
**Nemške standardne metode za preiskavo vode, odpadne vode in blata –
Posamezne komponente (skupina P) – 6. del: Določevanje akrilamida –
Metoda z uporabo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti z masno
spektrometrijsko detekcijo (HPLC-MS/MS) (P 6)**

Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung
– Einzelkomponenten (Gruppe P) – Teil 6: Bestimmung von Acrylamid –
Verfahren mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und
massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS) (P 6)

(standards.iteh.ai)

[SIST DIN 38413-6:2015](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a05bb4b6-93a8-4bb0-ae68-b588522d9c5e/sist-din-38413-6-2015)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a05bb4b6-93a8-4bb0-ae68-
b588522d9c5e/sist-din-38413-6-2015](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a05bb4b6-93a8-4bb0-ae68-b588522d9c5e/sist-din-38413-6-2015)

NACIONALNI UVOD

Standard SIST DIN 38413-6 ((sl),de), Nemške standardne metode za preiskavo vode, odpadne vode in blata – Posamezne komponente (skupina P) – 6. del: Določevanje akrilamida – Metoda z uporabo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti z masno spektrometrijsko detekcijo (HPLC-MS/MS) (P 6), 2015, ima status slovenskega standarda in je enakovreden nemškemu standardu DIN 38413-6 (de), Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung – Einzelkomponenten (Gruppe P) – Teil 6: Bestimmung von Acrylamid – Verfahren mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS) (P 6), 2007.

NACIONALNI PREDGOVOR

Nemški standard DIN 38413-6:2007 je pripravil tehnični odbor Nemškega inštituta za standardizacijo DIN NA 005-01-13 AA.

Slovenski standard SIST DIN 38413-6:2015 je z metodo ponatisa z nacionalnim predgovorom privzet nemški standard DIN 38413-6:2007.

Odločitev za privzem tega standarda po metodi ponatisa z nacionalnim predgovorom je 8. januarja 2015 sprejel SIST Strokovni svet za splošno področje.

ZVEZE S STANDARDI

S privzemom tega nemškega standarda veljajo za omejeni namen referenčnih standardov vsi standardi, navedeni v izvirniku, razen tistih, ki so že sprejeti v nacionalno standardizacijo:

SIST EN ISO 1042:2000 Laboratorijska steklovina – Volumetrijske steklenice z eno oznako (ISO 1042:1998)

SIST EN ISO 4788:2005 Laboratorijska steklovina – Graduirani merilni valji (ISO 4788:2005)

SIST EN ISO 4796-2:2000 Laboratorijska steklovina – Steklenice – 2. del: Steklenice s stožeastim vratom (ISO 4796-2:2000)

OSNOVA ZA IZDAJO STANDARDARDA

- privzem standarda 38413-6:2007

OPOMBI

- Povsod, kjer se v besedilu standarda uporablja izraz “nemški standard”, v SIST DIN 38413-6:2015 to pomeni “slovenski standard”.
- Uvod in nacionalni predgovor nista sestavni del standarda.

DIN 38413-6

DIN

ICS 13.060.50

Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung – Einzelkomponenten (Gruppe P) – Teil 6: Bestimmung von Acrylamid – Verfahren mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS) (P 6)

German standard methods for the examination of water, waste water and sludge – Single components (group P) – Part 6: Determination of acrylamide – Methode using high performance liquid chromatography with mass spectrometric detection (HPLC-MS/MS) (P 6)

Méthodes normalisées allemandes pour l'analyse des eaux, des eaux résiduaires et des boues –

Composants particuliers (groupe P) –

Partie 6: Dosage de l'acrylamide – Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance et spectrométrie de masse (CLHP-MS/MS) (P 6)

[SIST DIN 38413-6:2015](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a05bb4b6-93a8-4bb0-ae68-b588522d9c5e/sist-din-38413-6-2015)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a05bb4b6-93a8-4bb0-ae68-b588522d9c5e/sist-din-38413-6-2015>

Gesamtumfang 34 Seiten

Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN



Inhalt

	Seite
Vorwort.....	4
1 Anwendungsbereich.....	4
2 Normative Verweisungen	5
3 Grundlage des Verfahrens	6
4 Störungen.....	6
4.1 Probenahme	6
4.2 Extraktion	6
4.3 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und Massenspektrometrie	7
5 Bezeichnung.....	7
6 Reagenzien.....	8
7 Geräte	9
8 Probennahme und Probenaufarbeitung	10
9 Durchführung.....	11
9.1 Probenvorbereitung.....	11
9.2 Extraktion	11
9.3 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)	11
9.4 Identifizierung und Quantifizierung mittels Massenspektrometrie (HPLC-MS/MS).....	12
9.5 Blindwertmessungen.....	13
10 Kalibrierung.....	13
10.1 Allgemeines.....	13
10.2 Kalibrierung des chromatographischen Bestimmungsschrittes	14
10.3 Kalibrierung mit internem Standard über das Gesamtverfahren	15
10.4 Bestimmung der laborinternen prozentualen Wiederfindung.....	17
11 Auswertung	18
12 Angabe der Ergebnisse	18
13 Analysenbericht	19
14 Verfahrenskenndaten	19
Anhang A (informativ) Beispiele für Adsorbermaterialien	21
Anhang B (informativ) Beispiele für HPLC-Säulen	22

Anhang C (informativ) Beispiele für HPLC-MS/MS-Bedingungen und -Chromatogramme	23
Anhang D (informativ) Erläuterungen	32
Literaturhinweise	34
Bilder	
Bild C.1 — Chromatogramm von Acrylamid, Übergang: 72 → 55	24
Bild C.2 — Chromatogramm von Acrylamid, Übergang: 72 → 44	25
Bild C.3 — Chromatogramm von Acrylamid-D₃, Übergang: 75 → 58	26
Bild C.4 — Chromatogramm von Acrylamid, Bezugslösung (25 ng/l), Übergang: 72 → 55	28
Bild C.5 — Chromatogramm von Acrylamid, Wasserprobe, Übergang: 72 → 55	29
Bild C.6 — Chromatogramme von Acrylamid (oben, Übergang: 72 → 55) und Acrylamid-D₃ (unten, Übergang: 75 → 58)	31
Tabellen	
Tabelle 1 — Stoffbezogene physikalische und chemische Daten von Acrylamid	5
Tabelle 2 — Ausgewählte Massenübergänge zur Identifizierung und Quantifizierung	13
Tabelle 3 — Bedeutung der Indizes	14
Tabelle 4 — Verfahrenskennndaten für Acrylamid mittels HPLC-MS/MS nach DIN 38402-42	20
Tabelle A.1 — Beispiele geeigneter Sorbentien für die Festphasenextraktion von Acrylamid	21
Tabelle B.1 — Beispiele empfohlener HPLC-Säulen für die Chromatographie von Acrylamid	22

PREVIEW
(standards.iteh.ai)

SIST DIN 38413-6:2015

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a05bb4b6-93a8-4bb0-ae68-f5885f249c5e/sist-din-38413-6-2015>

DIN 38413-6:2007-02

Vorwort

Diese Norm wurde gemeinsam mit der Wasserchemischen Gesellschaft — eine Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker — aufgestellt (siehe Anhang D).

Es ist erforderlich, bei den Untersuchungen nach dieser Norm Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten und bestehende Sicherheitsvorschriften zu beachten.

Bei Anwendung der Norm ist im Einzelfall je nach Aufgabenstellung zu prüfen, ob und inwieweit die Festlegung zusätzlicher Randbedingungen erforderlich ist.

Zu DIN 38413 „*Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Einzelkomponenten (Gruppe P)*“ gehören weitere Teile. Eine Übersicht der Gruppen A bis T der „Deutschen Einheitsverfahren“ enthält Anhang D.

Die Anhänge A bis D sind informativ.

WARNUNG — Anwender dieser Norm sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Diese Norm gibt nicht vor, alle unter Umständen mit der Anwendung des Verfahrens verbundenen Sicherheitsaspekte anzusprechen. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, angemessene Sicherheits- und Schutzmaßnahmen zu treffen und sicherzustellen, dass diese mit nationalen Festlegungen übereinstimmen.

[SIST DIN 38413-6:2015](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a05bb4b6-93a8-4bb0-ae68-b588522d9c5e/sist-din-38413-6-2015)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a05bb4b6-93a8-4bb0-ae68-b588522d9c5e/sist-din-38413-6-2015>

1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt ein Verfahren für die Bestimmung von Acrylamid (siehe Tabelle 1) in Trinkwasser, Oberflächenwasser und Rohwasser, das für die Trinkwasseraufbereitung bestimmt ist, fest. In Abhängigkeit von der Matrix kann von einem Arbeitsbereich oberhalb von 0,03 µg/l ausgegangen werden. Die Bestimmungen werden mit Probenvolumina zwischen 100 ml und 500 ml durchgeführt.

Tabelle 1 — Stoffbezogene physikalische und chemische Daten von Acrylamid

Name	Summenformel	Strukturformel	CAS-RN ^a	Molare Masse g/mol
Acrylamid	C ₃ H ₅ NO	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}=\text{CH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	79-06-1	71,08
^a CAS-RN: Chemical Abstracts System Registration Number.				

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

DIN 12691, *Laborgeräte aus Glas — Vollpipetten mit einer Marke, schnell-ablaufend, Wartezeit 15 Sekunden, Klasse AS*

DIN 38402-12, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Allgemeine Angaben (Gruppe A) — Probenahme aus stehenden Gewässern (A 12)*

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a05bb4b6-93a8-4bb0-ae68-9588922d9c5c/sist-din-38413-6-2015>
DIN 38402-13, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Allgemeine Angaben (Gruppe A) — Probenahme aus Grundwasserleitern (A 13)*

DIN 38402-14, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Allgemeine Angaben (Gruppe A) — Probenahme von Rohwasser und Trinkwasser (A 14)*

DIN 38402-15, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Allgemeine Angaben (Gruppe A) — Probenahme aus Fließgewässern (A 15)*

DIN EN ISO 1042, *Laborgeräte aus Glas — Messkolben*

DIN EN ISO 4788, *Laborgeräte aus Glas — Messzylinder und Mischzylinder*

DIN 38413-6:2007-02

DIN EN ISO 4796-2, *Laborgeräte aus Glas — Flaschen — Teil 2: Flaschen mit konischem Hals*

3 Grundlage des Verfahrens

Acrylamid wird mittels Festphasenextraktion aus der Wasserprobe extrahiert. Zur chromatographischen Bestimmung wird die Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie mit massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS) eingesetzt.

4 Störungen**4.1 Probenahme**

- Um Fehler zu vermeiden, Proben unter Berücksichtigung der Festlegungen nach DIN 38402-12 bis DIN 38402-15 nehmen.

Die Anwesenheit von Oxidationsmitteln (Chlor, Chlordioxid, Ozon) kann zu einer Erniedrigung der Acrylamidkonzentration führen.

- Daher nach Abschnitt 8 entsprechenden Wasserproben Natriumthiosulfat-Pentahydrat zufügen.

Oberflächenwasser und durch Oberflächenwasser beeinflusste Wässer sind nach der Probenahme nicht länger als einen Tag stabil.

- Ist eine längere Lagerung nicht zu vermeiden, die Proben durch Zusatz von Natriumazid konservieren (siehe Abschnitt 8).

4.2 Extraktion

Die im Handel erhältlichen Sorbensmaterialien auf der Basis von Aktivkohle sind häufig von unterschiedlicher Qualität. Von Charge zu Charge können beachtliche Schwankungen hinsichtlich Qualität und Selektivität auftreten.

- Die Kalibrierung und Analyse stets mit Material aus einer Charge durchführen.

Einige Sorbensmaterialien auf der Basis von Aktivkohle enthalten in Abhängigkeit von ihrem Herstellungsprozess gegebenenfalls Feinstaubanteile, die von der PE-Fritte der Extraktionskartusche nicht vollständig zurückgehalten werden können.

- Werden solche Materialien verwendet, gegebenenfalls eine Eluatfiltration mit einem Spritzenfilter vornehmen, um einer Verstopfung des Injektionssystems vorzubeugen. Vorzugsweise Produkte verwenden, die keine Feinstaubanteile enthalten (Beispiele siehe Anhang A).

In Abhängigkeit von der Körnung des verwendeten Sorbensmaterials verbleibt nach dem Trocknungsschritt eine gewisse Restfeuchte. Während der Elution mit Methanol gelangt Wasser aus dem Adsorbens in das Eluat. Um Störungen bei der Konzentrierung des Eluats zu vermeiden, sollte das Endvolumen nicht weniger als 1 ml betragen.

4.3 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und Massenspektrometrie

In Abhängigkeit von den chromatographischen Bedingungen werden meist Retentionszeiten für Acrylamid zwischen 2,5 min und 10 min erreicht (Beispiele in Anhang C).

- Um Störungen der Peaksymmetrie zu vermeiden, die chromatographischen Bedingungen so wählen, dass die Retentionszeit (RT) mindestens der doppelten Totzeit entspricht.
- Die Peaksymmetrie kann durch große Injektionsvolumen nachteilig beeinträchtigt werden, wenn zum Zeitpunkt der Injektion eine größere Abweichung der Lösemittelzusammensetzung der injizierten Probe und des Laufmittelgemisches vorliegt; dies auch bei einer Direktinjektion der Wasserprobe (ohne vorherige Festphasenextraktion) berücksichtigen.

Die Leistungsfähigkeit und Stabilität des Analysensystems sollte (z. B. durch Verwendung eines Messstandards) geprüft werden.

- Um Störungen zu vermeiden, alle Gerätekomponenten der HPLC, der Ionisierungseinrichtung und des Massenspektrometers nach Angaben des Herstellers in Betrieb nehmen. Die Einstellungen regelmäßig kontrollieren.

5 Bezeichnung

Bezeichnung des Verfahrens zur Bestimmung von Acrylamid in Wasser mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS) (P 6):

Verfahren DIN 38413 — P 6

DIN 38413-6:2007-02

6 Reagenzien

6.1 Allgemeines

- Als Reagenzien soweit erhältlich, solche des Reinheitsgrades „zur Analyse“ oder „zur Rückstandsanalyse“ verwenden.

Der Gehalt der Reagenzien an Verunreinigungen, die zum Blindwert beitragen, muss vernachlässigbar klein sein.

- Den Blindwert regelmäßig, vor allem bei Verwendung einer neuen Charge, prüfen.

6.2 Wasser, blindwertfrei. Die Beschaffenheit des Wassers muss geprüft werden.

6.3 Betriebsgase für die Massenspektrometrie hoher Reinheit und nach den Angaben des Geräteherstellers.

6.4 Stickstoff hoher Reinheit, Volumenanteil mindestens 99,996 %, zur Sorbenstrocknung nach der Probenextraktion.

6.5 Lösemittel, z. B. Methanol, CH_3OH ; Acetonitril, CH_3CN ; (HPLC-grade).

6.6 Natriumthiosulfat-Pentahydrat, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$.

6.7 Natriumazid, NaN_3 .

6.8 Adsorbens aus Aktivkohle mit hoher spezifischer Oberfläche (z. B. größer $1\,000 \text{ m}^2/\text{g}$). Adsorbentien verschiedener Hersteller (siehe Anhang A) können verwendet werden, vorausgesetzt, die Wiederfindung für Acrylamid ist bei einer Konzentration von $0,1 \mu\text{g/l}$ (z. B. Aufarbeitung einer 500-ml-Probe nach 9.2) größer als 70 %.

6.9 Herstellung der Bezugslösungen

6.9.1 Acrylamid-Stammlösung

- Z. B. 50 mg der Referenzsubstanz Acrylamid (siehe Tabelle 1) definierter Reinheit in einem 100-ml-Messkolben vorlegen, mit Methanol (6.5) lösen und bis zur Marke auffüllen.
- Die methanolische Stammlösung bei höchstens $6 \text{ }^\circ\text{C}$ lichtgeschützt aufbewahren; sie ist mindestens drei Monate haltbar.

6.9.2 Wässrige Acrylamid-Bezugslösung für die Kalibrierung über das Gesamtverfahren

- Z. B. 1 ml der Acrylamid-Stammlösung (6.9.1) in einem 100-ml-Messkolben vorlegen und anschließend mit Wasser (6.2) bis zur Marke auffüllen.
- Die wässrige Bezugslösung bis zum Gebrauch bei höchstens 6 °C lichtgeschützt aufbewahren; sie ist nur kurze Zeit haltbar und wird daher arbeitstäglich hergestellt.

In Abhängigkeit vom Arbeitsbereich kann ein weiterer Verdünnungsschritt nach 6.9.2 notwendig sein.

6.10 Interner Standard

BEISPIEL Acrylamid-D₃

7 Geräte

7.1 Allgemeines

Geräte oder Geräteteile, die mit der Wasserprobe oder dem Extrakt in Berührung kommen, müssen frei von Rückständen sein, die Blindwerte verursachen können.

- Vorzugsweise Geräte aus Glas, nicht rostendem Stahl und PTFE (Polytetrafluorethen) verwenden.

7.2 Standflaschen aus Glas, vorzugsweise aus braunem Glas, Nennvolumen 100 ml, 250 ml oder 500 ml, z. B. Laborflasche ISO 4796-2 — 250 NJ.

7.3 Messzylinder, Nennvolumen 100 ml, 250 ml oder 500 ml, z. B. nach DIN EN ISO 4788.

7.4 Messkolben, Nennvolumen 10 ml, 25 ml, 50 ml, 100 ml und 500 ml, z. B. Messkolben ISO 1042 — A100 — C.

7.5 Vollpipetten, verschiedene Nennvolumina 1 ml und 50 ml, z. B. Pipette DIN 12691 — VPAS 1.

7.6 Eindampfvorrichtung zum Einengen der Probenextrakte und Aufkonzentrieren der Proben.

DIN 38413-6:2007-02

7.7 Glasgefäße, mit inertem Verschluss (z. B. Vials mit PTFE-beschichteten Septen) zum Auffangen und Aufbewahren der Extrakte für den manuellen bzw. automatischen Betrieb.

7.8 Glass oder Polypropylen-Kartuschen, Bettvolumen 6 ml, gepackt mit 1 g Aktivkohle (6.8).

7.9 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatograph mit massenspektrometrischem Detektor (HPLC-MS/MS), Gasversorgung entsprechend den Angaben des Geräteherstellers.

7.10 HPLC-Säule, zur Chromatographie von Acrylamid (Beispiele siehe Anhang B).

7.11 Glasfaserfilter aus Borosilicatglas, Faserdurchmesser 0,75 µm bis 1,5 µm, mit anorganischem Bindemittel.

7.12 Mikromembranfilter, geeigneter Spritzenfilter z. B. aus Celluloseacetat (0,45 µm), zur Reinigung des Probeneluates.

8 Probenahme und Probenaufarbeitung

- Proben unter Berücksichtigung der Festlegungen nach DIN 38402-12, DIN 38402-13, DIN 38402-14 und DIN 38402-15 nehmen.
- Zur Probenahme sorgfältig gereinigte Standflaschen (7.2) verwenden, und vor dem Einsatz mit dem zu beprobenden Wasser spülen; die Schliffstopfen in gleicher Weise behandeln.
- Die Standflaschen vollständig mit dem zu untersuchenden Wasser füllen.
- Zu Wasserproben, die eine Restkonzentration an Oxidationsmitteln (Chlor, Chlordioxid, Ozon) enthalten, Natriumthiosulfat-Pentahydrat (6.6) zufügen, so dass sich eine Konzentration von etwa 100 mg/l ergibt (siehe 4.1).
- Die Wasserproben so bald wie möglich nach der Probenahme aufarbeiten. Ist eine Lagerung nicht zu vermeiden, die Proben bei höchstens 6 °C im Dunkeln aufbewahren.
- Ist eine Lagerung von mehr als einem Tag notwendig, durch Oberflächenwasser beeinflusste Proben (z. B. Flusswasser oder Uferfiltrat) Natriumazid (6.7) zufügen, so dass sich eine Konzentration von etwa 40 mg/l ergibt.

Auf diese Weise konservierte Proben dürfen höchstens sieben Tage gelagert werden.