

# E DIN EN ISO 13646:2024-02 (D/E)

Erscheinungsdatum: 2024-01-19

**Wasserbeschaffenheit - Bestimmung ausgewählter Estrogene in Gesamtwasserproben - Verfahren mittels Festphasenextraktion (SPE) und anschließender Flüssigkeitschromatographie (LC) oder Gaschromatographie (GC) gekoppelt mit massenspektrometrischer Detektion (MS) (ISO/DIS 13646:2024); Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 13646:2024**

**Water quality - Determination of selected estrogens in whole water samples - Method using solid phase extraction (SPE) followed by liquid chromatography (LC) or gas chromatography (GC) coupled to mass spectrometry (MS) detection (ISO/DIS 13646:2024); German and English version prEN ISO 13646:2024**

---

<b>Inhalt</b>	<b>Seite</b>
Europäisches Vorwort.....	10
Vorwort.....	11
Einleitung.....	12
1 Anwendungsbereich.....	13
2 Normative Verweisungen.....	14
3 Begriffe.....	15
4 Grundlage des Verfahrens.....	17
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.....	20
7 Geräte.....	27
8 Probenahme.....	29
9 Durchführung.....	30
9.1 Allgemeines.....	30
9.2 Probenvorbereitung und Extraktion.....	32
9.2.1 Allgemeines.....	32
9.2.2 Probenvorbereitung.....	32
9.2.3 SPE-Kartuschen-Extraktion.....	33
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.....	43
11	QA/QC.....	43
11.1	Bestimmung der Substanzen.....	43
11.2	Blindproben.....	43
12	Bestimmungsgrenze (LOQ) .....	44
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.....	46
15	Angabe der Ergebnisse .....	46
16	Analysenbericht.....	46
17	Verfahrenskenndaten.....	47
Anhang A (informativ) Leistungsdaten.....		48
A.1	Ringversuch 1 .....	48
A.2	Ringversuch 2 .....	50
Anhang B (informativ) Beispiele für SPE-Extraktionsprotokolle .....		53
B.1	Beispiel Protokoll 1 .....	53
B.2	Beispiel Protokoll 2 .....	53
B.3	Beispiel Protokoll 3 .....	53
B.4	Beispiel Protokoll 4 .....	54
B.5	Beispiel Protokoll 5 .....	54
Anhang C (informativ) Beispiele für SPE-Disk-Extraktionsprotokolle .....		55
C.1	Beispiel Protokoll 1 .....	55
C.2	Beispiel Protokoll 2 .....	55
C.3	Beispiel Protokoll 3 .....	55
C.4	Beispiel Arbeitsvorschrift 4.....	56
Anhang D (informativ) Beispiele für Reinigungsprotokolle.....		57
D.1	Beispiel Protokoll 1 .....	57
D.2	Beispiel Protokoll 2 .....	57
D.3	Beispiel Protokoll 3 .....	57
D.4	Beispiel Protokoll 4 .....	58
D.5	Beispiel Protokoll 5 .....	58
Anhang E (informativ) Beispiele für LC-MS/MS-Protokolle.....		59
E.1	Beispiel Protokoll 1 .....	59
E.2	Beispiel Protokoll 2 .....	60
E.3	Beispiel Protokoll 3 .....	62
E.4	Beispiel Protokoll 4 .....	64
E.5	Beispiel Protokoll 5 .....	66
E.6	Beispiel Protokoll 6 .....	68
Anhang F (informativ) Beispiel für ein LC-HRMS-Protokoll .....		72
F.1	Protokoll 1 .....	72
F.2	Protokoll 2 .....	73

<b>Anhang G (informativ) Beispiele für GC-MS/MS-Protokolle .....</b>	<b>77</b>
<b>G.1 Beispiel Protokoll 1 .....</b>	<b>77</b>
<b>G.2 Beispiel Protokoll 2 .....</b>	<b>78</b>
<b>G.3 Beispiel Protokoll 3 .....</b>	<b>80</b>
<b>Anhang H (informativ) Beispiele für GC-HRMS-Protokolle.....</b>	<b>82</b>
<b>H.1 Beispiel Protokoll 1 .....</b>	<b>82</b>
<b>Literaturhinweise .....</b>	<b>84</b>

## **Bilder**

<b>Bild 1 — Auflösung von chromatographischen Peaks .....</b>	<b>19</b>
<b>Bild 2 — Flussdiagramm einer möglichen Messstrategie.....</b>	<b>31</b>
<b>Bild E.1 — Chromatographische Trennung .....</b>	<b>63</b>
<b>Bild E.2 — Chromatographische Trennung .....</b>	<b>66</b>
<b>Bild E.3 — Chromatographische Trennung .....</b>	<b>68</b>
<b>Bild E.4 — Chromatographische Trennung .....</b>	<b>71</b>
<b>Bild F.1 — Chromatographische Trennung, Beispiel G2 (XIC von LC-HRMS) .....</b>	<b>75</b>
<b>Bild G.1 — Chromatographische Trennung.....</b>	<b>80</b>

## **Tabellen**

<b>Tabelle 1 — Die Tabelle fasst die Namen, Abkürzungen, Strukturen, CAS-Nummern, Formeln, Molekulargewichte und log Kow der 5 ausgewählten Estrogene zusammen .....</b>	<b>13</b>
<b>Tabelle 2 — Die Tabelle fasst die Namen, Akronyme und CAS-Nummern der isotopenmarkierten Estrogene zusammen .....</b>	<b>23</b>
<b>Tabelle 2 — Definition von Indizes .....</b>	<b>42</b>
<b>Tabelle A.1 — Beschreibung der Ringversuchsproben .....</b>	<b>48</b>
<b>Tabelle A.2 — Verfahrenskennndaten für Probe 1 — Grundwasser (Langenau) .....</b>	<b>48</b>
<b>Tabelle A.3 — Verfahrenskennndaten für Probe 2 — Oberflächenwasser (Rhein, Düsseldorf) .....</b>	<b>49</b>
<b>Tabelle A.4 — Verfahrenskennndaten für Probe 3 — Oberflächenwasser (Lubenbach) .....</b>	<b>49</b>
<b>Tabelle A.5 — Verfahrenskennndaten für Probe 4 — Oberflächenwasser (Saale).....</b>	<b>50</b>
<b>Tabelle A.6 — Verfahrenskennndaten für Probe 5 — Behandeltes Abwasser(Kläranlage Duisburg-Vierlinden) .....</b>	<b>50</b>
<b>Tabelle A.7 — Beschreibung der Ringversuchsproben .....</b>	<b>51</b>
<b>Tabelle A.8 — Verfahrenskennndaten für Probe 1 — Oberflächenwasser (hohe Komplexität).....</b>	<b>51</b>

<b>Tabelle A.9 — Verfahrenskennndaten für Probe 2 — Oberflächenwasser (hohe Komplexität).....</b>	<b>52</b>
<b>Tabelle E.1 — Optimale Parameter für die LC-MS/MS-Analyse der nativen und markierten interessierenden Estrogene.....</b>	<b>60</b>
<b>Tabelle E.2 — Optimale Parameter für die LC-MS/MS-Analyse der nativen und markierten interessierenden Estrogene.....</b>	<b>61</b>
<b>Tabelle E.3 — Optimale Parameter für die LC-MS/MS-Analyse des nativen und markierten 17-alpha-Ethinylestradiols.....</b>	<b>62</b>
<b>Tabelle E.4 — Optimale Parameter für die LC-MS/MS-Analyse der nativen und markierten ausgewählten Estrogene .....</b>	<b>63</b>
<b>Tabelle E.5 — Optimale Parameter für die LC-MS/MS-Analyse der nativen und markierten ausgewählten Estrogene .....</b>	<b>65</b>
<b>Tabelle E.5 — Optimale Parameter für die LC-MS/MS-Analyse der nativen und markierten ausgewählten Estrogene .....</b>	<b>67</b>
<b>Tabelle E.6 — Optimale Parameter für die LC-MS/MS-Analyse der nativen und markierten interessierenden Estrogene.....</b>	<b>69</b>
<b>Tabelle F.1 — Optimale Parameter für die LC-HRMS-Analyse der nativen und markierten ausgewählten Estrogene .....</b>	<b>73</b>
<b>Tabelle F.1 — Massenübergänge (HRMS) von Substanzen.....</b>	<b>75</b>
<b>Tabelle F.2 — Optimale Parameter für die LC-HRMS-Analyse der nativen und markierten ausgewählten Estrogene .....</b>	<b>76</b>
<b>Tabelle G.1 — Optimale Parameter für die GC-MS/MS-Analyse der nativen und markierten interessierenden Estrogene Vorläufer- und Produkt-Ionen.....</b>	<b>77</b>
<b>Tabelle G.2 — Optimale Parameter für die GC-MS/MS-Analyse der nativen und markierten interessierenden Estrogene.....</b>	<b>79</b>
<b>Tabelle G.3 — Optimale Parameter für die GC-MS/MS-Analyse .....</b>	<b>81</b>
<b>Tabelle H.1 — Optimale Parameter für GC-HRMS.....</b>	<b>83</b>