

GRAVIMETRIC CERTIFICATE

General Product Data:Product Name: Mixture of PFAC (C₄-C₁₀) and PFAS (C₄,C₆,C₈)

Product No.: S-4594-5-ME

Batch Specific Data:

Batch No.: 10 655

Product description:

| Compound | Prod.no. | Batch | CAS no. | Purity | Grav. conc. |
|---|----------|-------|------------|--------|-------------|
| Heptafluorobutyric acid | 2810.4 | 5709 | 375-22-4 | 99 % | 5.00 µg/mL |
| n-Nonafluoropentanoic acid | 2819.5 | 5782 | 2706-90-3 | 98 % | 5.04 µg/mL |
| Perfluorohexanoic acid | 2590.6 | 8347 | 307-24-4 | 99.9 % | 5.09 µg/mL |
| Perfluoroheptanoic acid | 2821.7 | 6460 | 375-85-9 | 98.2 % | 5.10 µg/mL |
| n-Perfluorooctanoic acid | 2042.8 | 3616 | 335-67-1 | 95.2 % | 5.04 µg/mL |
| Perfluorononanoic acid | 2715.9 | 5200 | 375-95-1 | >98 % | 4.97 µg/mL |
| n-Perfluorodecanoic acid | 2823.10 | 6195 | 335-76-2 | 98.2 % | 5.04 µg/mL |
| Perfluorobutane sulphonate, potassium salt | 2719.4 | 5237 | 29420-49-3 | >98 % | 4.98 µg/mL |
| Perfluorohexane sulfonic acid, potassium salt | 8581.6 | 9276 | 3871-99-6 | 100.2% | 5.02 µg/mL |
| Perfluorooctane sulfonic acid, potassium salt | 2193.8 | 6466 | 2795-39-3 | 98.4 % | 4.98 µg/mL |

The gravimetric concentrations have not been adjusted for compound impurities

Listed concentrations for the perfluoroalkylsulfonates are reported as the anion, addition of molar equivalent of NaOH to prevent esterification of the acids.

Solvent: Methanol, Analytical Reagent (a.r.), Batch 0371/9
Purity: 99.8 %, Density: 0.7914 g/mL

Tolerance: The uncertainty in the preparation of this standard is less than ± 5 %
(maximum combined uncertainty of purity, weights and volumes)

Quantity: 1.1 mL
Before opening, allow the standard to reach room temperature

Storage: Dark and cool
Before opening allow standard to reach room temperature

Expiry date: Guaranteed 1 year from date of issue

All weights and volumes are traceable to NIST

Trondheim, 08 December 2010

Issued by:

for *Sharmila. Rathnasingam*
Linn Margrethe Bringedal

Approved by:

Huiling Liu
Huiling Liu

**Chiron AS**

Stiklestadvn. 1
N-7041 Trondheim
Norway

Phone No.:
+47 73 87 44 90
Fax No.:
+47 73 87 44 99

E-mail:
chiron@chiron.no
Website:
www.chiron.no

Org. No.:
967 607 657