

DIN EN ISO 21424



ICS 67.100.10

**Milch, Milcherzeugnisse, Säuglingsnahrung und Nahrungsergänzungsmittel
für Erwachsene –
Bestimmung von Mineralien und Spurenelementen –
Verfahren mit induktiv gekoppelter Plasma-Massenspektrometrie
(ICP-MS) (ISO 21424:2018);
Deutsche Fassung EN ISO 21424:2020**

Milk, milk products, infant formula and adult nutritionals –
Determination of minerals and trace elements –
Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) method (ISO 21424:2018);
German version EN ISO 21424:2020

Lait, produits laitiers, formules infantiles et produits nutritionnels pour adultes –
Détermination de la teneur en minéraux et en oligo-éléments –
Méthode par spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-SM)
(ISO 21424:2018);
Version allemande EN ISO 21424:2020

Gesamtumfang 56 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Der Text von ISO 21424:2018 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und als EN ISO 21424:2020 durch das Technische Komitee CEN/TC 302 „Milch und Milcherzeugnisse – Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ übernommen, dessen Sekretariat von NEN (Niederlande) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-05-13 AA „Milch und Milcherzeugnisse – Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

Für die in diesem Dokument zitierten Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 1042	siehe	DIN EN ISO 1042
ISO 5725-2:1994	siehe	DIN ISO 5725-2:2002-12
ISO 15151 IDF 229	siehe	E DIN EN ISO 15151

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

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

E DIN EN ISO 15151, *Milch, Milcherzeugnisse, Säuglingsnahrung und Nahrungsergänzungsmittel für Erwachsene — Bestimmung von Mineralien und Spurenelementen — Verfahren mit induktiv gekoppelter Plasma-Atomemissionsspektrometrie (ICP-AES)*

DIN ISO 5725-2:2002-12, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für die Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens (ISO 5725-2:1994 einschließlich Technisches Korrigendum 1:2002)*

Deutsche Fassung

Milch, Milcherzeugnisse, Säuglingsnahrung und
Nahrungsergänzungsmittel für Erwachsene —
Bestimmung von Mineralien und Spurenelementen —
Verfahren mit induktiv gekoppelter Plasma-
Massenspektrometrie (ICP-MS)
(ISO 21424:2018)

Milk, milk products, infant formula and adult
nutritionals —
Determination of minerals and trace elements —
Inductively coupled plasma mass spectrometry
(ICP-MS) method
(ISO 21424:2018)

Lait, produits laitiers, formules infantiles et produits
nutritionnels pour adultes —
Détermination de la teneur en minéraux et
en oligo-éléments —
Méthode par spectrométrie de masse avec plasma à
couplage inductif (ICP-SM)
(ISO 21424:2018)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 10. Mai 2020 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim CEN-CENELEC-Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, der Republik Nordmazedonien, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort.....	3
Vorwort	4
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Kurzbeschreibung.....	7
5 Reagenzien.....	7
6 Vorbereitung der Standards und Lösungen.....	8
6.1 Tensidlösung (optional, annähernd 5 %).....	8
6.2 Salpetersäure-Spüllösung für den Autosampler-Spülanschluss, 2 %.....	8
6.3 Arbeitslösung für die P/A-Faktor-Einstellung.....	9
6.4 Lösungen für die Kalibrierblindprobe (Cal Blk, en: calibration blank) und die Vorbereitungsblindprobe (PB, en: preparation blank).....	9
6.5 Satz von Kalibrierstandardlösungen.....	9
7 Prüfeinrichtung.....	10
8 Vorbereitung der Analysenprobe.....	10
9 Bestimmung.....	12
10 Berechnung.....	13
11 Präzisionsdaten	14
11.1 Allgemeines.....	14
11.2 Wiederholpräzision	14
11.3 Vergleichpräzision	14
12 Prüfbericht.....	14
Anhang A (informativ) Präzisionsdaten.....	16
A.1 Allgemeines.....	16
A.2 Präzisionsdaten für Milch, Milcherzeugnisse, Säuglingsnahrung und Nahrungsergänzungsmittel für Erwachsene.....	19
Literaturhinweise.....	54

Europäisches Vorwort

Der Text von ISO 21424:2018 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und als EN ISO 21424:2020 durch das Technische Komitee CEN/TC 302 „Milch und Milcherzeugnisse – Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ übernommen, dessen Sekretariat von NEN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Dezember 2020, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Dezember 2020 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die Republik Nordmazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 21424:2018 wurde von CEN als EN ISO 21424:2020 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34, *Food products*, Unterkomitee SC 5, *Milk and milk products*, und der International Dairy Federation (IDF) in Zusammenarbeit mit AOAC INTERNATIONAL erarbeitet.

Es wird von ISO und IDF gemeinsam und gesondert durch AOAC INTERNATIONAL veröffentlicht. Das in diesem Dokument beschriebene Verfahren ist dem amtlichen Verfahren der AOAC „Official Method 2015.06: *Minerals and Trace Elements in Infant Formula*“ gleichwertig.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html abrufbar.

IDF (die **International Dairy Federation**) ist eine privatwirtschaftliche gemeinnützige Organisation, die die Interessen diverser interessierter Parteien der Milchwirtschaft weltweit vertritt. Die Mitglieder der IDF sind in Nationalen Komitees organisiert, bei denen es sich um nationale Verbände von Vertretern der in der Milchwirtschaft tätigen nationalen Interessengruppen, einschließlich Milchbauern, milchverarbeitender Industrie, Lieferanten von Milcherzeugnissen, Wissenschaftlern und Regierungen/Lebensmittelüberwachungsbehörden, handelt.

ISO und IDF arbeiten in allen Angelegenheiten der Normung zu den Probenahme- und Analyseverfahren für Milch und Milcherzeugnisse eng zusammen. Seit 2001 veröffentlichen ISO und IDF ihre Internationalen Normen gemeinsam unter Verwendung der Logos und Bezugsnummern beider Organisationen.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. IDF ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Dieses Dokument wurde vom IDF Standing Committee on Analytical Methods for Composition und vom Technischen Komitee ISO/TC 34, *Food products*, Unterkomitee SC 5, *Milk and milk products*, in Zusammenarbeit mit AOAC INTERNATIONAL erarbeitet.

Es wird von ISO und IDF gemeinsam und gesondert durch AOAC INTERNATIONAL veröffentlicht. Das in diesem Dokument beschriebene Verfahren ist dem amtlichen Verfahren der AOAC „Official Method 2015.06: *Minerals and Trace Elements in Infant Formula*“ gleichwertig. Sämtliche Arbeiten wurden von der ISO/IDF-Aktionsgruppe zu C40 des Standing Committee on Analytical Methods for Composition unter Federführung ihres Projektleiters, Herrn H. Cruijssen (NL), durchgeführt.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Verfahren für die quantitative Bestimmung von Calcium (Ca), Kupfer (Cu), Eisen (Fe), Magnesium (Mg), Mangan (Mn), Phosphor (P), Kalium (K), Natrium (Na), Zink (Zn), Chrom (Cr), Molybdän (Mo) und Selen (Se) mittels Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) fest.

Das Verfahren ist für die Bestimmung aller 12 Elemente in Säuglingsnahrung und Nahrungsergänzungsmitteln für Erwachsene anwendbar. Das Verfahren ist auch für Milch, Milchpulver, Molkepulver, Butter und Käse anwendbar, allerdings mit Ausnahme der Bestimmung von Cr, weil sämtliche Cr-Ergebnisse unterhalb der Quantifizierungsgrenze lagen und die Vergleichpräzision in diesen Matrices nicht bestimmt werden konnte [1]. Bei dem vorliegenden Verfahren handelt es sich um eine Erweiterung von ISO 20649 | IDF 235 (AOAC 2011.19 [2]), die nur für Cr, Mo und Se in Säuglingsnahrung und Nahrungsergänzungsmitteln für Erwachsene validiert wurde.

Die in Tabelle 1 angegebenen Bereiche werden abgedeckt (siehe auch Tabelle A.1).

Tabelle 1 — Analytische Bereiche

	Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	P	K	Na	Zn	Cr	Se	Mo
Unterer analytischer Bereich ^a , in mg/100 g	3	0,002	0,04	0,7	0,002	3	3	2	0,07	0,002	0,000 6	0,000 2
Oberer analytischer Bereich ^a , in mg/100 g	1 280	1,2	20	110	1,0	800	2 000	850	18	0,16	0,05	0,10

^a Die Konzentrationen gelten für:

- Milch und flüssige Fertignahrung im Ist-Zustand bei Verwendung einer typischen Probengröße von 1 g je Endvolumen der analytischen Lösung von 50 ml und
- wiederaufbereitetes Milchpulver, wiederaufbereitetes Säuglingsnahrungspulver und wiederaufbereitete pulverförmige Nahrungsergänzungsmittel für Erwachsene (25 g in 200 g Wasser) bei Verwendung einer typischen Probengröße von 1,8 g des wiederaufbereiteten halbflüssigen Breis je Endvolumen der analytischen Lösung von 50 ml.

Bereiche für nicht wiederaufbereitete Milchproduktezutaten (Butter, Käse, Molkepulver, Molkenproteinkonzentrat) werden von diesen Werten ausgehend, basierend auf der für die Zutat verwendeten Probengröße, proportional aufwärts angepasst. Werden z. B. 0,3 g Käse aufgeschlossen, so werden die Bereiche 1 g/0,3 g = 3,3-mal höher.

2 Normative Verweisungen

Es gibt keine normativen Verweisungen in diesem Dokument.

3 Begriffe

In diesem Dokument werden keine Begriffe aufgeführt.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: verfügbar unter <http://www.electropedia.org/>

4 Kurzbeschreibung

Den in Mikrowellengefäßen befindlichen Proben werden Salpetersäure, interner Standard und Wasserstoffperoxid zugegeben, und die Proben werden bei 200 °C unter Anwendung eines vorprogrammierten temperaturgeregelten Aufschlussverfahrens aufgeschlossen. Die Zugabe von Wasserstoffperoxid hilft, die Kohlenstoff- und Stickstoffoxidgehalte im Digestat zu verringern. Die Anwesenheit von Kohlenstoff in den Proben führt zu einer Verstärkung des Se-Signals. Um die Matrices der Proben einander anzugleichen, wird sowohl den Standardlösungen als auch dem Digestat vor der Analyse Kohlenstoff in Form von Methanol zugegeben. Ein Ionisationspuffer ist nicht notwendig, weil die Multielement-Standards und -Proben immer signifikante Mengen der leicht ionisierbaren Elemente enthalten. Als interne Standards werden Germanium (Ge, für 11 Elemente) und Tellur (Te, nur für Se) verwendet. Die Analyse erfolgt mittels ICP-MS. Mehratomige Interferenzen bei den massearmen Elementen werden durch Analyse im He-Kollisionsmodus mit Hilfe der Unterscheidung nach der kinetischen Energie (KED, en: kinetic energy discrimination) verringert oder eliminiert. Für Se-Messungen wird wegen der höheren Empfindlichkeit der H₂-Gas-Modus bevorzugt. Die Quantifizierung der 12 Elemente erfolgt im Wesentlichen gleichzeitig durch Vergleich der Responsverhältnisse von Analyt und internem Standard in den unbekannten Proben mit einer Standardkurve, die anhand der Responsverhältnisse von Kalibrierstandards erstellt wurde.

5 Reagenzien

WARNUNG — Die Anwendung dieses Dokuments kann den Umgang mit gefährlichen Substanzen und Ausrüstungsteilen und die Ausführung gefährlicher Arbeitsgänge einschließen. Diese Norm erhebt nicht den Anspruch, alle mit ihrer Anwendung verbundenen Sicherheitsprobleme anzusprechen. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieses Dokuments, geeignete Verhaltensregeln zur Sicherheit und Gesundheit festzulegen.

- 5.1 **Methanol** mit einer Reinheit $\geq 99,99$ %, Reinheitsgrad analysenrein.
- 5.2 **Salpetersäure (HNO₃)**, konzentriert, Reinheitsgrad hochrein.
- 5.3 **Salpetersäure (HNO₃)**, konzentriert, spurenmäßig rein.
- 5.4 **H₂O₂**, mit einem Volumenanteil von 30 %, ACS(en: American Chemical Society)-Reinheitsgrad.
- 5.5 **Laborwasser**, metallfrei, frei von organischen Stoffen, pyrogenfrei, gefiltert mit 18 MΩ-cm-Qualität.
- 5.6 **Tensid**, z. B. Tergitol®¹ Typ 15-S-9, Sigma oder ein gleichwertiges Tensid (optional).
- 5.7 **Argongas** mit einer Reinheit $\geq 99,996$ %.
- 5.8 **Heliumgas** mit einer Reinheit $\geq 99,999$ 9 %.
- 5.9 **Wasserstoffgas** mit einer Reinheit $\geq 99,999$ 5 %, für Se-Analysen (empfohlen).

1 Tergitol® ist ein Beispiel für ein geeignetes, im Handel erhältliches Produkt. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch ISO oder IDF.

5.10 Multielement-Standard-Stammlösung.

NIST (en: National Institute of Standards and Technology) oder auf NIST rückführbar, diese enthält Se mit einer Massenkonzentration $\rho = 20 \mu\text{g/l}$; Cr und Mo mit $40 \mu\text{g/l}$; Mn und Cu mit $0,25 \text{ mg/l}$; Zn mit 1 mg/l ; Fe mit $2,5 \text{ mg/l}$; Mg mit 10 mg/l ; P mit 25 mg/l ; Ca und K mit 50 mg/l und Na mit 25 mg/l in 2 % HNO_3 + Flusssäure(HF)-Spuren. Diese Standard-Stammlösung verfällt mit dem vom Hersteller angegebenen Datum.

5.11 Interne Multielement-Standard-Stammlösung (ISTD-Stamm).

NIST oder auf NIST rückführbar, diese enthält Ge und Te mit 5 mg/l in 2 % HNO_3 + HF-Spuren. Diese Standard-Stammlösung verfällt mit dem vom Hersteller angegebenen Datum.

5.12 Stammlösungen für die Feineinstellung und die Puls-/Analog(P/A)-Faktor-Feineinstellung.

NIST oder auf NIST rückführbar, diese enthält verschiedene Elemente auf den vom Hersteller empfohlenen Konzentrationsniveaus. Da mit Hilfe dieses Verfahrens die Hauptelemente in für ein ICP-MS vergleichsweise hohen Konzentrationen bestimmt werden, ist es wichtig, die benötigten Lösungen und das Verfahren zu verstehen, um qualitativ hochwertige Kalibrierkurven zu erhalten, für die der Detektor sowohl im Pulszähl- als auch im Analogmodus angewendet wird. Ein vorschriftsmäßig kalibriertes Messgerät liefert die Linearitätsanforderungen des Verfahrens, z. B., dass Kalibrierrückstände weniger als 4 % betragen, siehe Abschnitt 9.

5.13 Qualitätskontrollprobe (QCS, en: quality control sample).

Standard-Referenzmaterial SRM® 1849a² pulverförmiges Hybriderzeugnis auf Milchbasis mit zertifizierten Werten für Ca, Cu, Cr, Fe, Mg, Mn, Mo, P, K, Se, Na und Zn, das als Säuglingsnahrung und Nahrungsergänzungsmittel für Erwachsene fungiert. Wird in Einheiten von 10 Päckchen geliefert, die jeweils annähernd 10 g des Materials enthalten. Dies ist das für diese Analyse empfohlene Kontrollmaterial, es können aber stattdessen auch andere geeignete Standard-Referenzmaterialien (SRM) verwendet werden.

6 Vorbereitung der Standards und Lösungen

6.1 Tensidlösung (optional, annähernd 5 %)

In eine 1-l-Flasche aus Kunststoff, die einen mit Polytetrafluorethylen (PTFE) ummantelten Rührstab enthält, werden etwa 700 ml Laborwasser gegeben. Die Flasche wird auf einen Magnetrührer gestellt und der Rührvorgang wird mit mittlerer Geschwindigkeit gestartet. Langsam werden 50 ml des Tensids aus einem Messzylinder zugegeben. Nachdem das Tensid gelöst wurde, wird die Flasche mit Laborwasser auf etwa 1 000 ml aufgefüllt. Die Lösung wird in eine 1-l-Kunststoffflasche überführt, die mit einem aus PTFE bestehenden Dispenser mit von 1 ml bis 10 ml einstellbarem Volumen ausgerüstet ist. Diese Lösung wird der Autosampler-Spüllösung zugesetzt, um die Bildung von Rückständen in der Sprühkammer zu verringern. Sie hat keinen anderen Einfluss auf die Analyse. Verfall: nach sechs Monaten. Bei Raumtemperatur lagern.

6.2 Salpetersäure-Spüllösung für den Autosampler-Spülanschluss, 2 %

20 ml konzentrierte Salpetersäure (5.2) werden mit 20 ml Tensidlösung (6.1) und Laborwasser gemischt, um ein Gesamtvolumen von 1 000 ml zu erhalten. Verfall: nach drei Monaten. Bei Raumtemperatur lagern.

2 SRM 1849a ist der Handelsname eines beim National Institute of Standards and Technology (NIST) erhältlichen Produkts. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch ISO oder IDF. Gleichwertige Produkte dürfen verwendet werden, wenn sie nachweisbar zu identischen Ergebnissen führen.

6.3 Arbeitslösung für die P/A-Faktor-Einstellung

Die Stammlösungen für die P/A-Faktor-Einstellung (oder gleichwertige Lösungen) werden bis zu der vom Hersteller für die Verwendung mit dem betreffenden Gerät empfohlenen Verdünnungsstufe mit Laborwasser verdünnt und/oder vereinigt. Verfall: nach sechs Monaten. Bei Raumtemperatur lagern.

6.4 Lösungen für die Kalibrierblindprobe (Cal Blk, en: calibration blank) und die Vorbereitungsblindprobe (PB, en: preparation blank)

Etwa 15 ml Laborwasser werden in einen 50-ml-Messkolben gegeben. 5 ml Salpetersäure (5.2) (mit Hilfe des Flaschendispensers oder einer Pipette) werden in denselben Messkolben gegeben. 0,5 ml der ISTD-Stammlösung und 0,5 ml Methanol (5.1) werden hinzupipettiert (mit Hilfe der kalibrierten Digitalpipette). Es wird mit Laborwasser auf das vorgesehene Volumen verdünnt. Diese Lösung dient sowohl als Kalibrierblindprobe (Cal Blk) als auch als Vorbereitungsblindprobe (PB). Für die Proben sind dieselben Reagenzienchargen zu verwenden. Verfall: nach zwei Tagen. Bei Raumtemperatur lagern.

6.5 Satz von Kalibrierstandardlösungen

Die Standardlösungen Cal Blk, Cal Std 1, Cal Std 2, Cal Std 3 und Cal Std 4 werden durch Pipettieren von 0 ml, 1,00 ml, 5,00 ml, 20,00 ml bzw. 40,00 ml der Multielement-Standard-Stammlösung mit Hilfe einer Vollpipette (7.10) in getrennte 50-ml-Messkolben oder Probenröhrchen hergestellt. Jedem Messkolben werden 0,5 ml der ISTD mit einer Vollpipette (7.10) (oder einer am Einsatzort auf eine Fehlergrenze von 0,8 % kalibrierten Digitalpipette), 5 ml Salpetersäure (5.2) (mit Hilfe eines Repipettierers oder eines PTFE-Flaschendispensers) und 0,5 ml Methanol (5.1) zugegeben. Die Messkolben werden bis zum vorgesehenen Volumen mit Laborwasser aufgefüllt. Verfall: nach zwei Tagen. Bei Raumtemperatur lagern. Die in den Kalibrierstandardlösungen enthaltenen Analyt- und ISTD-Konzentrationen sind in Tabelle 2 angegeben.

Tabelle 2 — Konzentrationen der Standards und ISTD in Kalibrierstandardlösungen

	Kalibrier-blindprobe	Kalibrier-standard 1	Kalibrier-standard 2	Kalibrier-standard 3	Kalibrier-standard 4	ISTD ^a
Na, mg/l	0	0,500	2,50	10,0	20,0	Ge
Mg, mg/l	0	0,200	1,00	4,00	8,00	Ge
P, mg/l	0	0,500	2,50	10,0	20,0	Ge
K, mg/l	0	1,00	5,00	20,0	40,0	Ge
Ca, mg/l	0	1,00	5,00	20,0	40,0	Ge
Cr, µg/l	0	0,800	4,00	16,0	32,0	Ge
Mn, mg/l	0	0,005 00	0,025 0	0,100	0,200	Ge
Fe, mg/l	0	0,050 0	0,250	1,00	2,00	Ge
Cu, mg/l	0	0,005 00	0,025 0	0,100	0,200	Ge
Zn, mg/l	0	0,020 0	0,100	0,400	0,800	Ge
Se, µg/l	0	0,400	2,00	8,00	16,0	Te
Mo, µg/l	0	0,800	4,00	16,0	32,0	Ge

^a Interner Standard (ISTD) zugegeben bei 50 µg/l.

7 Prüfeinrichtung

7.1 Massenspektrometer mit induktiv gekoppeltem Plasma.

Dieses muss über eine Quarz-Sprühkammer, einen Quarzbrenner, einen Ni/Pt-Probenkegel, einen Ni/Pt-Siphonkegel, einen Autosampler und einen Drucker verfügen. Das ICP-Massenspektrometer muss mit Kollisionsreaktionszellen (CRC, en: collision reaction cell) ausgestattet sein. In zwei getrennten Ringversuchen lieferten vier verschiedene von drei großen Anbietern stammende Modelle von ICP-MS-Geräten gleichwertige Leistungen [1] [2].

7.2 Mikrowellenofen.

Handelsübliche Mikrowelle, die für den Laboreinsatz mit Temperaturen von 0 °C bis 300 °C ausgelegt ist, über ein geschlossenes Gefäßsystem verfügt und deren Temperaturanstieg regelbar ist. Es werden die vom Hersteller empfohlenen Gefäße verwendet. In dem Ringversuch lieferten Mikrowellen von fünf verschiedenen Auslegungen gleichwertige Leistungen [1].

VORSICHT — Der Mikrowellenbetrieb beinhaltet den Umgang mit heißen und unter Druck stehenden Säurelösungen. Es sind ein angemessener Gesichtsschutz und Laborkleidung zu tragen.

7.3 Wasserstoffgenerator, empfohlen für eine bessere Se-Empfindlichkeit.

Bedarfsgerechte Bereitstellung von Wasserstoff mit einer Reinheit von > 99,999 % mit > 150 ml/min. Alternativ darf ein Hochdruckzylinder (mit einer Reinheit von 99,999 %) verwendet werden.

7.4 Magnetrührplatte und PTFE-ummantelte Magnetrührstäbe.

7.5 Analysenwaage.

7.6 Abzug.

7.7 Übliche Laborgeräte aus Glas/Kunststoff.

7.8 Repipettierer, 50 ml.

7.9 Flaschenaufsatzdispenser, PTFE, mit auf 0,5 ml bis 5 ml einstellbarem Volumen.

7.10 Vollpipetten der Klasse A nach ISO 1042 [3], in verschiedenen Größen.

7.11 Digitalpipetten, 1 ml, einstellbar auf eine Abgabemenge von 500 µl mit einer Fehlergrenze von besser als 0,8 % und einer Präzision von besser als 0,2 % relative Standardabweichung (RSD, en: relative standard deviation).

8 Vorbereitung der Analysenprobe

Zur Bestimmung aller 12 Elemente wird eine einzelne Probenvorbereitung durchgeführt.

ANMERKUNG ISO 20649 | IDF 235 [4] verlangt für Cr, Mo und Se die Entnahme von Doppelproben und eine Mittelung von deren Ergebnissen, es wurde jedoch in einem zweiten Ringversuch mit dem in diesem Dokument beschriebenen 12-Elemente-Verfahren, bei der nur eine Probe analysiert wurde, eine vergleichbare Vergleichspräzision erhalten [1].

Die Prüfteilproben werden auf 0,000 1 g in Probengefäße eingewogen. Bei flüssigen Erzeugnissen (einschließlich Milch) beträgt die Masse der Prüfteilprobe 1,0 g. Flüssige Proben müssen gründlich geschüttelt werden (5 min in einem mechanischen Schüttelgerät sind angemessen), worauf der Behälter geöffnet und der Inhalt in einen Kunststoffbehälter gegeben wird, in dem sich ein Magnetrührstab befindet. Während des Rührens wird die Probe von 1 g mit Hilfe einer Einmalpipette für das direkte Wägen in das

ausgewogene Mikrowellengefäß abgezogen. Im Falle von Ingredienzien, wie z. B. Molkepulver oder Molken-eiweißkonzentrat, ist eine direkte Masse von 0,3 g zu verwenden.

Im Falle von pulverisierten Erzeugnissen, einschließlich Vollmilchpulver, hat die Prüfteilprobe eine Einwaage von 0,20 g einer Pulverprobe, die einer aus 25 g Pulver und 200 g warmem (60 °C) Laborwasser bestehenden Wiederaufbereitung (d. h. 1,8 g der 11,1-%-Wiederaufbereitung) entnommen werden sollte.

Im Falle von Butter oder verarbeitetem Käse (es ist ein schimmelfreier Teil zu entnehmen) wird eine direkte Masse von 0,3 g verwendet.

Nach dem Wägen der Probe werden mit Hilfe einer Digitalpipette 0,5 ml der ISTD-Stammlösung, 5 ml Salpetersäure (5.2) und 2 ml 30%iges Wasserstoffperoxid zugegeben.

Die mit Hilfe der Standards hergestellte PB/Cal-Blk-Lösung ist die richtige Proben-Blindprobe für dieses Verfahren. Besonders gilt, dass die Proben-Blindprobe nicht in der Mikrowelle aufgeschlossen werden darf, weil dies zu einer Verunreinigung der Blindprobe führen kann [5]. Die für die Zugabe der ISTD-Lösung zu verwendende Digitalpipette muss am Einsatzort kalibriert werden, um sicherzustellen, dass sie ein Volumen von 0,500 ml mit einer Fehlergrenze von besser als 0,8 % und einer Präzision von besser als 0,2 % RSD abgibt.

Die Gefäße werden verschlossen und in den Mikrowellenofen gestellt. Danach wird ein Heizprogramm gestartet, das dem in Tabelle 3 angegebenen gleichwertig und für den Gesamtaufschluss der Probe geeignet ist.

Nach dem Aufschluss werden die Gefäße in einen Abzug gestellt. Die Verschlusskappe/Belüftungsschraube wird langsam aufgeschraubt, um den Druck langsam abzulassen. Danach wird die Verschlusskappe vollständig abgenommen.

Dem Inhalt des Gefäßes werden langsam etwa 20 ml Laborwasser zugegeben. Dann wird der Inhalt in ein 50-ml-Probenfläschchen überführt. Dem Probenfläschchen werden 0,5 ml Methanol (5.1) zugegeben und mit Laborwasser auf etwa 50 ml verdünnt. Es wird kurz geschüttelt. Die Überführung oder das Endvolumen braucht nicht notwendigerweise quantitativ zu sein, weil vor dem Aufschluss interne Standards zugegeben wurden. Daher sind die Analyt/ISTD-Verhältnisse konstant.

Tabelle 3 — Mikrowellen-Betriebsparameter

Phase 1 Probenaufschluss		
1	Leistung	100 % (1 600 W)
2	Anstieg auf die Temperatur, min	20
3	Haltezeit	20
4	Temperatur, °C	180
5	Abkühlung, min	20
Phase 2 Probenaufschluss		
1	Leistung	100 % (1 600 W)
2	Anstieg auf die Temperatur, min	20
3	Haltezeit	20
4	Temperatur, °C	200
5	Abkühlung, min	20
Gesamt, h		2
ANMERKUNG Die Phasen 1 und 2 werden nacheinander ausgeführt, ohne die Gefäße aus dem Ofen zu nehmen.		

9 Bestimmung

Mit Hilfe der entsprechenden Einstellungslösungen wird das Messgerät für eine optimale Empfindlichkeit im Modus der Unterscheidung nach der kinetischen Energie und/oder im Reaktionsmodus entsprechend der Messgerätekonstruktion eingestellt. Das Messgerät wird auch eingestellt, um die P/A-Kalibrierfaktoren zu ermitteln, die für diejenigen Kalibrierkurven benötigt werden, die sich über etwa 100 µg/l hinweg erstrecken (das ist vom Messgerätetyp abhängig). In Tabelle 4 sind die für die Analyse üblichen Messgeräteparameter zusammengefasst.

Die Prüflösungen werden mit Hilfe eines ICP-MS-Geräts analysiert, das mit Hilfe der in Tabelle 2 angegebenen Standardlösungen standardisiert wurde. Ge wird als ISTD für die 11 Elemente ausgenommen Se verwendet. Diese 11 Elemente werden im He-Kollisionsmodus unter Anwendung der KED bestimmt. Als ISTD für die Se-Bestimmungen muss Te verwendet werden. Für die Bestimmung niedriger Se-Niveaus in Säuglingsnahrung wird der Wasserstoffmodus empfohlen, und je nach Gerätetyp ist es möglicherweise nicht einfach, vom Wasserstoff- in den Heliummodus und umgekehrt zu schalten. In einem solchen Fall werden für den Wechsel vom Helium- in den Wasserstoffmodus die Anweisungen des Geräteherstellers befolgt und wird die Se-Analyse getrennt von den anderen Elementen durchgeführt. Alternativ wird in gesonderten Experimenten verifiziert, ob die praktische Quantifizierungsgrenze (PLOQ, en: practical limit of quantification) für Se bei Verwendung eines alternierenden Kollisions-/Reaktionsgases bei oder unterhalb von 10 ng/g in der Probe liegt. Ein Labor hat die Vergleichspräzisionsstudie erfolgreich mit Helium, ein anderes mit Ammoniakgas durchgeführt [2].

Typische Kalibrierkorrelationskoeffizienten sind für alle Analyte 0,999 5 oder besser, die Eignung wird jedoch anhand der Kalibrierrückstände wie folgt bestimmt. Zur Überwachung der Gerätedrift und der Linearität des Geräts wird nach jeweils 10 Prüfteilproben Cal Std 3 oder eine andere geeignete Qualitätskontrolllösung als eine Probe analysiert. Das Ergebnis muss der Nennkonzentration des Standards innerhalb von 4 % entsprechen. Für eine gute Leistung werden eine Verfahrensblindprobe (die als Probe durchgelaufen lassen wird und deren gemessene Konzentration kleiner als der durch 2 geteilte niedrigste Kalibrierstandard sein muss) und bekannte Referenzmaterialien aufgenommen, die als Kontrollproben dienen (Rückgewinnungsüberprüfung innerhalb der Kontroll- oder der zertifizierten Grenzen).

Doppelproben, wie sie für die erste Ringversuchsstudie (MLT, en: multi-lab testing) [2] gefordert waren, sind nunmehr optional, weil sie die Vergleichspräzision nicht grundsätzlich verbessert haben [1]. Falls solche verwendet werden, wird im Prüfbericht das gemittelte Ergebnis angegeben, und auf diesen Daten basierende, angemessene Kriterien wären eine relative prozentuale Differenz innerhalb von 10 % für Cr, 7 % für Se und 5 % für alle anderen Elemente. Wird eine dieser Qualitätskontrollüberprüfungen nicht bestanden, so sollten die Ergebnisse als ungültig angesehen werden.

Die Analyse sollte in folgender Reihenfolge durchgeführt werden: Kalibrierstandards, gefolgt von einer Spülung, Blindprobenüberprüfung, Überprüfungsstandard, Kontrollprobe, Probe, Probenduplikat (sofern verwendet) und ein wiederholter Überprüfungsstandard.

Tabelle 4 — Übliche ICP-MS-Parameter für Agilent 7700x^{a3}

Hochfrequenz(HF)-Leistung, W	1 600
HF-Abgleich, V	1,8
Probentiefe, mm	9
Extrakt 1 Linse, V	0
Trärgas, l/min	0,9
Aufbaugas, l/min	0,2
Zerstäuber (Glas, konzentrisch)	MicroMist
Sprühkammertemperatur, °C	2
Schnittstellenkegel	Ni
He-Zellgas-Volumenstrom, ml/min	4,5
H ₂ -Zellgas-Volumenstrom, ml/min	4,2
Zerstäuber-Pumpleistung, s ⁻¹	0,1 (0,5 ml/min)
Schlauchradpumpen-Rohrleitung	Weiß/weiß, mit einem Innendurchmesser (i.d., en: internal diameter) von 1,02 mm
Ablasseitung	Blau/gelb, mit einem Innendurchmesser von 1,52 mm
^a Die für die Analyse verwendeten Isotope sind ²³ Na, ²⁴ Mg, ³¹ P, ³⁹ K, ⁴⁴ Ca, ⁵² Cr, ⁵⁵ Mn, ⁵⁶ Fe, ⁶³ Cu, ⁶⁶ Zn, ⁷⁸ Se und ⁹⁵ Mo mit ⁷² Ge und ¹³⁰ Te als interne Standards.	

10 Berechnung

Die Probenkonzentrationen werden mit Hilfe der Software unter Anwendung einer Kalibrieranalyse mittels ungewichteter linearer Regression nach der Methode der kleinsten Quadrate nach Gleichung (1) automatisch berechnet, um eine Ausgleichsgerade zu erhalten:

$$y = a \times x + \text{blank} \quad (1)$$

Es wird beachtet, dass die Proben-Blindprobe für dieses Verfahren identisch mit der Cal Blk und im Wesentlichen gleich null ist, weil hochreine Reagenzien verwendet werden.

- 3 Agilent 7700x ist ein Beispiel für ein geeignetes, im Handel erhältliches Produkt. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch ISO oder IDF.

Der Massenanteil des Analyts in der Probe w wird, in ng/g, nach Gleichung (2) berechnet:

$$w = \frac{(y - x)}{a} \times \frac{V_s}{m_s} \quad (2)$$

Dabei ist

- y das Verhältnis zwischen Analyt- und ISTD-Intensität, bei dem es sich um die gemessene Impulszahl des Standardlösungsdatenpunktes jedes Analyts in der Kalibrierkurve, geteilt durch die Impulszahlen der ISTD beim selben Niveau handelt;
- x das Verhältnis zwischen Analyt- und ISTD-Intensität, bei dem es sich um die gemessene Impulszahl des Standardlösungsdatenpunktes der Blindprobe in der Kalibrierkurve, geteilt durch die Impulszahlen der ISTD beim selben Niveau wie die Blindproben-Standardlösung handelt;
- a der Anstieg der Kalibrierkurve, in ml/ng;
- V_s das Volumen der Probenlösung, in ml;
- m_s die Probenmasse.

11 Präzisionsdaten

11.1 Allgemeines

Einzelheiten des Ringversuchs zur Bestimmung der Präzision dieses Verfahrens sind in Anhang A zusammengefasst. Die aus dem Ringversuch abgeleiteten Werte sind möglicherweise nicht auf andere als die in Anhang A angegebenen Analyt-Konzentrationsbereiche und/oder Matrices anwendbar.

11.2 Wiederholpräzision

Es wird erwartet, dass die Ergebnisse des Verfahrens einen Variationskoeffizienten der Wiederholpräzision $C_{V,r}$, in %, kleiner oder gleich 5 % haben, wie in den Leistungsanforderungen des Standardverfahrens (SMPR, en: standard method performance requirements) vorgeschrieben. Bezüglich der Gesamtwiederholpräzision siehe Tabelle A.1 und zur Leistung im Einzelnen siehe Anhang A.

11.3 Vergleichpräzision

Es wird erwartet, dass die Ergebnisse des Verfahrens einen Variationskoeffizienten der Vergleichpräzision $C_{V,R}$, in %, kleiner oder gleich 10 % haben, wie in den SMPR vorgeschrieben (≤ 15 % für Cr, Mo, Se und ≤ 16 % für Mn und Cu). Bezüglich der Gesamtvergleichpräzision siehe Tabelle A.1 und zur Leistung im Einzelnen siehe Anhang A.

12 Prüfbericht

Der Prüfbericht muss folgende Angaben enthalten:

- a) alle zur Identifizierung der Probe erforderlichen Informationen (Art der Probe, Ursprung und Bezeichnung der Probe);
- b) eine Verweisung auf dieses Dokument, d. h. ISO 21424 | IDF 243;
- c) Datum der Probenahme und Typ des Probenahmeverfahrens (sofern bekannt);
- d) Eingangsdatum;
- e) Datum der Prüfung;

- f) die Prüfergebnisse und die Einheiten, in denen sie angegeben sind;
- g) alle Arbeitsgänge, die nicht in dem Verfahren festgelegt sind oder als wahlfrei angesehen werden und die Einfluss auf die Ergebnisse gehabt haben könnten.