Zertifizierte Referenzmaterialien

Pentachlorphenol in Boden

BAM-U008
BAM-U009

Zertifizierungsbericht

Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM)

Fachgruppe I.2, Organisch-chemische Analytik; Referenzmaterialien

Richard-Willstätter-Strasse 11, 12489 Berlin, Germany

Tel.: +49 (0) 30/8104 1120

Fax: +49 (0) 30/8104 1127

E-Mail: sales.crm@bam.de

Zusammenfassung

Der Bericht beschreibt die Entwicklung und Herstellung zweier Boden-Referenzmaterialien und die Zertifizierung ihrer Massengehalte an Pentachlorphenol (PCP). Darin eingeschlossen sind Aussagen zur Homogenität und Stabilität der Materialien. Die zertifizierten Massengehalte an PCP sind in folgender Tabelle zusammengefasst. Die Werte werden unter Berücksichtigung der tatsächlichen Gehalte der verwendeten Kalibriersubstanzen angegeben.

Referenz-material	Zertifizierter PCP-Massenanteil im Boden[1)] in mg/kg	Unsicherheit des zertifizierten PCP-Massenanteiles [2)] in mg/kg	Halbe Breite des Vertrauensintervalls[3)] in mg/kg	Anzahl der Mittelwerte
BAM-U008	2,04	0,07	0,18	5
BAM-U009	2,91	0,09	0,23	5

1) Mittelwert der Messplatzmittelwerte (Datensätze), korrigiert auf die Reinheit der verwendeten Kalibriersubstanzen
2) kombinierte Unsicherheit, ermittelt aus der Standardabweichung des Mittelwertes der Messplatzmittelwerte und dem Unsicherheitsbeitrag der Reinheitskorrektur (vgl. dazu Abschnitt 6.4 dieses Berichts)
3) auf dem Signifikanzniveau von 0,05

Die Referenzmaterialien wurden nach Trocknung aus einer homogenisierten Siebfraktion eines Sandbodens mit gealterter PCP-Belastung aus einem norddeutschen Sägewerk bzw. durch Mischung dieses Bodens mit einem PCP-freien Sandboden hergestellt.

Der Zertifizierungs-Ringversuch wurde an fünf BAM-Messplätzen durchgeführt, wobei zwei unterschiedliche Probenaufbereitungsverfahren mit drei verschiedenen Extraktionslösemitteln sowie vier unterschiedliche analytische Nachweismethoden eingesetzt wurden.

Bei einer Lagertemperatur von -20 °C ist für die zertifizierten PCP-Gehalte beider Referenzmaterialien eine Mindeststabilität von 5 Jahren zu erwarten.

Details zum Herstellungsprozess und zur Zertifizierung sowie zur Bestimmung der Homogenität und Stabilität der Materialien werden im Bericht beschrieben.

Inhaltsverzeichnis **Seite**

Zusammenfassung 2

1. Einführung 4
1.1 Bedarf und Auswahl des Materials für die Zertifizierung 4
1.2 Projektablauf 4

2. Teilnehmer 6

3. Probenmaterial 6
3.1 Probenpräparation 6
3.2 Charakterisierung der Probenmatrix 7
3.3 Homogenitätsprüfung 8
3.3.1 Prüfungsschema und Analysenmethode 8
3.3.2 Ergebnisse und Schlussfolgerung 8

4. 5. BAM-Ringversuch „Altlasten“ 8

5. Stabilitätsprüfung 10
5.1 Prüfungsschema und Analysenmethode 10
5.2 Ergebnisse und Schlussfolgerung 10

6. Zertifizierung 12
6.1 Teilnehmer und eingesetzte Methoden 12
6.2 Kalibrierstandards und Lösemittel 13
6.3 Ergebnisse des Zertifizierungs-Ringversuches 13
6.4 Auswertung der Ergebnisse, zertifizierter Wert und Unsicherheit 15
6.4.1 Statistische Bewertung der Ringversuchsergebnisse 15
6.4.2 Unsicherheitsbetrachtung für das eingesetzte Bestimmungsverfahren 16
6.4.3 Rückführbarkeit und Wiederfindung 17
6.4.4 Zertifizierter Wert, kombinierte Unsicherheit und Reinheitskorrektur 19

7. Hinweise für den Nutzer 21

8. Literatur 22

Anhang

Anlage A Probenteilungsschema 23
Anlage B Homogenitätsprüfung 24
Anlage C Stabilitätsprüfung 25
Anlage D Zertifizierungs-Ringversuch 27

Verwendete Abkürzungen 35

1. Einführung

1.1 Bedarf und Auswahl des Materials für die Zertifizierung

Pentachlorphenol (PCP) ist ein synthetischer chlorierter Kohlenwasserstoff, der in der Natur nur durch anthropogenen Eintrag vorkommt. Die über viele Jahrzehnte erfolgte Verwendung von PCP und seinen Salzen in Bakteriziden, Fungiziden und Herbiziden führte weltweit zu Kontaminationen von Böden und Grundwässern.
PCP wird als gesundheitsgefährdend eingestuft und steht im Verdacht, Krebs zu erregen. Insbesondere durch die im technischen PCP enthaltenen hochtoxischen Nebenprodukte wie Dioxine existieren deshalb seit mehreren Jahren in Deutschland, der EU, den USA und vielen anderen Staaten strenge Richtlinien für den Einsatz PCP-haltiger Produkte [1], [2], [3].
Zum Schutz von Mensch und Umwelt und zur Schadensbegrenzung werden durch Gesetze und Verordnungen je nach geplanter Nutzung bestimmte Prüfwerte bzw. Gefahrenwerte für Böden [4], [5] vorgegeben, deren Einhaltung durch analytisch-chemische Untersuchungen [6], [7] kontrolliert wird. Zur Validierung der hierfür eingesetzten analytischen Verfahren und zur Qualitätssicherung dienen zertifizierte Referenzmaterialien („Certified Reference Material“, CRM). Aus „natürlichem“ Material hergestellte Matrix-Referenzmaterialien sind zur Verfahrensvalidierung bestens geeignet, da mit ihnen alle Stufen des analytischen Prozesses in realistischer Weise geprüft werden können.
In Datenbanken für Matrix-Referenzmaterialien [17], [18] werden zwei Boden-Materialien aufgeführt (Stand Juli 2001), die im PCP-Gehalt zur Validierung von Verfahren im Bereich der PCP-Prüfwerte für Boden geeignet sind. Sie enthalten PCP in einer komplexen Analytzusammensetzung und besitzen im zertifizierten PCP-Gehalt eine relativ hohe Unsicherheit.
Die Matrix-Referenzmaterialien BAM-U008 und BAM-U009 „Pentachlorphenol in Boden“ mit unterschiedlichen PCP-Gehalten wurden aus natürlich gewachsenem, durch jahrelangen industriellen Eintrag mit PCP kontaminiertem Sandboden hergestellt. Sie besitzen eine niedrige Unsicherheit für den zertifizierten PCP-Gehalt.
Vor der Zertifizierung wurden die Materialien im Rahmen des 5. BAM-Ringversuchs „Altlasten“ [8] eingesetzt. Die Zertifizierung basiert auf den in diesem Ringversuch gesammelten Erfahrungen.

1.2 Projektablauf

Der kontaminierte Boden wurde nach Erstabschätzung des PCP-Gehaltes für den analytischen Zweck aufbereitet. Die Aufbereitung (Trocknung, Siebung, Mischung, Probenteilung), Probenkonfektionierung sowie die Prüfungen auf Homogenität und Stabilität (Kurzzeit) erfolgten 1999 in drei Gehaltsniveaus für den 5. BAM-Ringversuch „Altlasten“. Aufgrund von Erfahrungswerten aus diesem Ringversuch wurden zwei Niveaus mit PCP-Massenanteilen von 2-3 mg/kg ausgewählt und das Schema der Zertifizierung festgelegt. Am BAM-internen Zertifizierungsringversuch im September 2000 beteiligten sich 3 Laboratorien der Fachgruppe I.2 mit 5 Messplätzen.
Die Stabilitätsuntersuchungen für 3, 6, und 12 Monate wurden im Februar 2001 und die für 24 Monate im Februar 2002 durchgeführt.
Der Projektablauf ist schematisch in Abbildung 1 dargestellt.

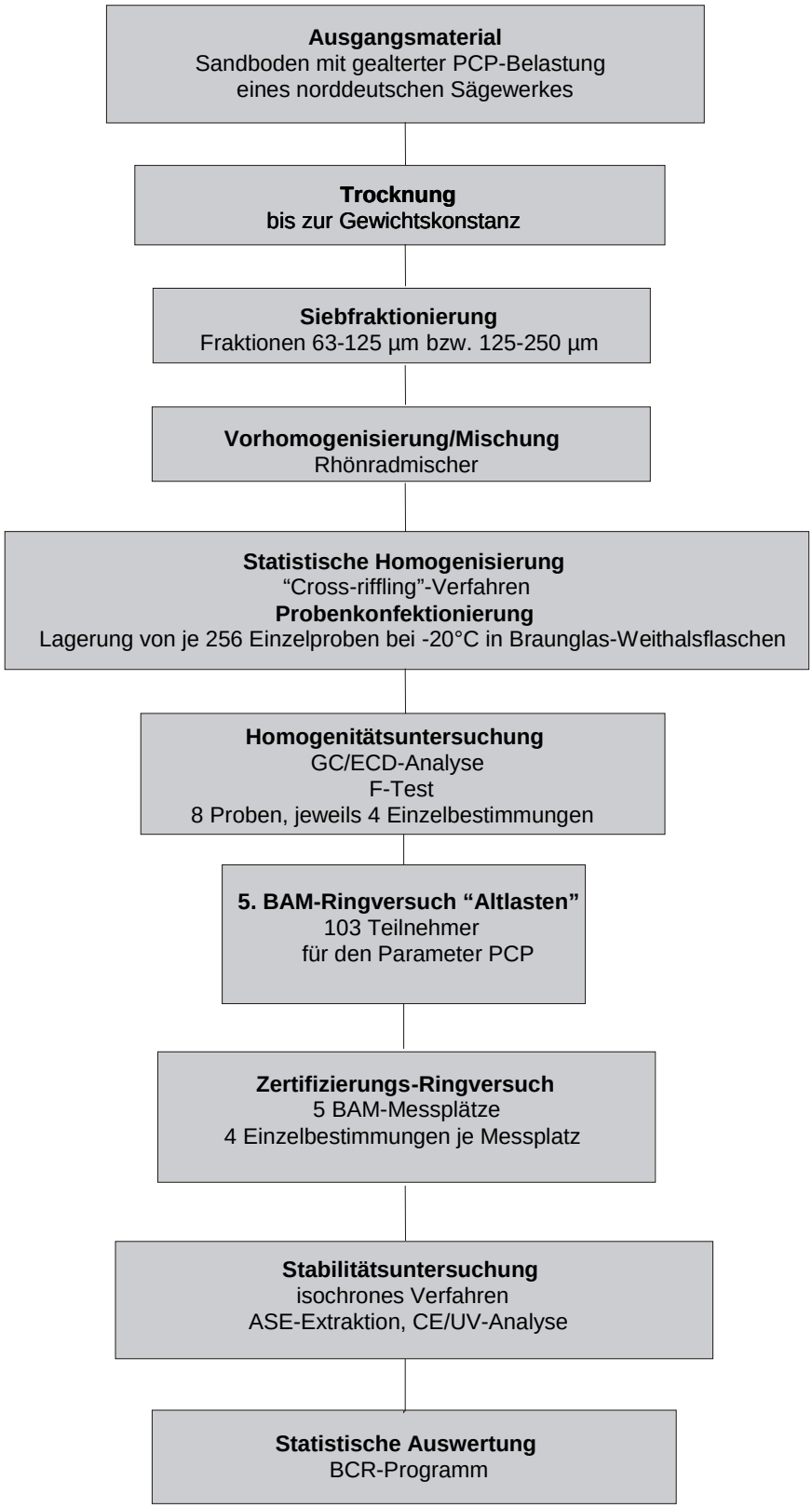


Abbildung 1: Projektablauf

2. Teilnehmer

Probenahme, Konfektionierung
- Bundesanstalt für Materialforschung und –prüfung (BAM) , Berlin, Laboratorium I.21

Homogenitätsprüfung
- Bundesanstalt für Materialforschung und –prüfung (BAM), Berlin, Laboratorium I.22

Stabilitätsprüfung
- Bundesanstalt für Materialforschung und –prüfung (BAM), Berlin, Laboratorium I.23

Zertifizierungsanalyse
- Bundesanstalt für Materialforschung und –prüfung (BAM), Berlin, Laboratorien I.21, I.22 und I.23

Statistische Auswertung
- Bundesanstalt für Materialforschung und –prüfung (BAM), Berlin, Referat I.01

Organisation und Bericht zum Zertifikat des Referenzmaterials
- Bundesanstalt für Materialforschung und –prüfung (BAM), Berlin, Laboratorien I.23 und I.21

3. Probenmaterial

3.1 Probenpräparation

Die Herstellung der Referenzmaterialien erfolgte im Laboratorium I.21 der BAM. Das Ausgangsmaterial, ein Sandboden mit gealterter PCP-Belastung, stammt aus einem Sägewerk in Norddeutschland und wurde folgenden Arbeitsgängen unterzogen:

1. Trocknung
Das Material wurde bis zur Gewichtskonstanz luftgetrocknet.

2. Siebfraktionierung
Nach manueller Abtrennung grober Verunreinigungen und anschließender Grobsiebung wurde eine zweifache Siebfraktionierung durchgeführt (Tabelle 1).
In Anlehnung an den BCR-Guide zur Herstellung fester Referenzmaterialien [11] wurden die Unter- und Obergrenzen der Partikelgrößen im Verhältnis von 1:2 festgelegt.

Tabelle 1: Korngrößen- und Masseanteile des siebfraktionierten Bodens

Korngröße (mm)	Masse (kg)	Relativer Anteil (%)
1 – 2	ca. 0,20	0,4
0,5 – 1	1,46	3,2
0,25 – 0,5	19,30	41,9
0,125 – 0,25	20,98	45,6
0,063 – 0,125	3,26	7,1
< 0,063	0,84	1,8
Summe	46,04	100,0

Ausgangsbasis für die Ringversuchsproben und Referenzmaterialien bildeten die Fraktionen mit den Korngrößen von 63-125 µm und 125-250 µm.

3. Vorhomogenisierung/Mischung
Die Vorhomogenisierung wurde mit einem Rhönradmischer durchgeführt. Um ein weiteres Probenniveau zu erhalten, wurde die vorhomogenisierte Probenfraktion von 63-125 µm mit einer in gleicher Weise aufgearbeiteten Fraktion PCP-freien Sandbodens im Verhältnis 2:3 vereinigt und mit dem Rhönradmischer vorhomogenisiert.

4. Statistische Homogenisierung
Die Probenteilung für die statistische Homogenisierung wurde nach dem „Cross-riffling"-Verfahren [10] vorgenommen. Das Prinzip ist in der Anlage A beispielhaft dargestellt. Das Verfahren liefert nach einigen Schritten aus einem heterogenen Ausgangsmaterial eine große Anzahl repräsentativer Teilproben sehr guter Homogenität. Die Probenteilung erfolgte bei Verwendung eines rotierenden Probenteilers über vier Stufen mit einer Quer-Rückvermischung („Cross-riffling") nach dem zweiten Teilungsschritt. Insgesamt wurden somit nach dem 4. Teilungsschritt je 256 Teilproben hergestellt.

5. Probenkonfektionierung
Die hergestellten repräsentativen Teilproben wurden zu je 30 ± 1 g in Braunglas-Weithalsflaschen mit Schraubverschluss und Teflondichtung konfektioniert. Jede Flasche wurde mit einer Identitätsnummer versehen. Die Lagerung nach Abfüllung erfolgt seitdem bei -20°C.

3.2 Charakterisierung der Probenmatrix

Die Charakterisierung der homogenisierten Bodenproben in Bezug auf Sekundär-eigenschaften führte zu folgenden Ergebnissen (Tabelle 2).

Tabelle 2: Sekundäreigenschaften der CRM BAM-U008 und BAM-U009

Parameter	BAM-U008	BAM-U009
Siebfraktion	63 – 125 µm	125 – 250 µm
pH-Wert (E DIN ISO 10390-H20)	6,99	6,29
Trockengehalt (E DIN ISO 11465)	99,20%	99,36 %
TOC-Gehalt (ISO 10694)	1,17 %	0,52 %
TIC-Gehalt (ISO 10694)	< 0,01 %	< 0,03 %
Charakterisierung der Mineralphasen mittels XRPD (halbquantitativ)	Quartz 85.9 % Albite 12.5 % Orthoclase 1.6 %	Quartz 95.1 % Albite 4.9 % Orthoclase < 1 %

Die Phasenanalyse wurde im Labor BAM-I.33 durchgeführt.

3.3 Homogenitätsprüfung

3.3.1 Prüfungsschema und Analysenmethode

Die Homogenitätsprüfungen der beiden Referenzmaterialien (je 256 Teilproben) erfolgten an jeweils acht Proben. Sie wurden so ausgewählt, dass jede aus einer anderen der acht Teilproben (A bis H) des letzten Teilungsschrittes der Gesamtmenge beim „Cross-riffling“-Verfahren stammte (Anlage A).
Von jeder Probe wurden unter Wiederholbedingungen vier bzw. fünf unabhängige Gehaltsbestimmungen durchgeführt (GC/ECD-Analyse nach ASE-Extraktion mit Cyclohexan). Die Extraktions- und Analysenbedingungen sind in der Anlage B aufgeführt.

3.3.2 Ergebnisse und Schlussfolgerung

Die experimentellen Daten wurden einer Varianzanalyse unterzogen. In Tabelle 3 sind die Standardabweichungen der PCP-Gehalte innerhalb und zwischen den Proben beider Referenzmaterialien dargestellt.

Tabelle 3: Ergebnisse der Homogenitätsprüfung

CRM	Standardabweichung innerhalb der Probe		Standardabweichung zwischen den Proben	
	in mg/kg	in %	in mg/kg	in %
BAM-U008	0,051	1,6	0,058	1,8
BAM-U009	0,027	2,2	0,031	2,5

Durch Vergleich der Standardabweichung innerhalb der Proben mit der zwischen den Proben nach [11] war für keines der beiden Materialien ein statistisch signifikanter Unterschied nachweisbar. Eine Einbeziehung von Inhomogenitäts-beiträgen zur Gesamtunsicherheit der zertifizierten Werte ist deshalb nicht erforderlich.

4. 5. BAM-Ringversuch „Altlasten“

Im Rahmen des 5.BAM-Ringversuches "Altlasten" [8] waren u.a. die PCP-Gehalte in den beiden Kandidatenmaterialien (BAM-U008 und BAM-U009) zu bestimmen. Vorgeschlagen wurde die Bestimmung der PCP-Gehalte mittels GC/ECD bzw. GC/MS nach E DIN ISO 14154; es wurden jedoch auch Hausmethoden akzeptiert.
An der Bestimmung des Parameters PCP beteiligten sich 103 Laboratorien. In Tabelle 4 sind die Ergebnisse des Ringversuches bzgl. PCP zusammengefasst.

Tabelle 4: Ergebnisse des 5. BAM-Ringversuchs „Altlasten“, Parameter PCP

Probe	XGes (mg/kg)	VR (%)
BAM-U008	1,71	38,6
BAM-U009	2,42	41,4

XGes: Gesamtmittelwert aller Ringversuchsteilnehmer
VR: Vergleichsvariationskoeffizient der Ringversuchsteilnehmer

In BAM-internen Untersuchungen wurden Vergleichsmessungen an diesen Proben durchgeführt. Dabei kamen folgende Verfahren zum Einsatz:

- GC/ECD-Analyse nach ASE („Accelerated Solvent Extraction“, Dionex) mit Cyclohexan und anschließender Acetylierung
- E DIN ISO 14154, GC/ECD-Analyse
- CE/UV-Analyse (Kapillar-Elektrophorese mit UV-Detektion) nach ASE mit Methanol
- HPLC-MS nach ASE mit Methanol

Obwohl der in der BAM nach E DIN ISO 14154 bestimmte PCP-Gehalt mit dem Konsensuswert (nach ISO 5725-Teil 2 ermittelt) des Ringversuches vergleichbar war, ergaben die anderen drei Verfahren höhere Werte. Dies legte den Schluss nahe, dass der empfohlene Norm-Entwurf zu Unterbefunden neigt. Eine eingehende Untersuchung aller Teilschritte des Normentwurfes zeigte einen technischen Fehler auf, der zu unvollständigen Wiederfindungsraten von PCP führt [8]. Diese Tatsache sowie die hohe Methodenvielfalt unterstreicht ebenso wie die in Tabelle 4 dargestellte hohe Verfahrensunsicherheit die Notwendigkeit zur Entwicklung von entsprechenden Referenzmaterialien.
Die aus dem 5. BAM-Ringversuch „Altlasten“ gewonnenen Erkenntnisse führten für den Zertifizierungs-Ringversuch zu folgenden Festlegungen:

- Zertifizierung von zwei Boden-Referenzmaterialien im Gehaltsbereich von 2 – 3 mg PCP/kg Boden
- Durchführung der Zertifizierung als BAM-interne Laborvergleichsuntersuchung
- Verwendung von unterschiedlichen Extraktionsmethoden, Lösemitteln und analytischen Bestimmungsverfahren
- Benutzung von Kalibriersubstanzen zertifizierter Reinheit
- Wechselseitiger Vergleich der Kalibrierlösungen der Ringversuchs-Teilnehmer

5. Stabilitätsprüfung

5.1 Prüfungsschema und Analysenmethode

Die Stabilitätsprüfung des PCP in den Bodenproben erfolgte durch analytischen Vergleich der bei -20°C aufbewahrten Proben mit den für 3, 6, 12 und 24 Monate bei Temperaturen von 4°C, Raumtemperatur (20°C), und 40°C gelagerten Testproben.
Die Stabilitätsuntersuchung für Lagerungszeiten von 3, 6 und 12 Monaten erfolgte nach dem isochronen Verfahren [13], d.h. die Stabilitätsprüfungsproben wurden nach ihrer zeitlich begrenzten Lagerung bei den erhöhten Temperaturen wieder bei -20°C eingefroren und später in einem möglichst kurzen Zeitraum unter konstanten Analysenbedingungen im Vergleich zu einer ausschließlich bei -20°C gelagerten Referenzprobe gemeinsam untersucht. Von jeder Probe wurden vier unabhängige Gehaltsbestimmungen durchgeführt (CE/UV-Analyse nach methanolischer ASE-Extraktion).
Die Extraktions- und Analysenbedingungen sowie die Analysenwerte sind in der Anlage C aufgeführt.

5.2 Ergebnisse und Schlussfolgerung

Zur Bewertung der Stabilität wurden die im Zertifizierungs-Ringversuch ermittelten Grenzen der 95 % Vertrauensintervalle der zertifizierten Werte herangezogen [14]. Die untere Grenze des 95% Vertrauensintervalls des zertifizierten Wertes sollte durch Werte der Stabilitätsstudie nicht unterschritten werden.

Die Abbildungen 2 und 3 zeigen die zeitlichen Abhängigkeiten der PCP-Gehalte, ausgedrückt als Wiederfindungsrate in Prozent (bezogen auf die PCP-Gehalte der Referenzproben) bei den Lagerungstemperaturen von 4°C, Raumtemperatur (20°C) und 40°C.

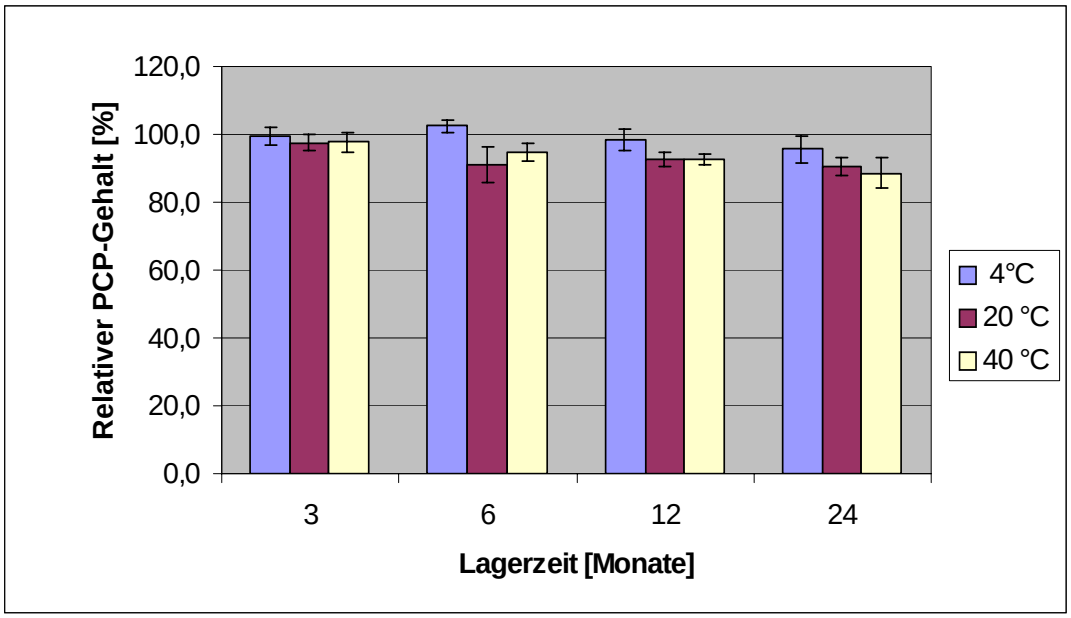


Abbildung 2: Stabilitätstest BAM-U008

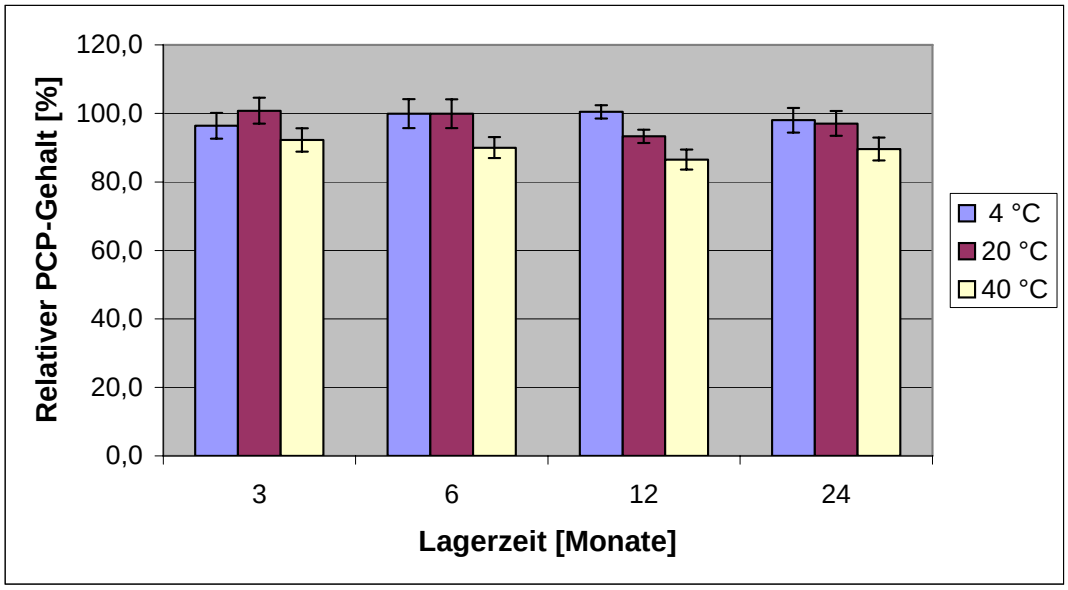


Abbildung 3: Stabilitätstest BAM-U009

Die thermische Degradation von PCP im Boden lässt sich vereinfacht mit einem auf der Arrhenius-Gleichung [19] beruhenden Reaktionsmodell beschreiben. Da aufgrund der Herkunft der Materialien davon ausgegangen werden kann, dass der Abbau in beiden Referenzmaterialien in gleicher Weise erfolgt, können die aus den Stabilitätsprüfungen beider Materialien ermittelten Werte zusammengefasst werden. Die den Abbau von PCP beschreibende Reaktionsrate k(T) ist in der Abbildung 4 logarithmisch über der reziproken Temperatur aufgetragen. Näherungsweise lässt sich k(T) mit einer Gerade beschreiben.

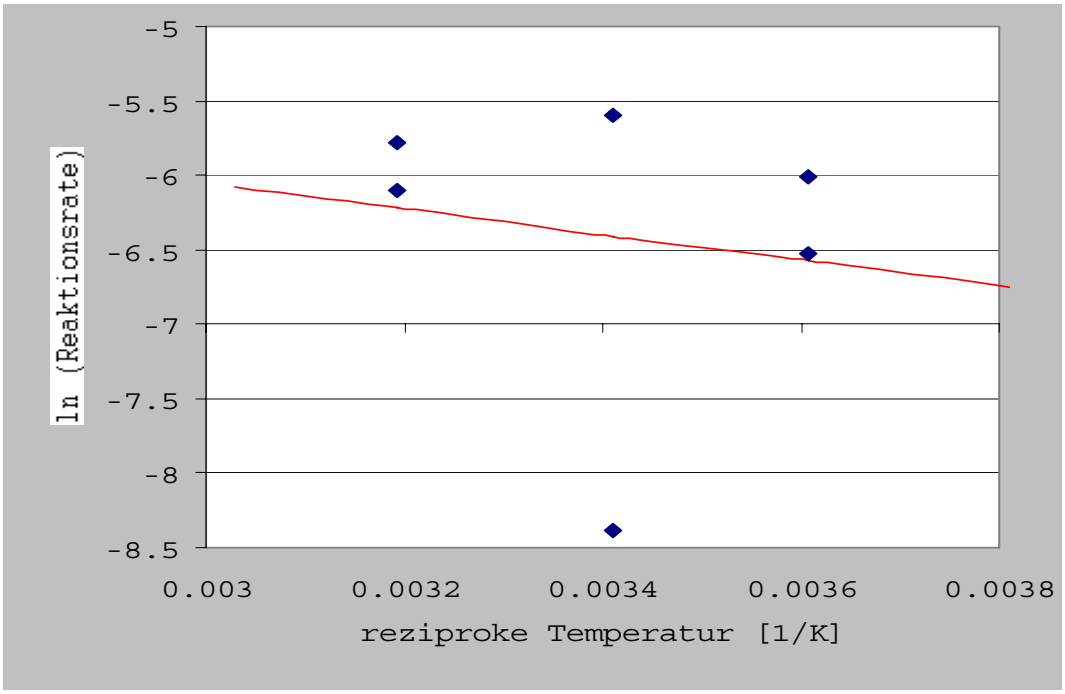


Abbildung 4: Reaktionsrate für PCP in Abhängigkeit von der Temperatur (halblogarithmische Auftragung)

Die daraus bestimmte Aktivierungsenergie ΔE beträgt 0,102 kJ/mol. Mit den so gewonnenen Daten lässt sich eine Mindesthaltbarkeit abschätzen. Unter Zugrundelegung der zertifizierten Werte und der Breiten der jeweiligen Vertrauensbereiche erhält man für die Lagertemperaturen -20°C und 4°C die in Tabelle 5 angegebenen Mindesthaltbarkeiten.

Tabelle 5: Mindesthaltbarkeiten der Referenzmaterialien bzgl. ihrer zertifizierten PCP-Gehalte

CRM	Mindesthaltbarkeit	
	bei -20°C	bei 4°C
BAM-U008	87 Monate	65 Monate
BAM-U009	77 Monate	57 Monate

Somit kann bei Einhaltung der in Abschnitt 7 angegebenen Lagerbedingungen von einer Mindesthaltbarkeit von 5 Jahren ausgegangen werden.

6. Zertifizierung

6.1 Teilnehmer und eingesetzte Methoden

Die Zertifizierung der Referenzmaterialien wurde als BAM-interne Laborvergleichsuntersuchung durchgeführt. Diese Möglichkeit wird im BAM-Leitfaden für die Herstellung und Zertifizierung von Referenzmaterialien [15] unterstützt. Es nahmen drei Laboratorien der BAM mit fünf unabhängigen Messplätzen an der Zertifizierung teil, wobei unterschiedliche Extraktionsmethoden, Extraktionsmittel und analytische Nachweisverfahren eingesetzt wurden. In Tabelle 6 sind die an den unterschiedlichen Messplätzen eingesetzten Extraktionsmethoden, die Extraktionsmittel und die analytischen Nachweismethoden sowie die im Bericht benutzten Kurzbezeichnungen für die Methoden zusammengefasst.

Tabelle 6: Teilnehmer und eingesetzte Methoden beim Zertifizierungs-Ringversuch

BAM-Labor	Extraktions-methode	Extraktions-mittel	Analysen-methode	Methoden-bezeichnung
I.21	ASE™	Cyclohexan/Aceton (1:1)	GC/ECD	1-GC/ECD
I.22	Ultraschall	Cyclohexan/Aceton (1:1)	GC/ECD	2-GC/ECD
I.22	Ultraschall	Cyclohexan/Aceton (1:1)	GC/MS	3-GC/MS
I.23	ASE™	Methanol	CE/UV	4-CE/UV
I.23	ASE™	Methanol	HPLC/MS	5-HPLC/MS

Zur Quantifizierung wurden bei allen Methoden interne Standards eingesetzt, bei der GC/MS wurde dazu ein Isotopenstandard benutzt.
Die detaillierte Beschreibung aller eingesetzten Methoden erfolgt in Anlage D.

6.2 Kalibrierstandards und Lösemittel

Zur Kalibrierung wurde für alle Ringversuchs-Teilnehmer PCP der Hersteller-Firma IPO mit einer zertifizierten Reinheit > 99,8% bereitgestellt (IPO 560). Die Korrektur der experimentell ermittelten Gehalte auf die Reinheit der Kalibriersubstanzen ist in Abschnitt 6.4.2 beschrieben. Sowohl die eingesetzten internen Standards als auch die Lösemittel (Anlage D) wurden auf ihre Blindwerte überprüft.
Vor dem Zertifizierungs-Ringversuch wurde ein wechselseitiger Vergleich der von jedem Teilnehmer unabhängig hergestellten PCP-Kalibrierlösungen durchgeführt. Ziel dieses Vergleichs war die Überprüfung der eigenen Kalibrierung mit den Kalibrierlösungen der anderen Ringversuchs-Teilnehmer.
Der wechselseitige Vergleich wurde mit drei unabhängig hergestellten Lösungen an vier Messplätzen durchgeführt. Die mittleren Abweichungen von den gravimetrischen Werten betrug < 1 %, die maximale Abweichung 3,5 %.

6.3 Ergebnisse des Zertifizierungs-Ringversuchs

Der Zertifizierungs-Ringversuch wurde an allen Messplätzen gleichzeitig begonnen und unabhängig durchgeführt. Von beiden zu zertifizierenden Materialien waren jeweils vier unabhängige PCP-Gehaltsbestimmungen durchzuführen.
Die Extraktions- und Analysenbedingungen sowie die einzelnen Messwerte und die Analysenauswertung sind in Anlage D aufgeführt.
Die Mittelwerte der BAM-Messplätze mit ihren Standardabweichungen sowie der zertifizierte Wert (durchgezogene Linie) und der auf der Standardabweichung des Mittelwertes der Messplatzmittelwerte basierende (mit $t_{\alpha=0.05,F=4}$ erweiterte) Vertrauensbereich (gestrichelte Linie) sind als Ergebnis des Zertifizierungs-Ringversuchs in den Abbildungen 5 und 6 graphisch wiedergegeben.

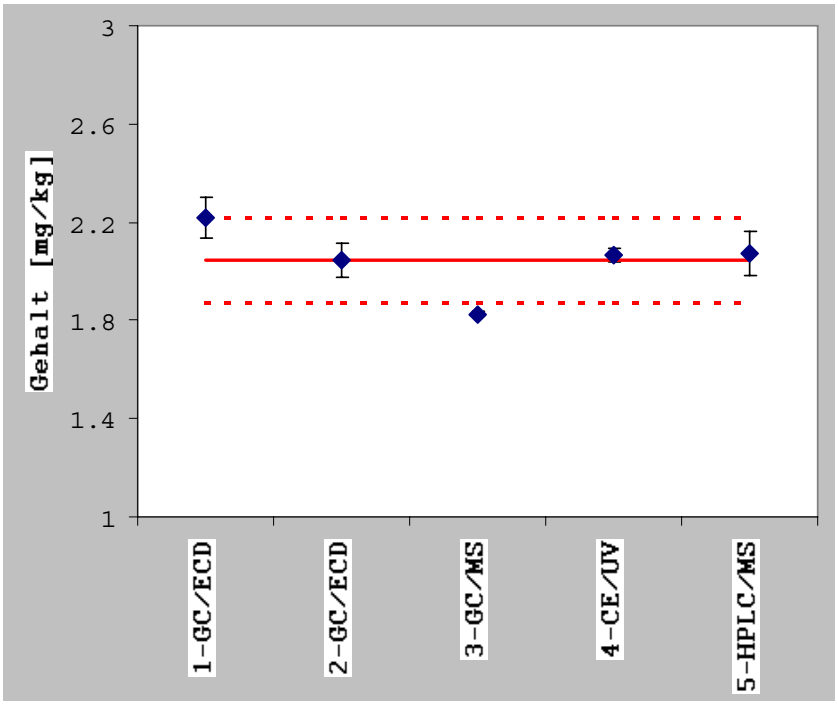


Abbildung 5: Ergebnisse des Zertifizierungs-Ringversuchs für BAM-U008

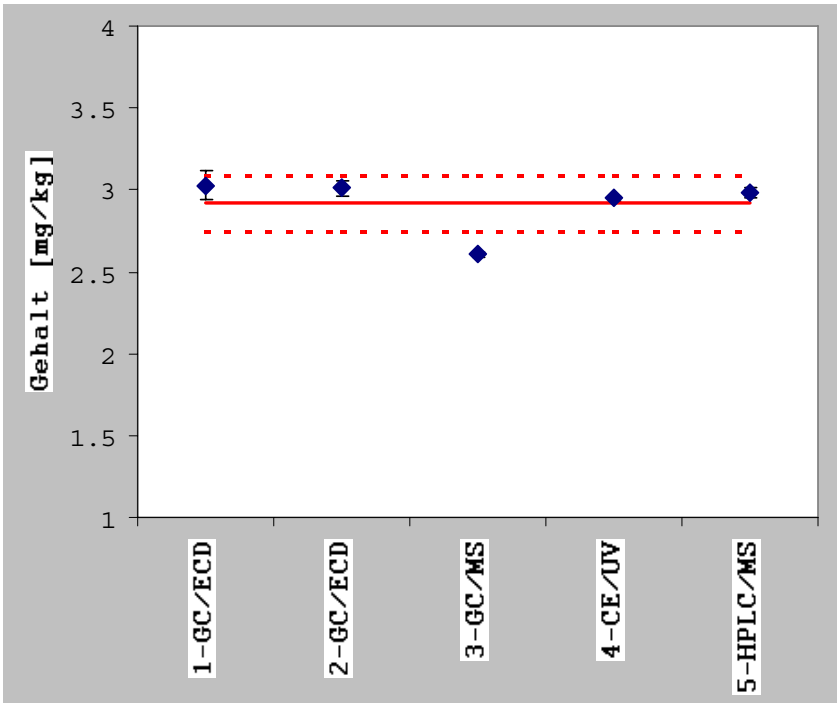


Abbildung 6: Ergebnisse des Zertifizierungs-Ringversuchs für BAM-U009

Zur Absicherung der Analysenergebnisse wurde für BAM-U009 an drei Messplätzen eine zusätzliche Gehaltsbestimmung nach dem Standardadditionsverfahren (Aufstockung) vorgenommen; für BAM-U008 nur an einem Messplatz (Tabelle 7). Die Quantifizierung erfolgte bei allen Methoden über den Flächen-Response nach dem Internen-Standard-Verfahren.

Tabelle 7: PCP-Gehaltsbestimmung nach Standardadditionsverfahren

CRM	PCP-Massenanteil nach Standardadditionsverfahren / (mg/kg)		
	Messplatz 1-GC/ECD	Messplatz 4-CE/UV	Messplatz 5-HPLC/MS
BAM-U008	-	2,14	-
BAM-U009	3,13	3,13	3,08

Die Auswertung der Ergebnisse nach dem Standardadditionsverfahren ist in Abschnitt 6.4.3 beschrieben. Die danach bestimmten Gehalte bestätigen die Ergebnisse des Zertifizierungs-Ringversuchs (vgl. Abschnitt 6.4.4).
Die beim Zertifizierungs-Ringversuch an den fünf BAM-Messplätzen erhaltenen Einzelwerte, Standardabweichungen und Mittelwerte der PCP-Gehalte beider Materialien sind in Anlage D aufgelistet. Die dort angegebenen Werte sind nicht bezüglich der Reinheit der verwendeten Kalibriersubstanzen korrigiert.

6.4 Auswertung der Ergebnisse, zertifizierter Wert und Unsicherheit

Durchführung und Auswertung des Zertifizierungs-Ringversuchs erfolgten auf der Basis der BAM-Richtlinie für die Herstellung und Zertifizierung von Referenzmaterialien [15]. Die Datenverarbeitung und statistischen Tests wurden mit dem vom BCR herausgegebenen Computer-Programm [16] durchgeführt.

6.4.1 Statistische Bewertung der Ringversuchsergebnisse

Der Auswertung wurden alle von den Ringversuchsteilnehmern vorgelegten Messdaten zugrundegelegt. Da für die Probenvorbereitung unterschiedliche Extraktions-, Separations- und Detektionsverfahren zum Einsatz kamen, war nicht anzunehmen, dass die gemessenen Einzelwerte der Ringversuchs-Teilnehmer einer gemeinsamen Grundgesamtheit entstammen. Diese Annahme wurde durch die statistische Auswertung auf der Basis der Messplatzmittelwerte bestätigt.

Berechnet wurden:

- der Mittelwert der Messplatzmittelwerte
- die Standardabweichung der Population der Messplatzmittelwerte sowie des Mittelwertes der Messplatzmittelwerte
- der Vertrauensbereich für den Mittelwert auf dem 95%-Vertrauensniveau

Ausgeführt wurden folgende statistische Tests (auf dem Signifikanzniveau von 0,05 und 0,01):

- Cochran-Test zur Ermittlung von Ausreißern bezüglich der Varianz
- Grubbs-Test zur Ermittlung von Ausreißern bezüglich des Messplatzmittelwertes
- Dixon- und Nalimov-Test zur Absicherung eventueller Ausreißerindikationen
- Kolmogorov-Smirnov-Test (Lilliefors-Version) zum Test der Daten auf Normalverteilung

Bei der gewählten Auswertungsart zeigten die statistischen Tests in der Regel erwartungsgemäß die folgenden Ergebnisse:

- Scheffé- und Snedecor-F-Test: Die Datensätze sind signifikant verschieden.
- Bartlett-Test: Die Varianzen sind homogen auf dem Signifikanzniveau 0,05, jedoch inhomogen auf dem Signifikanzniveau 0,01.
- Cochran-Test: Die Varianzen zeigen keine Ausreißer (Signifikanzniveau 0,01).
- Dixon-, Grubbs- und Nalimov-Test: Die Messplatzmittelwerte enthalten keine Ausreißer (Signifikanzniveau 0,01).
- Kolmogorov-Smirnov-Test: Der Hypothese, dass die Daten normalverteilt sind, kann mit dem vorhandenen Datenmaterial nicht widersprochen werden.

Abweichend davon erwiesen sich die Datensätze für BAM-U008 als paarweise kompatibel (Scheffé-Test), und der Nalimov-Test indizierte für BAM-U009 einen Ausreißer, der jedoch weder vom Dixon- noch von dem entscheidenden Grubbs-Test bestätigt wurde. Anhang D5 listet die Einzelwerte der Ringversuchs-Teilnehmer und die Ergebnisse der statistischen Auswertung auf. Für die Durchführung von Tests auf Schiefe und Kurtosis der Datenverteilung war die Zahl der Datenpunkte zu gering.

Die statistische Auswertung des Zertifizierungs-Ringversuchs ergab für die Mittelwerte der Messplatzmittelwerte und deren Standardabweichung die in Tabelle 8 dargestellten Werte.

Tabelle 8: Ringversuchsergebnisse

CRM	PCP-Massenanteile in mg/kg	
	Mittelwert der Messplatzmittelwerte	Standardabweichung des Mittelwertes
BAM-U008	2,05	0,06
BAM-U009	2,92	0,08

6.4.2. Unsicherheitsbetrachtung für die eingesetzten Bestimmungsverfahren

Das Unsicherheitsbudget für die Bestimmungsverfahren der BAM-Messplätze 3, 4 und 5 (vgl. Tabelle 5) wurde anhand der Analysenvorschrift modellartig für eine repräsentative Einzelmessung erstellt. Die Unsicherheit einer Bestimmung setzt sich zusammen aus

- der Unsicherheit der verwendeten Standards aus deren gravimetrischer Präparation
- der Unsicherheit der Parameter der Kalibrierfunktion
- der Unsicherheit bei der Aufarbeitung der Probe.

Die Unsicherheit der gravimetrischen Präparation ist bestimmt durch die Unsicherheit der Waage bei der jeweiligen Last. Bei einer gleichzeitigen Verdünnung ist aus den Werten m_0 (Masse des Gefäßes), m_1 (Masse des Gefäßes plus Masse der Substanz) und m_2 (Masse des Gefäßes plus Masse der Substanz plus Masse des Lösemittels) die Konzentration und deren Unsicherheit nach

$$c_s = (m_1 - m_0)/(m_2 - m_0)$$

$$u^2(c_s) = [(m_1 - m_2)/(m_2 - m_0)^2]^2 * u^2(m_0) + [1/(m_2 - m_0)]^2 * u^2(m_1) + [(m_1 - m_0)/(m_2 - m_0)^2]^2 * u^2(m_2)$$

zu ermitteln. Durch mehrfaches Anwenden der Grundstruktur auf die Abfolge der Wäge- und Verdünnungsschritte ergab sich die Unsicherheit der präparierten Standards sowie der Spike-Lösungen.

Die Parameter der Kalibriergeraden wurden aus der üblichen OLS-Regression („Ordinary Least Squares“), die Unsicherheiten der Parameter jedoch mittels Propagation der sowohl den y- als auch den x-Werten anhaftenden Unsicherheiten ermittelt.

Bei der Einwaage der Probe entsteht ein Unsicherheitsbeitrag aus der Gravimetrie wie oben beschrieben. Hinzu kommt die Unsicherheit der Extraktion, deren Beitrag auf der Grundlage der Wiederfindungsexperimente abgeschätzt wurde.
Schließlich wurden die Unsicherheitsbeiträge der Auftriebskorrekturen der verschiedenen Wägeschritte sowie der Korrektur auf die Reinheit der eingesetzten

Kalibrierstandards (globaler Korrekturterm mit Unsicherheit) berücksichtigt. Dieses ergab für eine repräsentative Bestimmung an dem jeweiligen Material die in der Tabelle 9 zusammengestellten Werte.

Tabelle 9 Relative Unsicherheiten repräsentativer PCP-Gehaltsbestimmungen

Messplatz -Verfahren	Relative Unsicherheit in % BAM-U008	BAM-U009
3-GC/MS	2,8	2,9
4-CE/UV	2,5	2,5
5-HPLC/MS	3,1	3,0

Die Ergebnisse der Modellrechnung stimmen gut mit den experimentell für die Verfahren ermittelten Reproduzierbarkeiten zwischen 2% und 4% überein.

6.4.3. Rückführbarkeit und Wiederfindung

Die Rückführbarkeit der zertifizierten Werte wird über die Verwendung von reinen Kalibriersubstanzen sichergestellt. Die Berücksichtigung der Unsicherheit der Reinheitsangabe wird in Abschnitt 6.4.4 beschrieben.
Abbildung 7 zeigt die an Messplatz 5 -HPLC/MS nach dem Standardadditions-verfahren erhaltenen Ergebnisse, die angepasste Gerade sowie deren Vertrauensbereich (auf dem 1σ-Niveau).

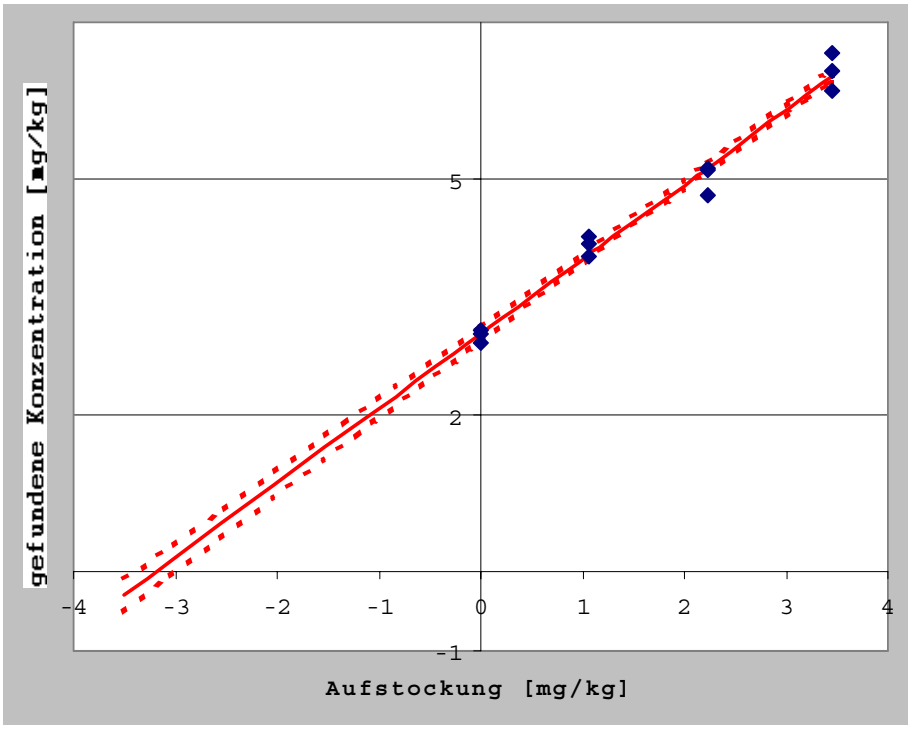


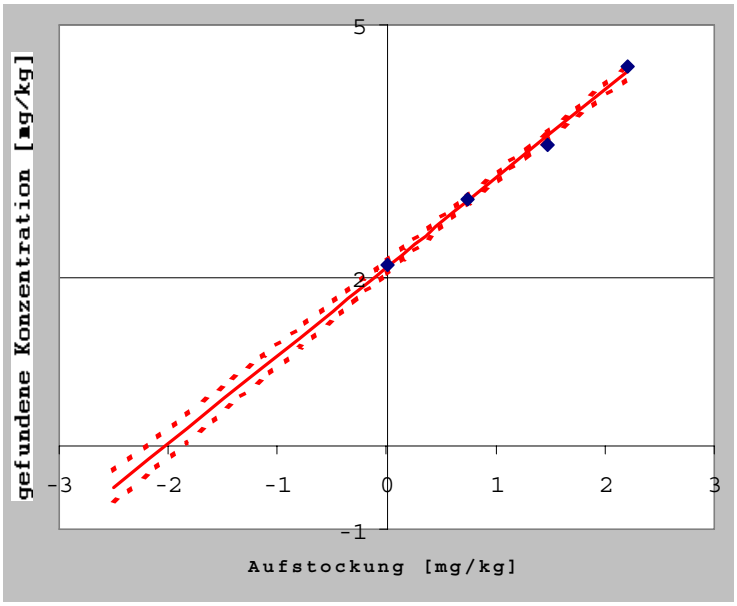
Abbildung 7: Standardadditionsverfahren für BAM-U009 (Messplatz 5 -HPLC/MS), die Kenndaten sind in Tabelle 10 dargestellt

Die Kenndaten der angepassten Gerade sowie die aus dem Abszissenabschnitt der angepassten Gerade bestimmte Konzentration der nicht aufgestockten Probe sind in Tabelle 10 wiedergegeben.

Tabelle 10: Kenndaten des Standardadditionsverfahrens für BAM-U009 (Messplatz 5 -HPLC/MS)

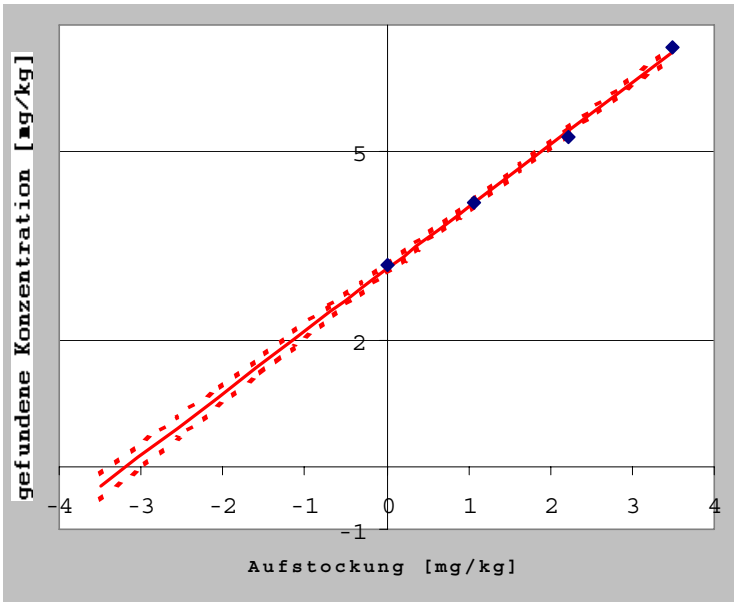
Parameter	Wert
Achsenabschnitt der angepassten Gerade [mg/kg]	3,036
Unsicherheit des Achsenabschnittes [mg/kg]	0,086
Steigung der angepassten Gerade	0,951
Unsicherheit der Steigung	0,041
Massenanteil, bestimmt aus dem Abszissenabschnitt [mg/kg]	3,195
Unsicherheit des o.g. Massenanteiles [mg/kg]	0,201

Tabelle 10 ist zu entnehmen, dass weder die Steigung der angepassten Gerade signifikant (d.h. im Rahmen ihrer Unsicherheit) von Eins verschieden ist, noch sich die für die nicht aufgestockte Probe direkt sowie nach dem Standardadditionsverfahren (Abszissenabschnitt) bestimmten Gehalte signifikant voneinander unterscheiden (t-Test auf dem Signifikanzniveau 0,05).
Die Wiederfindung ist damit als vollständig anzunehmen, d.h. eine Korrektur auf die Wiederfindung ist nicht erforderlich. Dieses wird durch die Ergebnisse der Gehaltsbestimmung nach dem Standardadditionsverfahren mit der Methode CE/UV an Proben beider Gehaltsniveaus weiter untermauert (vgl. Abbildungen 8 und 9).




```
Achsenabschnitt der angepassten Gerade [mg/kg]:      2,128
Unsicherheit des Achsenabschnittes [mg/kg]:          0,073
Steigung der angepassten Gerade:                     1,050
Unsicherheit der Steigung:                           0,053
Massenanteil, bestimmt aus dem Abszissenabschnitt [mg/kg]: 2,027
Unsicherheit des o.g. Massenanteiles [mg/kg]:              0,093
```

Abbildung 8: Standardadditionsverfahren für BAM-U008 (Messplatz 4 -CE/UV)



Achsenabschnitt der angepassten Gerade [mg/kg]:	3,136
Unsicherheit des Achsenabschnittes [mg/kg]:	0,081
Steigung der angepassten Gerade:	0,985
Unsicherheit der Steigung:	0,038
Massenanteil, bestimmt aus dem Abszissenabschnitt [mg/kg]:	3,184
Unsicherheit des o.g. Massenanteiles [mg/kg]:	0,115

Abbildung 9: Standardadditionsverfahren für BAM-U009 (Messplatz 4-CE/UV)

6.4.4. Zertifizierter Wert, kombinierte Unsicherheit und Reinheitskorrektur

Aus der statistischen Auswertung ist ersichtlich, dass neben dem signifikanten Bias zwischen den Verfahren jedes einzelne Verfahren mit seiner individuellen Unsicherheit zur Unsicherheit des zertifizierten Wertes beiträgt. Als Schätzer für den Beitrag des Bias zur Unsicherheit des Mittelwertes der Labormittelwerte wurde die ermittelte Standardabweichung σ_{mmw} dieses Mittelwertes zugrundegelegt und diese nach

$$u_{mmw}^2 = \sigma_{mmw}^2 + 1/n^2 * \sum \sigma_{lmw,\,i}^2$$

entsprechend den Regeln der Unsicherheitsfortpflanzung um die Beiträge der Labormittelwerte (geschätzt als deren Standardabweichung σ_{lmw}) erweitert.

Für die Korrektur der ermittelten PCP-Gehalte auf die Reinheit der verwendeten Kalibriersubstanzen wurde zunächst die Angabe des Herstellers in einen Korrekturwert und eine Unsicherheit des Korrekturwertes umgewandelt. Dabei wurde angenommen, dass die Wahrscheinlichkeit, den wahren Wert oberhalb der angegebenen Grenze zu finden, einer Dreiecksverteilung (mit der Wahrscheinlichkeit Null bei 100% Reinheit) folgt. Die experimentell ermittelten Gehalte wurden mit dem Korrekturwert korrigiert.

Die kombinierte (relative) Unsicherheit des (korrigierten) Wertes ergab sich entsprechend

$$u_{com,\,r}^{\,2} = u_{mmw,\,r}^{\,2} + u_{rein,\,r}^{\,2}$$

als Kombination der aus dem Ringversuch als Standardabweichung des Mittelwertes der Messplatzmittelwerte geschätzten Zwischenmessplatz-Standardabweichung (siehe Abschnitt 6.4.1) und des Beitrages der Reinheitskorrektur.

Die Zahl der Freiheitsgrade der Beiträge zur kombinierten Unsicherheit (3 für σ_{lmw}, 4 für σ_{mmw} und sehr groß - hier wird 100 angenommen - für u_{rein}) wird nach [12] zu einem effektiven Freiheitsgrad für die kombinierte Unsicherheit zusammengefasst, aus der sich - je nach Gewicht der Beiträge - der t-Faktor 2,571 (BAM-U008) bzw. 2,776 (BAM-U009) für die Berechnung des Vertrauensintervalls ergibt.

Die auf die Reinheit der Kalibriersubstanzen korrigierten zertifizierten Werte, deren Unsicherheiten und die entsprechenden Vertrauensintervalle sind in Tabelle 11 zusammengefasst.

Tabelle 11 Zertifizierte PCP-Massenanteile für BAM-U008 und BAM-U009

CRM	PCP-Massenanteil in mg/kg		
	Zertifizierter Wert, korrigiert	Unsicherheit des Wertes	Halbe Breite des Vertrauensintervalls
BAM-U008	2,04	0,07	0,18
BAM-U009	2,91	0,09	0,23

Die zertifizierten Werte und deren Unsicherheiten berücksichtigen die Rundungsvorschriften nach [15] .

7. Hinweise für den Nutzer

Die Referenzmaterialien BAM-U008 und BAM-U009 sind in 50 mL Braunglas-Weithalsflaschen mit jeweils 31 ± 1g Material zu beziehen. Die Flaschen sind mit Teflon-gedichteten Schraubverschlüssen versehen, über Teflonfolien abgedichtet und mit Schrumpffolie versiegelt.

Das Material ist bei -20°C aufzubewahren. Eine kurzzeitige Temperierung auf Raumtemperatur zum Zwecke des Transportes und der Probenahme beeinflusst nicht die Stabilität des Referenzmaterials (siehe Anlage C). Zur Entnahme einer Teilmenge ist die Probe nach Temperierung auf Raumtemperatur gut zu durchmischen. Danach ist die Flasche fest zu verschließen und bei -20°C zu lagern.
Für eine PCP-Gehaltsbestimmung wird eine Materialeinwaage von 5 Gramm empfohlen.

Die Stabilitätsuntersuchungen deuten auf eine Stabilität von mindestens 5 Jahren hin (zum Zeitpunkt der 24-Monate-Stabilitätsstudie im Februar 2002).
Sollten bei periodisch durchgeführten Tests vor Ablauf von 3 Jahren signifikante Veränderungen auftreten, wird die BAM alle bekannten Nutzer der Referenzmaterialien informieren und das Material so bald als möglich durch neu zertifizierte Einheiten ersetzen. Sollte das Material nach weitergeführten Messungen zur Stabilität über den vorhergesagten Zeitraum verwendbar sein, wird eine entsprechende Information über das Internet abrufbar gemacht (http://www.bam.de/service/referenzmaterialien/rm_aktuell_i.htm).

Die Referenzmaterialien BAM-U008 und BAM-U009 können zur Bestimmung von PCP in Boden zur Bestätigung der Beherrschung des eigenen analytischen Verfahrens des Labors oder des Verfahrens nach E DIN ISO 14154 benutzt werden. Der Anwender kann sein Ergebnis mit dem zertifizierten Wert vergleichen, wenn er die Wiederholpräzision seiner Methode ermittelt hat.

Für den Einzelmesswert kann sich der Anwender an dem Bereich, der 95% aller im Zertifizierungs-Ringversuch ermittelten Einzelwerte enthält oder am Toleranzintervall, das 95% der Grundgesamtheit mit 95%iger Wahrscheinlichkeit enthält, orientieren. Beide Kenngrößen sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt:

CRM	95%-Bereich der Einzelwerte in mg/kg	95%-Toleranzintervall in mg/kg
BAM-U008	1,82 ... 2,33	0,39
BAM-U009	2,59 ... 3,14	0,49

8. Literatur

[1] Stoffbericht PCP, Texte und Berichte zur Altlastenbearbeitung 25/96, LA f Umweltschutz Baden-Württemberg (http://www.uvm.baden-wuerttemberg.de/xfaweb/index.html)

[2] J. Muir, G. Eduljee, PCP in the freshwater and marine environment of the European Union, Sci Total Environ (1999)236, 41 - 56

[3] R. Koch, B.O. Wagner, Umweltchemikalien, Physikalisch-Chemische Daten, Toxizitäten, Grenz- und Richtwerte, Umweltverhalten, VCH-Weinheim (1989)

[4] Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung (BBodSchV), vom 12. Juli 1999

[5] Senatsverwaltung für Inneres, Amtsblatt für Berlin, Bewertungskriterien für die Beurteilung stofflicher Belastungen von Böden und Grundwasser in Berlin (Berliner Liste 1996), vom 20. März 1996

[6] E DIN ISO 14154, 1998, Bodenbeschaffenheit - Bestimmung von ausgewählten Chlorphenolen in Böden - Gaschromatographisches Verfahren

[7] Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA), Methodenbuch, Band VII, Umweltanalytik, 1996, Bestimmung ausgewählter PCB-Einzelkomponenten und chlorierter Kohlenwasserstoffe in Böden, Klärschlämmen und Komposten

[8] R. Becker und H.Scharf, 5. BAM-Ringversuch „Altlasten“, Januar 2000

[9] Guidelines for the production and certification of BCR reference materials, Doc. BCR/48/93 (15. December 1994)

[10] A.M.H. van der Veen, D.A.G. Nater: Sample preparation from bulk samples: an overview, Fuel Processing Technology 36 (1993) 1-7

[11] ISO Guide 35: Certification of reference materials- General and statistical principles. ISO, Geneva (1989)

[12] Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement, ISO, Geneva (1995)

[13] A. Lamberty, H. Schimmel, J. Pauwels, „The study of the stability of reference materials by isochronous measurements“, Fresenius J. Anal. Chem. (1998) 360:359-361

[14] J. Pauwels, A. Lamberty, H. Schimmel „Quantification of the Expected Shelf-Life of Certified Reference Materials“, Report Version 12/9/97, European Commission, Joint Research Centre, IRMM, B-2240 Geel, Belgium

[15] Guidelines for the production and certification of BAM reference materials, BAM, 1997

[16] BCR Software zur Ringversuchsauswertung, 1996

[17] The IAEA Database of Natural Matrix Reference Materials, International Atomic Energy Agency (IAEA), Wien (http://www.iaea.or.at/programmes/nahunet/e4/nmrm/index.htm)

[18] COMAR database for certified reference materials, BAM (http://www.comar.bam.de/)

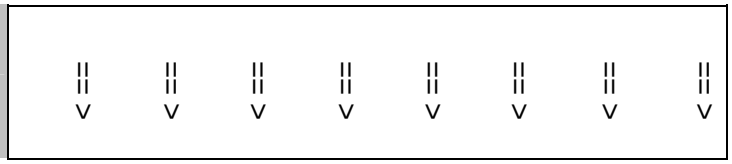
[19] W.Stiller, Arrhenius Equation and Non-Equilibrium Kinetics, Teubner Verlag, Leipzig, 1989

ANHANG

Anlage A Probenteilung nach dem „Cross-riffling“ -Verfahren

Homogenisierte Gesamtmenge

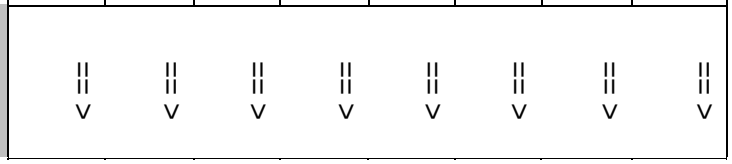
1. Teilungsschritt:



1	2	3	4	5	6	7	8

8 Teilproben (1 - 8)

2. Teilungsschritt:



101	202	303	404	505	606	707	808	== > A
102	203	304	405	506	607	708	801	== > B
103	204	305	406	507	608	701	802	== > C
104	205	306	407	508	601	702	803	== > D
105	206	307	408	501	602	703	804	== > E
106	207	308	401	502	603	704	805	== > F
107	208	301	402	503	604	705	806	== > G
108	201	302	403	504	605	706	807	== > H

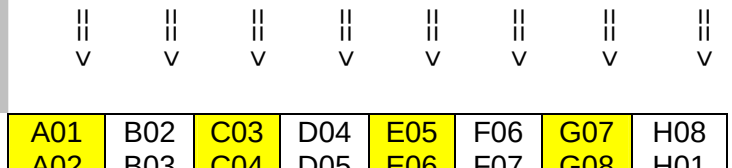
Cross-riffling:

Aufteilung jeder Teilprobe aus Schritt 1 in je 8 Teilproben (insges. 64 Teilproben, 101 -808);
Vereinigung von je 8 Teilproben aus Schritt 2 zu einer der 8 Teilproben A - H (Cross-riffling-Schritt

A	B	C	D	E	F	G	H

8 Teilproben (A - H)

3. Teilungsschritt:



A01	B02	C03	D04	E05	F06	G07	H08
A02	B03	C04	D05	E06	F07	G08	H01
A03	B04	C05	D06	E07	F08	G01	H02
A04	B05	C06	D07	E08	F01	G02	H03
A05	B06	C07	D08	E01	F02	G03	H04
A06	B07	C08	D01	E02	F03	G04	H05
A07	B08	C01	D02	E03	F04	G05	H06
A08	B01	C02	D03	E04	F05	G06	H07

64 Teilproben (A01 bis H08)

Vereinigung: Zu vereinigende Teilproben:

Je 2 aufeinanderfolgende der 64 Teilproben (A01bis A02, A03 bis A04, usw.)
zu 32 Teilproben (A01-A02 bis H06-H07)

4. Teilungsschritt: Aufteilung jeder der 32 Teilproben (A01-A02 bis H06-H07) in je 8 Teilproben

==> 256 Teilproben

Anlage B Homogenitätsprüfung GC/ECD-Analyse nach ASE-Extraktion

B1 Geräte und Chemikalien

- ASE 200 der Fa. DIONEX
- GC/ECD-System 6890 mit Autosampler, Fa. HP
- Lösemittel: Cyclohexan
- Messkolben 25mL, 40 mL
- Glasfläschchen ASE - Vials
- Seesand 40 - 200 mesh
- Tribromphenol (TBP) – interner Standard 1 (ISTD 1)
- PCB 52 – interner Standard 2 (ISTD 2)
- K_2CO_3-Lösung, 0,1 mol/L
- Na_2SO_4
- Pyridin-Lösung, 10 %
- Essigsäureanhydrid

B2 Methode

B2.1 ASE-Extraktion und Extraktreinigung

- ASE mit Cyclohexan, 10 min statisch bei 100°C und 140 bar von 5 g Boden, ca. 7 g Seesand, TBP (ISTD 1), 1 mL Pyridinlösung, 2 mL Essigsäureanhydrid
- Eluat mit 40 mL K_2CO_3-Lösung waschen
- über Na_2SO_4 in 25mL Messkolben filtrieren
- vor dem genauen Auffüllen PCP52 (ISTD 2) dosieren

B2.2 GC/ECD-Analysenbedingungen

- Säule: HP-5MS, 30 m, 0,32 mm ID, 0,25 µm Filmdicke
- Injektor: split/splitlos, 1min splitlos, Injektionsvolumen 1µL, 250°C
- Ofen: 50°C (1min) mit 50°/min auf 168°C, mit 4°/min auf 310°C (20min)
- Detektor: ECD bei 350°C
- Trägergas: Wasserstoff, 152 kPa Vordruck

B3 Analysenauswertung

- Flächenresponse, Verfahren „Interner Standard“ (TBP)
- Kurventyp: linear
- Berechnung mit der Chem-Station , Fa. HP

Anlage C Stabilitätsprüfung CE/UV-Analyse nach ASE-Extraktion

C1 Geräte und Chemikalien

- ASE 200 der Fa. DIONEX
- CE-System HP 3D, Fa. HP
- Lösemittel Methanol, Fa. Baker
- Seesand, purum p.a., 40-200 mesh der Fa. Fluka
- ASE-Vials 40 mL
- Braunglasvials (22 ml) mit Teflondichtung
- CE-Vials 1mL
- 2,3,6-Trichlorphenol (TCP), Fa. Ehrenstorfer
- Na_2HPO_4 –Pufferlösung, 50 mM
- Membranfilter PTFE, 25 mm, 0,25 µm, Fa. Nalgene
- Einmalspritzen 20mL
- entionisiertes Wasser

C2 Methode

C2.1 ASE-Extraktion und Filterung

- ASE mit Methanol, 16 min statisch bei 130°C und 150 bar von
  5 g Boden, ca. 7 g Seesand, 0,5 mL (grav.) TCP-Lösung (interner Standard)
- Auffüllen des Extraktes (ca. 17 mL) auf 20 mL mit Methanol
- Verdünnung mit entionisiertem Wasser (Verhältnis 1:1)
- Membranfiltration

C2.2 CE/UV-Analysenbedingungen

Kapillarelektrophorese mit UV-Detektion (CE-UV)
Gerät : HP 3D-CE, Fa. HP
Kapillare : 50 µm x 54 cm „Bubble-Cell“-Kapillare
Temperatur : 20°C
Elektrolyt : Na_2HPO_4 –Pufferlösung, 50 mM
Spülung : 3 min
Injektion : 30 s (50 mbar) Probe, 30 s (50 mbar) Phosphatpuffer
Spannung/Strom : +17 kV, 200 µA
Detektion : UV-DAD, 214 nm, Band Width 20 nm, Peak Width > 0,03 min (0,05)

C3 Analysenauswertung und Ergebnisse

Die quantitative Auswertung erfolgte mit dem Verfahren „Interner Standard“ (TCP) über Flächenresponse mit Bracket-Kalibrierung. Die Tabellen C31 und C32 zeigen die Wiederfindungsraten des PCP-Gehaltes in Abhängigkeit von der Lagerdauer der Referenzmaterialien BAM-U008 und BAM-U009 bei den verschiedenen Temperaturen. Die Wiederfindungsraten (WFR) stellen das prozentuale Verhältnis der Mittelwerte von vier unabhängigen Gehaltsbestimmungen zum Mittelwert (vier

unabhängige Gehaltsbestimmungen) der bei -20°C gelagerten Referenzproben und s_r die relativen Standardabweichungen der Einzelwerte dar.

Tabelle C31 Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchung BAM-U008

Monate	4°C		20°C		40°C	
	WFR (%)	s_r (%)	WFR (%)	s_r (%)	WFR (%)	s_r (%)
0	100,0	1,5	100,0	3,1	100,0	0,8
3	99,5	2,8	97,6	2,6	97,7	3,1
6	102,5	1,9	91,1	6,0	94,8	2,8
12	98,6	3,2	92,6	2,0	92,5	1,7
24	95,5	4,3	90,6	3,0	88,6	5,2

Tabelle C32 Ergebnisse der Stabilitätsuntersuchung BAM-U009

Monate	4°C		20°C		40°C	
	WFR (%)	s_r (%)	WFR (%)	s_r (%)	WFR (%)	s_r (%)
0	100,0	1,8	100,0	4,4	100,0	3,2
3	96,4	3,9	100,8	3,7	92,3	3,7
6	99,9	4,2	99,9	1,4	90,0	3,4
12	100,5	1,9	93,3	3,6	86,5	3,3
24	98,0	3,7	97,1	2,4	89,6	3,3

Bei den Stabilitätsprüfungen für die Lagerzeiten von 3, 6 und 12 Monaten wurden vier unabhängige Extrakte der Referenzprobe jedes Referenzmaterials in jeder Temperatur-/Zeitscheibe gemessen, d.h. es wurden je drei Wiederholungs-bestimmungen von vier unabhängigen Teilproben durchgeführt. Bei dem ein Jahr später durchgeführten Stabilitätstest für die Lagerzeit von 24 Monaten wurden nur je vier unabhängige Bestimmungen durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle C33 gegenüber gestellt.

Tabelle C33: Gesamtmittelwerte und Standardabweichungen der Referenzproben während der Stabilitätsprüfungen

CRM	Stabilitätstest 3, 6, 12 Monate: Mittlerer PCP-Massenanteil	s_r (n=12,f=4)	Stabilitätstest 24 Monate: Mittlerer PCP-Massenanteil	s_r (n=4,f=4)
BAM-U008	2,00 mg/kg	2,6 %	2,07 mg/kg	1,8 %
BAM-U009	2,97 mg/kg	3,0 %	2,86 mg/kg	2,7 %

Die bei den Stabilitätsprüfungen für die Referenzproben ermittelten PCP-Gehalte (Tabelle C33) bestätigen zusätzlich sowohl die Homogenität innerhalb der untersuchten Proben wie auch in den Gehalten und Standardabweichungen die Ergebnisse des Zertifizierungs-Ringversuches.

Anlage D Zertifizierungs-Ringversuch

D1 BAM-Messplatz 1: GC/ECD nach ASE-Extraktion

D1.1 Geräte und Chemikalien

- ASE 200 der Fa. Dionex
- GC/ECD
- Horizontalschüttler HS501
- Cyclohexan/Aceton (zur org. Spurenanalyse) 1:1
- PCP(Pentachlorphenol), TBP(Tribromphenol), Aldrin
- Salzsäure
- Natronlauge
- Natriumsulfat
- Kaliumcarbonat
- Essigsäureanhydrid

D1.2 Methode

D1.2.1 ASE-Extraktion und Probenvorbereitung

Ca. 5 g Boden wurden in 11 mL Extraktionszellen der ASE Apparatur eingewogen und mit 10 µL TBP-Lösung versetzt. Auf das Bodenmaterial wurde anschließend 1mL konz. Salzsäure gegeben. Die Zellen wurden zum Schluss mit Seesand aufgefüllt und fest verschlossen.

Die Extraktion erfolgte mit dem Lösemittelgemisch Cyclohexan/Aceton (1:1) bei 100°C und 140 bar. Die Dauer der stationären Extraktion betrug 10 min, es wurde in zwei Zyklen extrahiert. Insgesamt wurden von jedem Niveau 4 Proben mit einer anschließenden Nachextraktion extrahiert.

Extraktreinigung und Derivatisierung:

Die Extrakte aus Haupt- und Nachextraktion wurden vereinigt und quantitativ in einen 250 mL Scheidetrichter mit 120 mL 0,1 molarer Natronlauge überführt. Die Emulsion wurde 5 min. geschüttelt und anschließend der pH-Wert kontrolliert; er muss zwischen 11 und 13 liegen.

Die Hexan-Phase der Emulsion wurde abgetrennt und verworfen, die wässrige Phase wurde mit Salzsäure auf einen Wert kleiner pH 3 eingestellt.

Zu der salzsauren Lösung wurden 100 mL Cyclohexan gegeben und anschließend 5 min. geschüttelt. Nach dem Absetzen der Phasen wurde die wässrige Phase abgetrennt und verworfen.

Die Hexan-Phase wurde mit 75 mL 0,1 molarer Kaliumcarbonat-Lösung versetzt und 5 min. geschüttelt. Die organische Phase wurde abgetrennt, und die wässrige mit 2 mL Essigsäureanhydrid zur Acetylierung versetzt und anschließend 2 min. geschüttelt.

In die Lösung wurden 20 mL Cyclohexan gegeben und weitere 5 min. geschüttelt.

Die wässrige Phase wurde abgelassen und verworfen, die Hexan-Phase wurde über ein mit Natriumsulfat gefüllten Faltenfilter in ein 20 mL Messkölbchen überführt.

Das Natriumsulfat wurde mit wenig Cyclohexan nachgespült und der Kolben bis auf die Messmarke aufgefüllt.

Der aufgereinigte Extrakt wurde gravimetrisch unter zur Hilfenahme vom Volumenmessgefäßen (Messkolben und Pipette) auf 1:10 verdünnt.

Vor dem Auffüllen des Kolbens wurden 40 µL Aldrin-Lösung hinzugegeben.

D1.2.2 GC/ECD-Analysenbedingungen

- GC/ECD: HP 5890
- Injektion: Autosampler 1µL on-column
- Temperaturprogramm: 50°C (1 min) → (30°C/min) 180°C → (3°C/min) 250°C
- Säule DB 1701, Länge 30m, ID 0,32mm
- Filmdicke: 0,25mm
- Detektor: ECD, 320°C
- Trägergas: Stickstoff, Säulenkopfdruck 50 kPa

D1.3 Analysenauswertung

Die Kalibrierreihe wurde der Konzentration der verdünnten Extrakte angepasst. Es wurde mit 6 Punkten in einem Bereich von 10,10 bis 151,50 pg/µL über das gesamte Derivatisierungsverfahren kalibriert.
Zur Kontrolle der Kalibrierreihe wurde eine Stammlösung mit bekannter Konzentration, welche von einem anderen Messplatz hergestellt wurde, mitanalysiert.
Die Integration erfolgte automatisch, ggf. wurde manuell nachintegriert.
Die Auswertung erfolgte über die Peakfläche. Zur Korrektur des beim Derivatisieren auftretenden Analysenverlustes wurde mit dem internen Standard TBP-Acetat ausgewertet; das Aldrin diente zur Kontrolle der Injektion bzw. zur Korrektur des Injektionsfehlers.

D2 BAM-Messplatz 2: GC/ECD-Analyse nach Ultraschall-Extraktion

D2.1 Geräte und Chemikalien

- Ultraschallbad Fa. Bandelin electronic
- GC 5890 mit ECD von HP, Autosampler 7673A von HP
- Lösemittel: Cyclohexan und Aceton von der Fa. Baker, Qualität: ultraresi
- 200 mL Erlenmeyer als Extraktionsgefäße
- 250 mL Schütteltrichter für Clean-up und Derivatisierung
- Tribromphenol (TBP)
- konz. HCL; 0,1n NaOH; 0,1n K_2CO_3; Essigsäureanhydrid (EA); Na_2SO_4

D2.2 Methode

D2.2.1 Ultraschall-Extraktion und Extraktreinigung

Extraktion von 5 g Boden nach Zugabe von TBP als internen Standard mit 75 mL Lösemittelgemisch Aceton/Cyclohexan 1:1 im Ultraschallbad bei 40°C, 1 Stunde. Nach Absetzen und Abdekantieren des Extraktes in einen Schütteltrichter wird vor der Derivatisierung mit EA ein Clean-up durch Ausschütteln des Extraktes in alkalischer bzw. saurer Lösung vorgenommen.

D2.2.2 GC/ECD-Analysenbedingungen

- Säule: DB5MS, 30m, 0,32mm ID, 0,25µm Filmdicke
- Injektor: split/splitlos, 1 min. splitlos, 250°C, 1µL Injektionsvolumen
- Ofenprogramm: 50°C (1min); 15°C/min auf 300°C (5min)
- Detektor: ECD, 350°C
- Trägergas: Wasserstoff, 152 kPa Vordruck, 1 mL/min konst. Fluss

D2.3 Analysenauswertung

- 3-Punktkalibrierung mit TBP als internen Standard.
- Kurventyp : linear
- Automatische Auswertung mit der Chem-Station von HP, gegebenenfalls manuelle Nachintegration.

D3 BAM-Messplatz 3: GC/MS-Analyse nach Ultraschall-Extraktion

D3.1 Geräte und Chemikalien

- Ultraschallbad Fa. Bandelin electronic
- GC 5890 mit MS von HP, Autosampler 7673A von HP
- Lösemittel: Cyclohexan und Aceton von der Fa. Baker, Qualität: ultraresi
- 200 mL Erlenmeyer als Extraktionsgefäße
- 250 mL Schütteltrichter für Clean-up und Derivatisierung
- $^{13}C_6$-PCP-Isotop als zertifiziertes Referenzmaterial, Fa. IPO
- konz. HCL; 0,1n NaOH; 0,1n K_2CO_3; Essigsäureanhydrid (EA); Na_2SO_4

D3.2 Methode

D3.2.1 Ultraschall-Extraktion und Extraktreinigung

Extraktion von 5 g Boden nach Zugabe von PCP-Isotop als internen Standard mit 75 mL Lösemittelgemisch Aceton/Cyclohexan 1:1 im Ultraschallbad bei 40°C, 1 Stunde. Nach Absetzen und Abdekantieren des Extraktes in einen Schütteltrichter wird vor der Derivatisierung mit EA ein Clean-up durch Ausschütteln des Extraktes in alkalischer bzw. saurer Lösung vorgenommen.

D3.2.2 GC/MS-Analysenbedingungen

- Säule: DB5MS, 30m, 0,25mm ID, 0,25µm Filmdicke
- Injektor: split/splitlos, 1 min. splitlos, 250°C, 1µL Injektionsvolumen
- Ofenprogramm: 50°C (1min); 30°C/min auf 80°C, 5°C/min auf 180°C, 30°C/min auf 290°C (5min)
- Detektor: MS
- Trägergas: Helium, 0,8 mL/min konst. Fluss
- Transferline 280°C

D3.3 Analysenauswertung

- 3 Punkte - Kalibrierung mit internem Standard ($^{13}C_6$-PCP-Isotop), Flächenresponse
- Quantifizierungmassen : m/z 266 für PCP nativ, m/z 274 für $^{13}C_6$-PCP-Isotop

D4 BAM-Messplatz 4: CE/UV-Analyse nach ASE-Extraktion

D4.1 Geräte und Chemikalien

- ASE 200 der Fa. Dionex
- CE-System HP 3D, Fa. HP
- Lösemittel Methanol, Fa. Baker
- Seesand, purum p.a., 40-200 mesh der Fa. Fluka
- ASE-Vials 40 mL
- Braunglasvials (22 mL) mit Teflondichtung
- CE-Vials, 1mL
- 2,3,6-Trichlorphenol (TCP), Fa. Ehrenstorfer
- Na_2HPO_4 –Pufferlösung, 50 mM
- Membranfilter PTFE, 25 mm, 0,25 µm, Fa. Nalgene
- Einmalspritzen 20mL
- entionisiertes Wasser

D4.2 Methode

D4.2.1 ASE-Extraktion und Filterung

- ASE mit Methanol, 16 min statisch bei 130°C und 150 bar von 5 g Boden, ca. 7 g Seesand, 0,5 mL (grav.) TCP-Lösung (interner Standard)
- Auffüllen des ASE-Extraktes (ca. 17 mL) auf 20 mL mit Methanol
- Verdünnung mit entionisiertem Wasser (Verhältnis 1:1)
- Membranfiltration

D4.2.2 CE/UV-Analysenbedingungen

<u>Kapillarelektrophorese mit UV-Detektion (CE-UV</u>)
Gerät : HP 3D-CE, Fa. HP
Kapillare : 50 µm x 54 cm „Bubble-Cell“-Kapillare
Temperatur : 20°C
Elektrolyt : Na_2HPO_4 –Pufferlösung, 50 mM
Spülung : 3 min
Injektion : 30 s (50 mbar) Probe + 30 s (50 mbar) Phosphatpuffer
Spannung/Strom : +17 kV, 200 µA
Detektion : UV-DAD, 214 nm, Band Width 20 nm, Peak Width > 0,03 min

D4.3 Analysenauswertung und Ergebnisse

Die quantitative Auswertung erfolgte mit dem Verfahren „Interner Standard“ (TCP) über Flächenresponse mit linearer 5-Punkt-Kalibrierung.

D5 BAM-Messplatz 5: HPLC/MS-Analyse nach ASE-Extraktion

D5.1 Geräte und Chemikalien

- ASE 200 der Fa. DIONEX
- HPLC/MS-System MAT 95 mit API-II(Finnigan), Gynkotek HPLC-System
- Lösemittel Methanol, Fa. Baker
- Seesand, purum p.a., 40-200 mesh der Fa. Fluka
- ASE-Vials 40 mL
- Braunglasvials (22 mL) mit Teflondichtung
- Autosampler-Vials, 1 mL
- 2,3,6-Trichlorphenol (TCP), Fa. Ehrenstorfer
- Membranfilter PTFE, 25 mm, 0,25 µm, Fa. Nalgene
- Einmalspritzen 20 mL
- Entionisiertes Wasser

D5.2 Methode

D5.2.1 ASE-Extraktion und Filterung

- ASE mit Methanol, 16 min statisch bei 130°C und 150 bar von :
  5 g Boden, ca. 7 g Seesand, 0,5 mL (grav.) TCP-Lösung (interner Standard)
- Auffüllen des ASE-Extraktes (ca. 17 mL) auf 20 mL mit Methanol
- Verdünnung mit entionisiertem Wasser (Verhältnis 1 : 1)
- Membranfiltration

D5.2.2 HPLC/MS-Analysenbedingungen

HPLC-System : Gynkotek
- Trennsäule : Inertsil ODS2 270 x 2 mm, 5 µm Partikelgröße; T=60°C
- Eluent : isokratisch 27 % Wasser (0,1 % Essigsäure)/ 73 % Methanol
- Injektion : 37 µL
- Fluss : 0,4 mL/min

MS-System : MAT 95 mit API-II, Fa. Finnigan
- Beschleunigungsspannung : -4,7 kV
- Detektorspannung : 2,2 kV
- Auflösung : 800-1200
- Ionisierung : APCI-negativ
- Coronaspannung : 3,7 kV
- Temperatur Heizer : 350°C
- Temperatur Kapillare : 210°C
- Sheath-/Auxillary-Gas : 3 bar/10 Skt. Luft
- Detektion : MID (m/z=197 und 265); Normal Modus
- Scan : Profil-Modus, Zykluszeit 0.3 s, E-Range 20 %, Sweep PW=6

D5.3 Analysenauswertung und Ergebnisse

Die quantitative Auswertung erfolgte mit dem Verfahren „Interner Standard“ (TCP) über Flächenresponse mit linearer 5- bzw. 6-Punkt-Kalibrierung.

D6 Einzelergebnisse beim Zertifizierungs-Ringversuch

Tabelle D61: Einzelwerte GHi(i=1-4), Mittelwerte x und Standardabweichungen s des Zertifizierungs-Ringversuches für BAM-U008

Messplatz-Methode	Einzelbestimmungen PCP-Massenanteil in mg/kg				$\bar{x}$ mg/kg	s mg/kg	s_r %
	GH1	GH2	GH3	GH4			
1-GC/ECD	2,33	1,99	2,33	2,22	2,22	0,16	7,2
2-GC/ECD	2,04	1,88	2,05	2,21	2,05	0,13	6,5
3-GC/MS	1,80	1,84	1,85	1,82	1,83	0,02	1,1
4-CE/UV	1,99	2,09	2,10	2,08	2,07	0,05	2,5
5-HPLC/MS	1,94	1,95	2,33	2,07	2,07	0,18	8,8

Report der statistischen Auswertung:

```
POOLING :                                                    NO
Number of data sets :                                        5
Total number of replicate measurements:                     20

Mean of means:                                               2.0453
St dev. of the population of means:                          0.140422

Half-width of the 95% conf. inter. of the mean of the means: 0.174742

All data sets 2 by 2 compatible (Test of Scheffe):           YES

Within-data sets standard deviation:                         0.125966
Between-data sets standard deviation:                        0.125505
Differences between data sets significant (Snedecor F-test): YES

Variances homogeneous (Bartlett test):                       at 5% not at 1%

Outlying variances (Cochran test):                           NO
Outlying means (Dixon   test):                               NO
Outlying means (Nalimov test):                               NO
Outlying means (Grubbs  test):                               NO

Population of data set means normally distributed:
       Lilliefors version of the kolmogorov-Smirnov test:    YES
```

Tabelle D62: Einzelwerte GHi(i=1-4), Mittelwerte x und Standardabweichungen s des Zertifizierungs-Ringversuches für BAM-U009

Messplatz-Methode	Einzelbestimmungen PCP-Massenanteil in mg/kg				$\bar{x}$ mg/kg	s mg/kg	s_r %
	GH1	GH2	GH3	GH4			
1-GC/ECD	3,05	3,14	3,14	2,78	3,03	0,17	5,6
2-GC/ECD	2,91	3,12	2,97	3,04	3,01	0,09	3,0
3-GC/MS	2,58	2,61	2,59	2,64	2,61	0,03	1,1
4-CE/UV	2,91	2,99	2,96	2,94	2,95	0,03	1,1
5-HPLC/MS	3,06	3,02	2,93	2,93	2,99	0,07	2,2

Report der statistischen Auswertung:

```
POOLING :                                                    NO
Number of data sets :                                        5
Total number of replicate measurements:                     20

Mean of means:                                               2.9156
St dev. of the population of means:                          0.175493

Half-width of the 95% conf. inter. of the mean of the means:     0.218384

All data sets 2 by 2 compatible (Test of Scheffe):           NO
   data sets 1 and 3 are different at the 5% significance level but not at 1%
   data sets 2 and 3 are different at the 5% significance level but not at 1%

Within-data sets standard deviation:                         0.0931973
Between-data sets standard deviation:                        0.169193
Differences between data sets significant (Snedecor F-test):     YES

Variances homogeneous (Bartlett test):                       at 5% not at 1%

Outlying variances (Cochran test):                           YES
 Variance of data set I21GC is an outlier at 5% but not at 1% level
Outlying means (Dixon   test):                               YES
        Means 2.606 is an outlier at 5% but not at 1% level
Outlying means (Nalimov test):                               YES
        Means 2.606 is an outlier at 1% significance level
Outlying means (Grubbs  test):                               YES
        Means 2.606 is an outlier at 5% but not at 1% level

Population of data set means normally distributed:
       Lilliefors version of the kolmogorov-Smirnov test:        at 5% not at 1%
        Skewness test:                                           #data<25
        Curtosis test:                                           #data<25
```

Verwendete Abkürzungen (wissenschaftlich)

CRM	Zertifiziertes Referenzmaterial („Certified Reference Material“)
AOX	Adsorbierbare Organische Halogenverbindungen
MKW	Mineralölkohlenwasserstoffe
PAK	Polycyclische Aromatische Kohlenwasserstoffe
PCP	Pentachlorphenol
TBP	Tribromphenol
TCP	Tetrachlorphenol
ASE™	Beschleunigte Lösemittel Extraktion („Accelerated Solvent Extraction“,Fa. Dionex)
CE	Kapillarelektrophorese
ECD	Elektroneneinfang-Detektor
FID	Flammenionisations-Detektor
GC	Gaschromatographie
HPLC	Hochleistungs-Flüssigchromatographie
MS	Massenspektrometrie
OLS	Ungewichtete Regressionsanalyse („Ordinary Least Squares“)
TIC	Totaler Anorganischer Kohlenstoff
TOC	Totaler Organischer Kohlenstoff
UV	Ultraviolett-Detektor
XRPD	Röntgen-Pulverdiffraktometrie
ΔE	Aktivierungsenergie
ID	Innendurchmesser
He	Helium
H_2	Wasserstoff
N_2	Stickstoff
VR	Vergleichsvariationskoeffizient
VI	Vertrauensintervall
s	Standardabweichung
s_r	relative Standardabweichung
$\bar{x}$	Mittelwert

Abkürzungen (Organisationen)

BAM	Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung
BCR	Bureau Communautaire de Référence
CEN	Le Comité Européen de Normalisation
DIN	Deutsches Institut für Normung e.V.
ISO	International Organization of Standardization
IPO	Instytut Przemyslu Organicznego, Warschau (Polen)
OFD	Oberfinanzdirektion Hannover