

DIN ISO 16308



ICS 13.060.50

**Wasserbeschaffenheit –
Bestimmung von Glyphosat und AMPA –
Verfahren mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) mit
tandem-massenspektrometrischer Detektion (ISO 16308:2014)**

Water quality –

Determination of glyphosate and AMPA –

Method using high performance liquid chromatography (HPLC) with tandem mass spectrometric detection (ISO 16308:2014)

Qualité de l'eau –

Détermination du glyphosate et de l'AMPA –

Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) avec détection par spectrométrie de masse en tandem (ISO 16308:2014)

Gesamtumfang 30 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Inhalt

	Seite
Nationales Vorwort.....	4
Nationaler Anhang NA (informativ) Literaturhinweise	6
Vorwort	7
Einleitung	8
1 Anwendungsbereich.....	9
2 Normative Verweisungen	9
3 Grundlage des Verfahrens.....	9
4 Störungen	10
5 Reagenzien.....	10
6 Geräte.....	12
7 Probenahme	13
8 Durchführung.....	13
8.1 Vorbehandlung (Schwebstoffe).....	13
8.2 Aufspalten des Chelats und Derivatisierung	13
8.2.1 Allgemeines	13
8.2.2 Aufspalten des Chelats und Derivatisierung durch Direktinjektion	13
8.2.3 Aufspalten des Chelats und Derivatisierung vor der Voranreicherung	14
8.3 Voranreicherung.....	14
8.3.1 Flüssig-Flüssig-Extraktion der Analytderivate.....	14
8.3.2 Festphasenextraktion	15
8.4 Chromatographische Bestimmung.....	16
8.4.1 Allgemeine Anforderungen.....	16
8.4.2 Chromatographische Bedingungen	16
8.5 Identifizierung und Nachweis des Analyts	16
8.6 Überwachung mittels Blindwert-Kontrolllösungen	16
9 Kalibrierung	17
9.1 Konzentrationsbereiche	17
9.2 Matrixangepasste Kalibrierung.....	17
9.2.1 Kalibrierung	17
9.2.2 Berechnung.....	18
9.3 Kalibrierung mit internem Standard	18
9.3.1 Kalibrierung	18
9.3.2 Berechnung.....	18
10 Angabe der Ergebnisse	19
11 Analysenbericht.....	19
Anhang A (informativ) Verfahrenskennndaten.....	20
A.1 Verfahrenskennndaten	20
A.2 Verfahrenskennndaten für das direkte Verfahren nach 8.2.2	21
Anhang B (informativ) Beispiele für chromatographische Bedingungen	23

Anhang C (informativ) Beispiele für Chromatogramme	24
Anhang D (informativ) Analyse von Glufosinat.....	25
D.1 Allgemeines	25
D.2 HPLC-Verfahren	25
D.2.1 Geräte.....	25
D.2.2 Reagenzien.....	26
D.3 Massenspektrometrische Bedingungen.....	26
Anhang E (informativ) Vorbehandlung von Wasserproben mit höherer Wasserhärte	29
E.1 Allgemeines	29
E.2 Reagenzien.....	29
E.3 Erste Variante der Vorbehandlung	29
E.4 Zweite Variante der Vorbehandlung	29
Literaturhinweise.....	30

Nationales Vorwort

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 147 „Water quality“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN (Deutschland) gehalten wird.

Für Deutschland war der Arbeitskreis NA 119-01-03-02-16 AK „LC-MS/MS-Verfahren“ des NA 119-01-03 AA „Wasseruntersuchung“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW) an der Bearbeitung beteiligt.

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

Bezeichnung des Verfahrens:

Bestimmung von Glyphosat und AMPA — Verfahren mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) mit tandem-massenspektrometrischer Detektion (F 45):

Verfahren DIN ISO 16308 — F 45

Für die in diesem Dokument zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

ISO 3696	siehe DIN ISO 3696
ISO 5667-3	siehe DIN EN ISO 5667-3
ISO 5725-2	siehe DIN ISO 5725-2
ISO 6058	siehe DIN 38406-3
ISO 6059	siehe DIN 38406-3

Es ist erforderlich, bei den Untersuchungen nach dieser Norm Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten und bestehende Sicherheitsvorschriften zu beachten.

Bei Anwendung der Norm ist im Einzelfall je nach Aufgabenstellung zu prüfen, ob und inwieweit die Festlegung von zusätzlichen Randbedingungen erforderlich ist.

Die vorliegende Norm enthält das vom DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW) und von der Wasserchemischen Gesellschaft – eine Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker – gemeinsam erarbeitete Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung:

Bestimmung von Glyphosat und AMPA — Verfahren mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) mit tandem-massenspektrometrischer Detektion (F 45).

Die als DIN-Normen veröffentlichten Deutschen Einheitsverfahren sind bei der Beuth Verlag GmbH einzeln oder zusammengefasst erhältlich. Außerdem werden die genormten Deutschen Einheitsverfahren in der Loseblattsammlung „Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung“ gemeinsam von der Beuth Verlag GmbH und der Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA publiziert.

Normen oder Norm-Entwürfe mit dem Gruppentitel „*Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung*“ sind in folgende Gebiete (Haupttitel) aufgeteilt:

Allgemeine Angaben (Gruppe A)

Sensorische Verfahren (Gruppe B)

Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C)

Anionen (Gruppe D)

Kationen (Gruppe E)

Gemeinsam erfassbare Stoffgruppen (Gruppe F)

Gasförmige Bestandteile (Gruppe G)

Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H)

Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K)

Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L)

Biologisch-ökologische Gewässeruntersuchung (Gruppe M)

Einzelkomponenten (Gruppe P)

Schlamm und Sedimente (Gruppe S)

Suborganismische Testverfahren (Gruppe T).

Über die bisher erschienenen Teile dieser Normen gibt die Geschäftsstelle des Normenausschusses Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Telefon 030 2601–2448, oder die Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin), Auskunft.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN 38406-3, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Kationen (Gruppe E) — Teil 3: Bestimmung von Calcium und Magnesium, komplexometrisches Verfahren (E 3)*

DIN 38407-22, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser und Schlammuntersuchung — Gemeinsam erfassbare Stoffgruppen (Gruppe F) — Teil 22: Bestimmung von Glyphosat und Aminomethylphosphonsäure (AMPA) in Wasser durch Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC), Nachsäulenderivatisierung und Fluoreszenzdetektion (F 22)*

DIN EN ISO 5667-3, *Wasserbeschaffenheit — Probenahme — Teil 3: Konservierung und Handhabung von Wasserproben*

DIN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen*

DIN ISO 5725-2, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens*

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung von Nationalen Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird normalerweise von ISO Technischen Komitees 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 Organisationen, staatlich und nicht-staatlich, in Liaison mit ISO, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) bei allen elektrotechnischen Themen 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. Im Besonderen sollten die für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten notwendigen Annahmekriterien 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 empfangenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname wird als Information zum Nutzen der Anwender angegeben und stellt keine Anerkennung dar.

Eine Erläuterung der Bedeutung ISO-spezifischer Benennungen und Ausdrücke, die sich auf Konformitätsbewertung beziehen, sowie Informationen über die Beachtung der WTO-Grundsätze zu technischen Handelshemmnissen (TBT, en: Technical Barriers to Trade) durch ISO enthält der folgende Link: Foreword - Supplementary information.

Das für dieses Dokument verantwortliche Komitee ist ISO/TC 147, *Water quality*, Subcommittee SC 2, *Physical, chemical and biochemical methods*.

Einleitung

Glyphosat [*N*-(Phosphonomethyl)glycin] ist ein nicht selektives Breitbandherbizid. Aufgrund seiner Wirksamkeit ist diese Verbindung ein umsatzstarkes und eines der weltweit am weitesten verbreitetes Herbizide, seit es 1974 auf den Markt gebracht wurde. Zusammen mit seinem Hauptabbauprodukt, Aminomethylphosphonsäure (AMPA), ist Glyphosat eine der am meisten in den Gewässern zahlreicher Industrieländer nachgewiesenen Substanzen. Es ist zu beachten, dass AMPA bei der Abwasseraufbereitung freigesetzt werden kann (z. B. aufgrund der Aufspaltung in Reinigungsmittelformulierungen für Textilien).

Glyphosat und AMPA gehören zur Familie der Aminophosphonate und weisen spezifische physikalisch-chemische Eigenschaften auf, die eine Entwicklung komplexer analytischer Verfahren für die Analyse und Bestimmung erfordern. Die Schwierigkeit bei der Analyse hängt hauptsächlich mit der hohen Löslichkeit von Glyphosat und AMPA und deren chelatbildender Natur zusammen. Zur Lösung dieser Probleme wird deren Vorsäulenderivatisierung mit 9-Fluorenylmethylchlorformiat (FMOC-Cl) empfohlen, um weniger polare Derivate zu bilden, die besser mittels Flüssigkeitschromatographie getrennt werden können.

Das durch Rechtsvorschriften weniger berücksichtigte Glufosinat, das zur Familie der Aminophosphonate gehört, kann ebenfalls bestimmt werden, vorausgesetzt, es wird nachgewiesen, dass keine Störungen mit der zu analysierenden Probe auftreten.

Derzeit liegt eine Norm für die Bestimmung dieser Substanzen mittels Flüssigkeitschromatographie mit Fluoreszenzdetektion vor; die Bestimmung mittels HPLC-ESI-MS/MS kann jedoch viel genauer (eindeutige Identifizierung) und empfindlicher (Bestimmungsgrenze von etwa 30 ng/l für Glyphosat und AMPA) durchgeführt werden. Die vorliegende Internationale Norm beruht auf diesem analytischen Verfahren und ist für Labore vorgesehen, die für die gesetzliche Überwachung der aquatischen Umwelt tätig sind. Viele dieser Labore sind mit dieser Art Geräte ausgestattet.

WARNUNG — Anwender dieser Internationalen Norm sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Diese Internationale Norm gibt nicht vor, alle unter Umständen mit der Anwendung des Verfahrens verbundenen Sicherheitsaspekte anzusprechen. Es liegt in der Verantwortung des Arbeitgebers, angemessene Sicherheits- und Schutzmaßnahmen zu treffen und sicherzustellen, dass diese mit nationalen Festlegungen übereinstimmen.

WICHTIG — Es ist erforderlich, bei den Untersuchungen nach dieser Internationalen Norm Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt ein Verfahren für die Bestimmung der gelösten Fraktion von Glyphosat und dessen wichtigstem Metabolit Aminomethylphosphonsäure (AMPA) im Trink-, Grund- und Oberflächenwasser in den Konzentrationen von 0,03 µg/l bis 1,5 µg/l fest. Sie gilt nicht für Meerwasser oder Salzwasser. Dieses Verfahren kann auf andere Wasserarten angewendet werden, vorausgesetzt, das Verfahren wird für jeden einzelnen Fall validiert.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 3696, *Water for analytical laboratory use — Specification and test methods*

ISO 5667-3, *Water quality — Sampling — Part 3: Preservation and handling of water samples*

ISO 8466-1, *Water quality — Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics — Part 1: Statistical evaluation of the linear calibration function*

3 Grundlage des Verfahrens

Glyphosat und AMPA (gelöste Fraktion nach der Filtration) werden mit 9-Fluorenylmethylchlorformiat (FMOC-Cl) (5.17) derivatisiert, um deren Polarität zu senken und die Retention der Verbindungen bei einer Trennung auf einer Umkehrphasen-Chromatographiesäule (z. B. C18) zu erhöhen und um die massenspektrometrische Detektion zu verbessern. Bei ausreichendem Nachweisvermögen des Massenspektrometers ist keine Voranreicherung erforderlich und die Probe kann durch Direktinjektion analysiert werden (siehe 8.2.1).

Die derivatisierte Probe wird durch eine Flüssig-Flüssig-Extraktion gereinigt und anschließend durch eine Festphasenextraktion (en: solid phase extraction, SPE) angereichert.

Die Analyse erfolgt mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie, gekoppelt mit Tandem-Massenspektrometrie, mithilfe einer Elektrospray-Quelle (HPLC-ESI-MS/MS) unter Anwendung einer matrix-angepassten Kalibrierung.