



LAWA-AO

Rahmenkonzeption Monitoring

Teil B

Bewertungsgrundlagen und Methodenbeschreibungen

Arbeitspapier IV.1

Untersuchungsverfahren für chemische und
physikalisch-chemische Qualitätskomponenten

Anlage 3: Analytik für Biota-Untersuchungen
(Ergänzung des RAKON IV.3 vom 27.10.2016)

Stand: 16.05.2017

Die LAWA hat auf ihrer 154. Sitzung am 14./15.09.2017 das vorliegende Arbeitspapier zur Kenntnis genommen und den Ländern zur Anwendung empfohlen.

1. Veranlassung

Die 153. LAWA-VV hat das RaKon-Arbeitspapier IV.3 „Konzeption für Biota-Untersuchungen zur Überwachung von Umweltqualitätsnormen gemäß RL 2008/105/EG“ (Stand: 27.10.2016) veröffentlicht und zur Anwendung empfohlen. Diese Konzeption beinhaltet keine zur Untersuchung von Biota anzuwendenden Analysenverfahren, da diese Matrix bisher wenig etabliert ist und somit ein vertiefter Abstimmungsbedarf notwendig war. Das vorliegende Papier schließt nunmehr diese Lücke und ergänzt somit das vg. Arbeitspapier RaKon IV.3. Bei der Erstellung sind auch Methoden der Lebensmittelüberwachung berücksichtigt worden. Die genannten Verfahren sind Vorschläge zur Bestimmung der Konzentration der zu überwachenden Stoffe in Biota. Die Anwendung anderer geeigneter Verfahren wird durch diese Vorschläge nicht ausgeschlossen.

In dem vg. Arbeitspapier RaKon IV.3 wird empfohlen, für die Überprüfung der Biota-Umweltqualitätsnorm (Biota-UQN) der prioritären Stoffe bromierte Diphenylether, Dicofol, Dioxine und dioxinähnliche Verbindungen, Heptachlor und Heptachlorepoxyd, Hexabromcyclododekan, Hexachlorbenzol, Hexachlorbutadien, Perfluoroktansulfonsäure und Quecksilber nach der Verordnung zum Schutz der Oberflächengewässer (Oberflächengewässerverordnung – OGewV) vom 20. Juni 2016 (BGBl. I S. 1373) von Fischen zumindest die Muskulatur (Filet, ohne Haut) zu untersuchen. Darüber hinaus ist zusätzlich auch eine Untersuchung der Leber wünschenswert.

Da sich die Umweltqualitätsnormen (UQN) der OGewV auf das Nassgewicht des Gewebes beziehen, sind in diesem Zusammenhang die Ermittlung des Fettgehaltes und ein Bezug darauf nicht relevant.

Um die im „Guidance Document No. 32 on biota monitoring“ vorgeschlagene Normierung auf den Fettgehalt vornehmen zu können, ist die Bestimmung des Fettgehaltes doch erforderlich. Die Fettbestimmung sollte nach der Methode nach Smedes (siehe Nr. 3) erfolgen, da diese speziell für Fische mit geringerem Fettgehalt entwickelt wurde.

Die Biota-UQN von Fluoranthen und der polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAK) Benzo[a]pyren, Benzo[b]fluoranthen und Benzo[k]fluoranthen, Benzo[g,h,i]fluoranthen und Indeno[1,2,3-cd]-pyren über den Marker Benzo[a]pyren wird in Muscheln oder Krebstieren überwacht (s. Nr. 2.1.3.3 RaKon IV.3).

2. Analysenverfahren

Fische: Zur Untersuchung wird das zuvor homogenisierte Filet bzw. ggf. die Leber herangezogen.

Muscheln: Zur Untersuchung wird der zuvor homogenisierte Muschelweichkörper herangezogen.

Bei den durchzuführenden Untersuchungen sind die in Anlage 9 der OGewV aufgeführten „Anforderungen an die Beurteilung der Überwachungsergebnisse, an Analysemethoden und an Laboratorien“ einzuhalten.

2.1 Bromierte Diphenylether (PBDE)

In der OGewV ist eine UQN von 0,0085 µg/kg Nassgewicht für die Summe der Kongenere 28, 47, 99, 100, 153 und 154 vorgegeben.

- 1) Extraktion der gefriergetrockneten Proben
 - ASE (beschleunigte Lösemittelextraktion) mit Toluol oder Aceton/Hexan
 - Soxhlet mit Toluol, Petrolether 40-60 °C oder Aceton/Hexan
 - Ultraschall mit Isooktan/Aceton, Hexan/Dichlormethan oder Hexan/Essigsäureethylester
 - Mikrowelle mit Isooktan/Aceton
 - SLE (z.B. Petrolether/Aceton)
 - Extraktion mittels eines Lösungsmittelgemisches aus unpolaren und polaren Lösungsmittel
- 2) Aufarbeitung/Reinigung der Extrakte
 - Mehrstufiges Clean-up (Kieselgel/Schwefelsäure, Florisil, basisches Aluminiumoxid)
 - GPC (Gelpermeations-Chromatographie) z.B. mit Bio-Beads S-X3
 - GPC (Gel-Permeations-Chromatographie), anschließendes Clean-up (Kieselgel)
- 3) Messung
 - Detektion mittels GC-MS/MS, GC-HRMS oder GC-ECD
 - Detektion mittels LC-APCI-MS/MS

2.2 Fluoranthen, Benzo[a]pyren (PAK)

In der OGeV sind vorgegeben

a) für Fluoranthen eine UQN von 30 µg/kg Nassgewicht und

b) für Benzo[a]pyren eine UQN von 5 µg/kg Nassgewicht.

Bei diesen organischen Stoffen erfolgt die Untersuchung in den nachfolgend aufgeführten Schritten.

Diese Stoffe werden nur in Krebs- und Weichtiermatrix gemessen.

- 1) Extraktion der frischen Proben
 - ASE (beschleunigte Lösemittelextraktion) z.B. mit Essigsäureethylether/Acetonitril
 - Alkalische Hydrolyse und Flüssig/Flüssig-Extraktion
 - Flüssig-Flüssig-Extraktion mittels Cyclohexan
- 2) SoxhletAufarbeitung/Reinigung der Extrakte
 - Neutrales Aluminiumoxid (evtl. in der ASE-Zelle)
 - GPC (Gelpermeations-Chromatographie) z.B. mit Bio-Beads S-X3
 - Clean-up mit Kieselgel
- 3) Messung
 - Detektion mittels GC-MS/MS
 - Detektion mittels HPLC-FLD (Fluoreszenz-Detektor)

2.3 Hexachlorbenzol (HCB) / Hexachlorbutadien (HCBD)

In der OGewV sind vorgegeben

- a) für HCB eine UQN von 10 µg/kg Nassgewicht und
- b) für HCBD eine UQN von 55 µg/kg Nassgewicht.

Bei diesen organischen Schadstoffen erfolgt die Untersuchung in den nachfolgend aufgeführten Schritten.

Es darf, um Verluste zu vermeiden, keine Ultraschallextraktion durchgeführt werden.

- 1) Extraktion der frischen Proben
 - ASE (beschleunigte Lösemittelextraktion) z.B. mit Aceton/Hexan
 - Klassische Elution in der Säule
 - Soxhlet / Soxtherm z.B. mit Petrolether 40-60 °C
 - SLE (z.B. Aceton/Wasser)
 - QuEChERS-Methode (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe)
- 2) Aufarbeitung/Reinigung der Extrakte
 - Saures Aluminiumoxid
 - Florisil (Kieselgel)
 - GPC (Gelpermeations-Chromatographie) z. B. mit Bio-Beads S-X3
 - QuEChERS-Methode (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe)
 - GPC (Gel-Permeations-Chromatographie), anschließendes Clean-up (Kieselgel)
- 3) Messung
 - Detektion mittels GC-MS, GC-MS/MS, GC-HRMS oder GC-ECD

2.4 Quecksilber

In der OGewV ist eine UQN von 20 µg/kg Nassgewicht vorgegeben.

Zur Quecksilber-Bestimmung können zwei unterschiedliche Verfahren (A oder B) angewandt werden.

- A) Feststoff-Analysator
 - Frisch-/Nasssubstanz oder Gewebe nach Gefriertrocknung, danach
 - AAS-Detektion
- B) Aufschluss-Verfahren
 - Frisch-/Nasssubstanz oder
 - Königswasseraufschluss (evtl. umgekehrtes Konzentrationsverhältnis: HNO₃ : HCl – 3:1) oder
 - Mikrowellen-Druckaufschluss mit Salpetersäure evtl. mit H₂O₂, danach
 - Detektion / Messung mittels CV-AAS ggf. ICP-MS bzw. AFS oder AFS

2.5 Dicofol

In der OGewV ist eine UQN von 33 µg/kg Nassgewicht vorgegeben.

- 1) Extraktion der gefriergetrockneten Proben
 - ASE mit Toluol
 - SLE (Aceton/Wasser z.B.)
 - Soxtherm (Petrolether 40-60 °C)
- 2) Aufarbeitung/Reinigung der Extrakte
 - GPC (Gel-Permeations-Chromatographie), anschließendes Clean-up); Kieselgel
- 3) Messung
 - Detektion mittels GC-HRMS, GC-MS/MS oder GC-ECD

2.6 Perfluoroktansulfonsäure (PFOS)

In der OGewV ist eine UQN von 9,1 µg/kg Nassgewicht vorgegeben.

- 1) Aufbereitung
 - Vermahlen mit Seesand und wasserfreiem Natriumsulfat
- 2) Extraktion und Reinigung der Extrakte
 - Ultraschallbad mit Methanol, Zentrifugieren
 - Reinigung mit Festphasenextraktion (SPE)
 - Extraktion mit Acetonitril
- 3) Messung
 - Detektion mittels LC-MS/MS

2.7 Dioxine und dioxinähnliche Verbindungen

In der OGewV ist eine UQN von 0,0065 µg/kg Nassgewicht vorgegeben. Der Wert bezieht sich auf die TEQ-Summe aus polychlorierten Dibenzoparadioxinen (PCDD), polychlorierten Dibenzofuranen (PCDF) und dioxinähnlichen polychlorierten Biphenylen (dl-PCB), berechnet mit den WHO-TEF(2005).

- 1) Extraktion der gefriergetrockneten Proben
 - ASE mit Toluol
 - Twisselmann-Fettextraktion
 - Extraktion mittels eines Lösungsmittelgemisches aus unpolaren und polaren Lösungsmitteln
- 2) Aufarbeitung/Reinigung der Extrakte
 - Mehrstufiges Clean-up (Kieselgel/Schwefelsäure, Florisil, basisches Aluminiumoxid)
 - Clean-up (Kieselgel, Florisil, Aktivkohle)

- 3) Messung
 - Detektion mittels GC-HRMS bzw. GC-MS/MS (dl-PCB)

2.8 Hexabromcyclododecan (HBCDD)

In der OGeV ist eine UQN von 167 µg/kg Nassgewicht vorgegeben.

- 1) Extraktion der gefriergetrockneten Proben
 - ASE mit Toluol
 - Ultraschall mit Isooktan/Aceton
 - Mikrowelle mit Isooktan/Aceton
 - SLE (Aceton/Wasser z.B.)
 - Soxtherm (Petrolether 40-60 °C)
- 2) Aufarbeitung/Reinigung der Extrakte
 - Zweistufiges Clean-up (Kieselgel/Schwefelsäure, Florisil)
 - GPC (Gel-Permeations-Chromatographie), anschließendes Clean-up (Kieselgel); Kieselgel
- 3) Messung
 - Detektion mittels GC-MS/MS
 - Detektion mittels LC-APCI-MS/MS
 - Detektion mittels LC-ESI-MS/MS

2.9 Heptachlor und Heptachlorepoxyd

In der OGeV ist eine UQN von 0,0067 µg/kg Nassgewicht vorgegeben.

- 1) Extraktion
 - Gefriertrocknung, dann ASE mit Toluol
 - Soxtherm (Petrolether 40-60 °C)
- 2) Aufarbeitung/Reinigung der Extrakte
 - Saures Aluminiumoxid
 - Florisil (Kieselgel)
 - GPC (Gel-Permeations-Chromatographie) z.B. mit Bio-Beads S-X3
 - QuEChERS-Methode (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe)
 - GPC (Gel-Permeations-Chromatographie), anschließendes Clean-up (Kieselgel)
- 3) Messung
 - Detektion mittels GC-MS/MS, GC-HRMS oder GC-ECD

3. Fettbestimmung nach Smedes

Smedes, F.:

Determination of total lipid using non-chlorinated solvents, Analyst 1999, **124**, 1711–18

- 1) Extraktion
 - Aufschluss mit Cyclohexan/Isopropanol/Wasser
- 2) Messung
 - gravimetrisch