

**Bestimmung von Benzol und einigen Derivaten mittels Gaschromatographie (GC-FID)
nach flüssig-flüssig-Extraktion bzw. durch Dampfraumanalyse**

1 Arbeitsgrundlagen

- DIN 38 407 - F9; Bestimmung von Benzol und einigen Derivaten mittels Gaschromatographie (Mai 1991)
- DIN 38 402 - A51; Kalibrierung von Analysenverfahren, Auswertung von Analyseergebnissen und lineare Kalibrierfunktionen für die Bestimmung von Verfahrenskenngrößen (Mai 1986)
- AQS-Merkblätter
für die Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung
Herausgegeben von der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA)
Erich Schmidt Verlag GmbH & Co., Berlin 1991

Weitere Literatur siehe Abschnitt 5

2 Zweck

Die Bestimmung von Benzol und einigen Derivaten in Wasserproben nach flüssig-flüssig-Extraktion erfolgt nach DIN 38 407-F9-2, die Bestimmung durch Dampfraumanalyse nach DIN 38 407-F9-1.

Dieses Merkblatt ergänzt die Norm und gibt Hinweise zur praktischen Durchführung.

Es legt verbindliche Maßnahmen zur "Analytischen Qualitätssicherung" (AQS) fest.

Extraktionsmethode:

Die Gültigkeit beschränkt sich auf die Analysen von Wasserproben mit einem maximalen Gehalt an suspendierten Partikeln bis ca. 500 mg/l.

Dampfraumanalyse:

Die Dampfraumanalyse wird durch die Anwesenheit von suspendierten Partikeln nicht gestört.

3 Maßnahmen zur Qualitätssicherung

3.1 Geräte

3.1.1 Glasgeräte

Messkolben, Pipetten oder andere graduierte Glasgeräte werden nur mit Lösemittel intensiv gespült. Sie dürfen nicht ausgeheizt werden.

Alle anderen Glasgefäße vor erstmaliger Benutzung in der angegebenen Reihenfolge behandeln mit

- handelsüblichen Reinigungsmitteln
- destilliertem Wasser
- Hexan oder Pentan und Aceton mindestens Qualität "zur Analyse"

und anschließend bei 200 °C ausheizen.

3.1.2 Magnetrührer und Magnetührstäbe

Extraktionsmethode:

Die Leistungsfähigkeit der Magnetrührer bezüglich intensiver Durchmischung von Probe und Extraktionsmittel ist durch Wiederfindungsversuche zu prüfen.
Magnetührstäbe sind unter Pentan oder Hexan aufzubewahren und vor ihrer Verwendung mit frischem Pentan oder Hexan zu spülen, um Verschleppungen zu vermeiden.
Glasummantelte Magnetührstäbe sind vorzuziehen.

3.1.3 GC-Geräte

Die Räumlichkeiten müssen zur Durchführung von gaschromatographischen Analysenverfahren geeignet sein. Kurzfristige Temperaturschwankungen im Raum sollten möglichst gering sein. Die Raumtemperatur muss niedrig gehalten werden können ($\leq 25\text{ °C}$), damit die niedrigen GC-Ofentemperaturen zuverlässig erreicht werden und Pentanextrakte in Injektionsspritzen luftblasenfrei aufgezo-gen werden können.

- Die Geräteausstattung und die Zahl der Messplätze sind so zu bemessen, dass kein ständiger Wechsel von Säulen und Detektoren notwendig wird, um Kontaminationen, erhöhte Störanfälligkeit und Arbeitszeitverluste zu vermeiden.
- Der Säulenofen muss reproduzierbar auf die notwendige niedrige Anfangstemperatur des Temperaturprogramms (z.B. 40 °C) geregelt werden können.

Dampfraumanalyse:

Bei Verwendung von Glasspritzen für die Dampfraumdosierung ist zu beachten, dass die Gasdichtheit der Spritzen nur bis zu einer definierten Temperatur garantiert wird. Zur Vermeidung von Undichtheiten sollte im Routinebetrieb diese maximale Temperatur deutlich unterschritten werden.

3.1.4 Gasversorgung

- Die Installation einer zentralen Gasversorgung muss die Qualitätsstufe "Reinstgas" haben.
- Nach Wechsel einer Gasflasche ist der Anschlussbereich durch mehrmalige Druckentlastung zu spülen (entfällt bei automatischen Umschalt-einrichtungen).
- Eine Nachreinigung der Gase ist, soweit nötig, unmittelbar vor Eingang in den GC vorzunehmen.

Anmerkung 1: *Es ist erforderlich, für alle Prüfungen und Wartungen eine Checkliste anzulegen und über alle Tätigkeiten Buch zu führen.*

3.2 Chemikalien

3.2.1 Wasser für Blindwertmessungen, Bezugslösungen und Verdünnungen

Das Wasser ist vor der Anwendung auf Abwesenheit von Benzol und Derivaten zu prüfen. In der Regel kann auch Trinkwasser verwendet werden.

3.2.2 Extraktionsmittel

Extraktionsmethode:

Als Extraktionsmittel kommen unterschiedliche Qualitäten in Frage. Häufig wird die Anwesenheit von Benzol durch ein Iso-Alkan vorgetäuscht. LHKW-freies Pentan ist nicht automatisch blindwertfrei für Benzol und Derivate.

Jede Flasche bzw. jede Charge muss vor Einsatz auf Blindwertfreiheit untersucht werden. Es wird empfohlen, vor Bezug vom Hersteller eine Probe des Extraktionsmittels zu verlangen und erst nach Überprüfung eine größere Menge der gleichen Charge zu beschaffen.

3.2.3 Bezugssubstanzen

Jede Bezugssubstanz sollte vor ihrer Verwendung nicht nur auf Reinheit, sondern auch auf ihre Identität überprüft werden (z.B. mit GC-MS).

Als Bezugssubstanzen dürfen nur solche verwendet werden, die einen Reinheitsgrad von mindestens 99% aufweisen.

3.2.4 Stamm-, Aufstock- und Bezugslösungen

Extraktionsmethode:

Die Herstellung einer Reihe von Lösungen unterschiedlicher Konzentration auf dem Wege einer Verdünnungsreihe birgt die Gefahr in sich, dass ein Verdünnungsfehler sich proportional fortpflanzt und eine systematische Abweichung so nicht erkannt werden kann.

Bei Verdünnungen mit Mikroliterspritzen sind diese jeweils mindestens zur Hälfte zu füllen.

Mit neuen Lösungen erstellte Kalibrierkurven sind z.B. durch Vergleich mit den zuletzt erstellten Kalibrierkurven auf Plausibilität zu prüfen.

Extraktionsmethode:

Stammlösungen der Bezugssubstanzen, Aufstock- und Bezugslösungen für die Kalibrierung sollten in Glasgefäßen mit Glas- oder PTFE-Verschläßen kühl (Kühlschrank 4-6 °C oder Gefrierschrank ca. -20 °C) aufbewahrt werden. Stamm-, Aufstock- und Bezugslösungen für die Kalibrierung, die nicht oft gebraucht werden, können bis zu 6 Monate verwendet werden.

Dampfraumanalyse:

- Stammlösungen für die Herstellung von wässrigen Bezugslösungen können bei Raumtemperatur im Dunkeln aufbewahrt werden und sind mindestens 6 Monate stabil.
- Wässrige Bezugslösungen für jede Probenserie neu herstellen!

Die Lösungen dürfen nicht zusammen mit Proben gelagert werden, um Verschleppungen in beide Richtungen zu vermeiden. Die Aufbewahrung von Lösungen kann in Kühl- und Gefrierschränken zu "Gefrier-trocknungseffekten" führen. Deshalb ist vor jeder Entnahme die Lösung auf Raumtemperatur zu bringen und auf Verdampfungsverluste (z.B. durch Wägung) zu prüfen.

3.3 Probenahme, Transport, Lagerung

Für die Probenahme sind Braunglasflaschen mit Vollglasstopfen oder Glasflaschen mit teflonbeschichtetem Septum zu verwenden. Die Probeflaschen sind luftblasenfrei zu füllen.

Dampfraumanalyse:

Bei Abfüllen der Probe vor Ort in Probengläschen für die Dampfraumanalyse ist es empfehlenswert, mehrere Gläschen zu füllen, um bei evtl. auftretenden, aber nicht sofort erkannten Undichtigkeiten Rückstellproben einsetzen zu können.

Für Störungen bei der Probenahme, Transport und Lagerung wird auf das AQS-Merkblatt „Bestimmung von leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen in Wässern mit GC-ECD nach flüssig-flüssig-Extraktion“ (P-10/1, Abschnitt 3.3) verwiesen.

Zur Vermeidung von Minderbefunden ist zusätzlich zu beachten:

Extraktionsmethode:

- Wenn möglich sollte die Extraktion vor Ort erfolgen. Dabei sind Blindwertüberprüfungen durchzuführen.
- Die Extraktion muss auf jeden Fall innerhalb von 48 h nach der Probenahme vorgenommen werden.

Anmerkung 2: *Einzelne Proben von belasteten Probenahmestellen (z.B. Altlasten) können mit an Benzol oder Benzolderivate adaptierte Bakterien enthalten, die selbst bei kurzer Lagerzeit der Proben zu deutlichen Minderbefunden führen können. In diesem Fall ist eine Analyse innerhalb weniger Stunden nach der Probenahme zu gewährleisten oder mit z.B. 2 ml 25 %iger Kupfer(II)sulfat-Lösung je 250 ml Probe zu versetzen.*

Generell sind bei Mischproben Minderbefunde unvermeidbar. Zur Abschätzung der Ausgasungsverluste bei der Homogenisierung von Proben kann vorher ein interner Standard zugegeben werden. Das Vorgehen nach DIN 38 407-F9-2 Abschnitt 4.6.1 ist vorzuziehen.

3.4 Durchführung

3.4.1 Extraktion bzw. Vorbereitung der Dampfdruckanalyse

Extraktionsmethode:

- Die Extraktion ist in kontaminationsfreien Räumen durchzuführen. Blindwerte sind mit jeder Analysenserie zu ermitteln.
- Extraktionsmittel
Die Verwendung von gekühltem Pentan ist in der Regel nicht erforderlich.
- Extraktionsverhältnis
Wird ein entgegen den Angaben in der Norm kleineres Extraktionsvolumenverhältnis gewählt, muss dessen Tauglichkeit durch Aufstock- oder Wiederfindungsversuche nachgewiesen werden.
- Extraktion
Eine Extraktion unter Eiskühlung ist nur bei hohen Raumtemperaturen erforderlich.
Bei Störungen der Phasentrennung können Extrakte kurzfristig im Gefrierfach ausgefroren werden.
Die Extraktionsausbeuten hängen von einer sehr guten Phasendurchmischung ab. Ist diese nicht gewährleistet, sind stark schwankende Extraktionsausbeuten möglich!
Auch wenn der Magnetrührer mit maximaler Drehzahl läuft, ist die Durchmischung des Wassers mit Extraktionsmittel nicht immer ausreichend. Die Durchmischung muss so stark sein, dass die Probe durch das feinverteilte Extraktionsmittel deutlich trüb (opaleszierend) erscheint. Im Rührtrichter an der Flüssigkeitsoberfläche darf keine Phasengrenze Wasser / Extraktionsmittel erkennbar sein.
Um dies zu erreichen, sollte das Gefäß beim Rühren etwas exzentrisch auf dem Magnetrührer stehen und die Länge des Magnetrührstabes etwa den halben Durchmesser des Probengefäßes haben.
Die Qualität der Extraktion kann visuell nur auf Grund entsprechender Erfahrung beurteilt werden. Diese Erfahrung wird durch die häufige Bestimmung von Wiederfindungsraten erworben. Die Qualität der Extraktion sollte durch die Zugabe eines internen Standards vor der Extraktion kontrolliert werden. Als interne Standard-Substanz hat sich Toluol-d₈ bewährt.
Bei matrixbelasteten Wasserproben sind die in der Regel mit unbelastetem Wasser ermittelten Wiederfindungsraten auf ihre Gültigkeit zu prüfen.

Dampfdruckanalyse:

- Wasserproben bzw. wässrige Bezugslösungen dürfen nur gut gekühlt (Kühlschranktemperatur, ca. 6 °C) abgefüllt werden. Es ist stets die gleiche Wassermenge einzufüllen.
- Bei Verdünnung von Wasserproben für die Dampfdruckanalyse ist der Nachweis zu erbringen, dass keine Verluste durch den Verdünnungsvorgang entstehen.

Anmerkung 3: Dies kann z.B. durch unterschiedliche Verdünnungen oder durch Herstellung mehrerer gleichartiger Verdünnungen geprüft werden. Bei hochkonzentrierten Proben kann auch mit erhöhtem Splitfluss (dabei Kalibrierung unter gleichen Bedingungen erstellen) gearbeitet oder auf die Extraktionsmethode ausgewichen werden. Bei Arbeiten mit GC-MS kann ggf. die Messung im full-scan-Modus eingesetzt werden.
- Eine Salzzugabe ist i.d.R. bei der Untersuchung von Grund- und Oberflächenwässern nicht erforderlich, aber zur sicheren Eliminierung von Matrixeinflüssen und aufgrund der erhöhten Nachweisempfindlichkeit empfehlenswert.

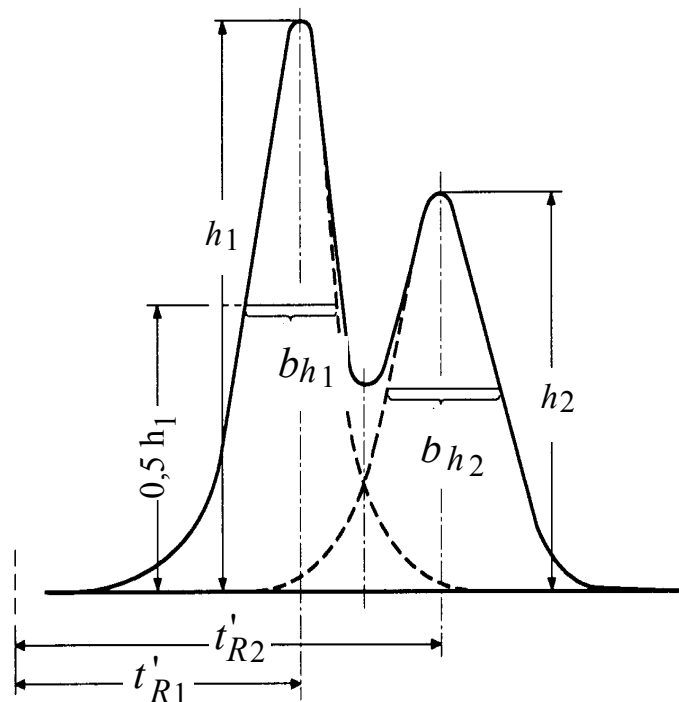
3.4.2 Störungen bei der Chromatographie

Retentionszeitschwankungen können auftreten u.a. infolge

- stark mit anderen Stoffen belastete Extrakte,
- Undichtigkeiten des Injektions- und Trennsystems (z.B. Septen).

Bereits bei geringer Retentionszeitverschiebung muss die Identität eines Peaks z.B. durch eine Aufstockung geprüft werden.

Es empfiehlt sich, das GC-System im Routinebetrieb durch zwischengeschaltete Standardproben zu prüfen.



$$R_S = 1,177 \cdot \frac{t'_{R2} - t'_{R1}}{b h_2 + b h_1}$$

Abb.1: Bestimmung der Auflösung R_S

Unvollständige Trennung

Die Trennleistung der Säule ist in regelmäßigen Abständen *mit einer Testlösung* zu prüfen, die *Toluol / Toluol-d8 im gleichen Verhältnis im oberen für die Kalibrierung verwendeten Massenkonzentrationsbereich enthält*.

Die Auflösung (R_S) muss auf einer der verwendeten Säulen mindestens 1,0 betragen (s. Abb. 1) [2, 3, 4].

Die Ergebnisse sind zu dokumentieren.

Lässt die Trennleistung nach, muss ggf. die Trennsäule erneuert werden. Vor dem endgültigen Ersatz der Trennsäule sollte man prüfen, ob durch

- Kürzen der Säule am Säulenanfang,
- Spülen der Säule durch mehrfache Injektion des Extraktionsmittels oder
- Ausheizen der Trennsäule

die Trennleistung wieder hergestellt werden kann.

"Geisterpeaks" können resultieren aus:

- schwerflüchtigen Substanzen, die von der Säule aus früheren Einspritzungen eluieren. Diese Peaks sind an der größeren Basisbreite zu erkennen.
Das Temperaturprogramm des GC-Laufs ist durch eine höhere Endtemperatur (Ausheizen) anzupassen. Es wird empfohlen, die Säule nach jeder Serie, bei belasteten Extrakten mit jedem GC-Lauf auszuheizen.

- Zersetzungsprodukten von schwerflüchtigen Substanzen, Septumkrümel im Glasinsert und Septumbluten. Glasinsert und Septum bei Bedarf wechseln. Das Injektionssystem ggf. reinigen.
- kondensierbare Substanzen aus der Gasversorgung, wenn Injektor bzw. GC-Ofen längere Zeit, z.B. über Nacht, auf relativ niedriger Anfangstemperatur (z.B. 50 °C) stand.

Anmerkung 4: *Die Ergebnisse der ersten Injektion jeder Serie nach einem Gerätestillstand sind zu verwerfen.*

Verschleppungen bei der Injektion

Sie können durch Einspritzungen von Lösemitteln erkannt werden. Bei Bedarf (z.B. schwach- und hochbelastete Proben in einer Serie) Spülschritte zwischenschalten.

3.5 Kalibrierung

Die Kalibrierung des Verfahrens ist mit **mindestens 5** unterschiedlichen Konzentrationen durchzuführen, wobei die Konzentrationsstufen äquidistant über den Arbeitsbereich verteilt sein müssen. Für deutlich unterschiedliche Konzentrationsbereiche sind jeweils eigene Kalibrierkurven zu erstellen. Der Kalibrierbereich ist den in realen Proben vorkommenden Konzentrationen anzupassen.

Die Gültigkeit der bei der Kalibrierung erhaltenen Funktion kann zur Vereinfachung bei Routinemessungen mit der Rekalibrierung geprüft werden. Hierzu werden zwei Bezugslösungen (externer Standard oder bei der Kalibrierung über das Gesamtverfahren gewonnenen Extrakte) je zweifach eingespritzt. Eine Konzentration soll etwa 20%, die andere 80% des Kalibrierbereichs entsprechen.

Liegt die Verbindungsgerade der Mittelwerte der Doppeleinspritzungen im Vertrauensbereich der Kalibrierung, darf diese weiterhin verwendet werden. Andernfalls ist neu zu kalibrieren.

Dampfraumanalyse:

Bei der Dampfraumanalyse ist die Aufnahme einer neuen Kalibrierkurve mit jeder Probenserie empfehlenswert.

3.6 Auswertung und Angabe der Ergebnisse

Das Gaschromatogramm ist visuell zu prüfen, ob

- im festgelegten Retentionszeitfenster weitere Peaks, Doppelpeaks oder Peakschultern auftreten,
- vom Integrator oder Datensystem nicht erkannte Retentionszeitverschiebungen vorkommen,
- die Integrationsgrenzen plausibel sind,
- der errechnete Wert zum Probenpeak in plausibler Relation steht.

4 Maßnahmen zur Analytischen Qualitätskontrolle

4.1 Interne Qualitätskontrolle

Laborintern sind an jedem Messplatz

- bei Neuaufstellung
- nach wesentlichen Änderungen am Messplatz
- nach wesentlichen Änderungen des Analysenverfahrens

und durch jeden Mitarbeiter, besonders bei Neueinstellungen oder Neueinweisungen, folgende Arbeiten durchzuführen:

- Mehrpunkt-Kalibrierung mit allen Verbindungen im niedrigsten angestrebten Arbeitsbereich
- Berechnung der Verfahrenskenngrößen (Wiederfindungsraten für alle Substanzen; Laborvariationskoeffizienten für alle Substanzen aus 5 Parallelmessungen im unteren Drittel des Arbeitsbereichs $\leq 20\%$)

Weichen diese von denen der vorherigen Kalibrierung signifikant ab, muss die Kalibrierung wiederholt werden, gegebenenfalls die Ursache gesucht und beseitigt werden.

In jeder Serie bzw. mindestens arbeitstäglich sind folgende Kontrollkarten zu führen:

Extraktionsmethode:

- Mittelwertkontrollkarte über das Gesamtverfahren an ausgewählten Verbindungen.

Dampfraumanalyse:

- Mittelwertkontrollkarte an ausgewählten Verbindungen (je eine Verbindung aus dem vorderen bzw. hinteren Bereich des Chromatogramms).
- Blindwertkontrollkarte für Substanzen, die häufig im Chromatogramm Blindwerte ergeben. Hier ist **nicht** mit Konzentrationswerten zu arbeiten!

4.2 Externe Qualitätskontrolle

An angebotenen Ringversuchen und Vergleichsuntersuchungen ist teilzunehmen.

5 Literatur

[1] Normen

- DIN 38 402 - A 11; Probenahme von Abwasser (Dezember 1995)
- DIN 38 402 - A 12; Probenahme aus stehenden Gewässern (Juni 1985)
- DIN 38 402 - A 13; Probenahme aus Grundwasserleitern (Dezember 1985)
- DIN 38 402 - A 14; Probenahme von Roh- und Trinkwasser (März 1986)
- DIN 38 402 - A 15; Probenahme aus Fließgewässern (Juli 1986)
- DIN 38 402 - A 19; Probenahme von Schwimm- und Badebeckenwasser (April 1988)
- DIN 38 402 - A 20; Probenahme aus Tidegewassern (August 1987)
- DIN 51 405; Gaschromatographische Analyse. Allgemeine Arbeitsgrundlagen (Mai 1987)

[2] R. Kaiser, Chromatographie in der Gasphase I, Gas-Chromatographie, BI Hochschultaschenbücher Band 22, Mannheim 1979

[3] G. Schomburg, Gaschromatographie, VCH Weinheim 1987

[4] DIN 51 405, Gaschromatographische Analyse, Allgemeine Arbeitsgrundlagen (Mai 1987)