

DIN EN ISO 13646:2026-08 (D)

**Wasserbeschaffenheit - Bestimmung ausgewählter Estrogene in
Gesamtwasserproben - Verfahren mittels Festphasenextraktion (SPE) und
anschließender Flüssigkeitschromatographie (LC) oder Gaschromatographie (GC)
gekoppelt mit massenspektrometrischer Detektion (MS) (ISO 13646:2025); Deutsche
Fassung EN ISO 13646:2025**

Inhalt	Seite
Europäisches Vorwort	10
Vorwort	11
Einleitung	12
1 Anwendungsbereich	13
2 Normative Verweisungen	13
3 Begriffe und Indizes	13
3.1 Begriffe	13
3.2 Indizes	16
4 Grundlage des Verfahrens	16
5 Störungen	17
5.1 Allgemeines	17
5.2 Störungen bei Probenahme, Extraktion und Konzentration	18
5.3 Störungen während Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und Massenspektrometrie	19
5.4 Störungen während Gasphasen-Chromatographie und Massenspektrometrie	20
5.5 Störungen durch interne Standards	20
6 Reagenzien	21
7 Geräte	27
8 Probenahme	29
9 Durchführung	30
9.1 Allgemeines	30
9.2 Probenvorbereitung und Extraktion	31
9.2.1 Allgemeines	31
9.2.2 Probenvorbereitung	32
9.2.3 SPE-Kartuschen-Extraktion	32
9.2.4 SPE-Disk-Extraktion	34
9.3 (Auf-)Reinigung der Probe	35
9.3.1 Allgemeines	35
9.3.2 Grundlage des Verfahrens	35
9.3.3 Durchführung	35
9.4 Rekonzentration	36
9.5 Flüssigkeitschromatographie, gekoppelt mit Massenspektrometrie	36
9.5.1 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (LC)	36
9.5.2 Detektion	37
9.5.3 Derivatisierung	38
9.6 Gaschromatographie, gekoppelt mit Massenspektrometrie	39
9.6.1 Derivatisierung	39
9.6.2 Gaschromatographie (GC)	40
9.6.3 Detektion	40

10	Kalibrierung.....	41
10.1	Allgemeines.....	41
10.2	Kalibrierung durch Isotopenverdünnung.....	42
10.3	Prüfung der Kalibrierung.....	42
11	Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle (QA/QC)	43
11.1	Bestimmung der Substanzen.....	43
11.2	Blindproben.....	43
12	Bestimmungsgrenze (LOQ)	43
13	Berechnung der Wiederfindung.....	44
13.1	Allgemeines.....	44
13.2	Berechnung der Wiederfindung des Analyten anhand von Proben	44
13.3	Wiederfindungsraten von internen Standards	45
14	Berechnung der Konzentration in der Probe.....	45
15	Angabe der Ergebnisse	46
16	Analysenbericht.....	46
17	Verfahrenskenndaten.....	47
Anhang A (informativ) Verfahrenskenndaten		48
A.1	Validierungsringversuch 1.....	48
A.2	Validierungsringversuch 2.....	50
Anhang B (informativ) Beispiele für SPE-Kartuschen-Extraktionsprotokolle		52
Anhang C (informativ) Beispiele für SPE-Disk-Extraktionsprotokolle		54
Anhang D (informativ) Beispiele für SPE-Reinigungsprotokolle		56
Anhang E (informativ) Beispiele für LC-MS/MS-Protokolle.....		58
E.1	Beispiel Protokoll 1	58
E.2	Beispiel Protokoll 2	59
E.3	Beispiel Protokoll 3	61
E.4	Beispiel Protokoll 4	63
E.5	Beispiel Protokoll 5	65
E.6	Beispiel Protokoll 6	67
Anhang F (informativ) Beispiel für ein LC-HRMS-Protokoll		71
F.1	Protokoll 1	71
F.2	Protokoll 2	72
F.3	Protokoll 3	74
Anhang G (informativ) Beispiele für GC-MS/MS-Protokolle.....		76
G.1	Beispiel Protokoll 1	76
G.2	Beispiel Protokoll 2	77
G.3	Beispiel Protokoll 3	79
Anhang H (informativ) Beispiele für GC-HRMS-Protokolle.....		81
Literaturhinweise		83

Bilder

Bild 1 — Auflösung von chromatographischen Peaks	19
Bild 2 — Flussdiagramm einer möglichen Messstrategie.....	31
Bild E.1 — Chromatographische Trennung.....	62

Bild E.2 — Chromatographische Trennung	64
Bild E.3 — Chromatographische Trennung	67
Bild E.4 — Chromatographische Trennung	69
Bild F.1 — Chromatographische Trennung	73
Bild G.1 — Chromatographische Trennung	79

Tabellen

Tabelle 1 —Merkmale der fünf ausgewählten Estrogene zusammen.....	16
Tabelle 2 —Namen, Akronyme und CAS-Nummern der isotoopenmarkierten Estrogene.....	23
Tabelle A.1 — Beschreibung der Ringversuchsproben	48
Tabelle A.2 — Verfahrenskennndaten für Probe 1 — Grundwasser (Langenau)	48
Tabelle A.3 — Verfahrenskennndaten für Probe 2 — Oberflächenwasser (Rhein, Düsseldorf)	49
Tabelle A.4 — Verfahrenskennndaten für Probe 3 — Oberflächenwasser (Lubenbach)	49
Tabelle A.5 — Verfahrenskennndaten für Probe 4 — Oberflächenwasser (Saale).....	50
Tabelle A.6 — Verfahrenskennndaten für Probe 5 — Behandeltes Abwasser (Kläranlage Duisburg-Vierlinden)	50
Tabelle A.7 — Beschreibung der Ringversuchsproben	50
Tabelle A.8 — Verfahrenskennndaten für Probe 1 — Oberflächenwasser (hohe Komplexität)	51
Tabelle A.9 — Verfahrenskennndaten für Probe 2 — Oberflächenwasser (hohe Komplexität)	51
Tabelle B.1 — Beispiel Protokoll 1.....	52
Tabelle B.2 —Beispiel Protokoll 2.....	52
Tabelle B.3 — Beispiel Protokoll 3.....	52
Tabelle B.4 — Beispiel Protokoll 4.....	53
Tabelle B.5 — Beispiel Protokoll 5.....	53
Tabelle C.1 — Beispiel Protokoll 1	54
Tabelle C.2 — Beispiel Protokoll 2	54
Tabelle C.3 — Beispiel Protokoll 3	54
Tabelle C.4 — Beispiel Protokoll 4.....	55
Tabelle D.1 — Beispiel Protokoll 1.....	56
Tabelle D.2 — Beispiel Protokoll 2.....	56

Tabelle D.3 — Beispiel Protokoll 3	56
Tabelle D.4 — Beispiel Protokoll 4	56
Tabelle D.5 — Beispiel Protokoll 5	57
Tabelle E.1 — Optimale chromatographische Bedingungen	58
Tabelle E.2 — Optimale Parameter für die LC-MS/MS-Analyse der nativen und markierten interessierenden Estrogene	59
Tabelle E.3 — Optimale chromatographische Bedingungen	60
Tabelle E.4 — Optimale Parameter für die LC-MS/MS-Analyse der nativen und markierten interessierenden Estrogene	60
Tabelle E.5 — Optimale Parameter für die LC-MS/MS-Analyse des nativen und markierten 17α-Ethinylestradiols	61
Tabelle E.6 — Optimale chromatographische Bedingungen	62
Tabelle E.7 — Optimale Parameter für die LC-MS/MS-Analyse der nativen und markierten ausgewählten Estrogene	62
Tabelle E.8 — Optimale chromatographische Bedingungen	64
Tabelle E.9 — Optimale Parameter für die LC-MS/MS-Analyse der nativen und markierten ausgewählten Estrogene	65
Tabelle E.10 — Optimale chromatographische Bedingungen	66
Tabelle E.11 — Optimale Parameter für die LC-MS/MS-Analyse der nativen und markierten ausgewählten Estrogene	67
Tabelle E.12 — Optimale chromatographische Bedingungen binäre Pumpen	68
Tabelle E.13 — Optimale chromatographische Bedingungen isokratische Pumpen	68
Tabelle E.14 — Optimale Parameter für die LC-MS/MS-Analyse der nativen und markierten interessierenden Estrogene	69
Tabelle F.1 — Optimale chromatographische Bedingungen	72
Tabelle F.2 — Optimale Parameter für die LC-HRMS-Analyse der nativen und markierten ausgewählten Estrogene	72
Tabelle F.3 — Massenübergänge (HRMS) von Substanzen	73
Tabelle F.4 — Optimale chromatographische Bedingungen	74
Tabelle F.5 — Optimale Parameter für die LC-HRMS-Analyse der nativen und markierten ausgewählten Estrogene	74
Tabelle G.1 — Optimale Parameter für die GC-MS/MS-Analyse der nativen und markierten interessierenden Estrogene Vorläufer- und Produkt-Ionen	77
Tabelle G.2 — Optimale Parameter für die GC-MS/MS-Analyse der nativen und markierten interessierenden Estrogene	78

Tabelle G.3 — Optimale Parameter für die GC-MS/MS-Analyse	80
Tabelle H.1 — Optimale Parameter für GC-HRMS	81