

DIN EN 13368-2



ICS 65.080

Einsprüche bis 2016-08-17
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN 13368-2:2012-10

Entwurf**Düngemittel –****Bestimmung von Chelatbildnern in Düngemitteln mit Chromatographie –
Teil 2: Bestimmung von Fe chelatisiertem [o,o] EDDHA, [o,o] EDDHMA und
HBED, oder der Menge der Chelatbildner, mit Ionen-Paarchromatographie;
Deutsche und Englische Fassung prEN 13368-2:2016**

Fertilizers –

Determination of chelating agents in fertilizers by chromatography –

Part 2: Determination of Fe chelated by [o,o] EDDHA, [o,o] EDDHMA and HBED, or the amount
of chelating agents, by ion pair chromatography;

German and English version prEN 13368-2:2016

Engrais –

Détermination des agents chélatants dans les engrais par chromatographie –

Partie 2: Détermination du fer chélaté [o,o] EDDHA, [o,o] EDDHMA et HBED, ou de la quantité
d'agents chélatants, par chromatographie d'appariement d'ions;

Version allemande et anglaise prEN 13368-2:2016

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2016-06-17 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und
Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfes
besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal des DIN unter www.entwuerfe.din.de bzw. für Norm-Entwürfe
der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort
wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an nal@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im
Internet unter www.din.de/stellungnahme oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter
www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL),
10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin).

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten
Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 55 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 13368-2:2016) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 260 „Düngemittel und Kalkdünger“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird. Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-03-02 AA „Düngemittel“ des DIN-Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung der prEN 13368-2 beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Änderungen

Gegenüber DIN EN 13368-2:2012-10 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) die Bestimmung der Chelatbildner wurde zum Anwendungsbereich und zum Titel hinzugefügt;
- b) ein Derivatisierungsverfahren zur Bestimmung des Chelatbildners ist in Abschnitt 4 Kurzbeschreibung beschrieben;
- c) eine neue Option zur Herstellung der Fe-[o,o] EDDHA-Lösung wurde zu 6.6 hinzugefügt, ausgehend von einem Fe-[o,o] EDDHA Standard;
- d) die Berechnung des Massenanteils des Chelatbildners wurde in Abschnitt 10 aufgenommen, einschließlich Formeln (3) und (4);
- e) Tabelle 2 wurde um die Präzisionsdaten zum Ringversuch von 2014 erweitert;
- f) Abschnitt 12 enthält nun Angaben über die Art des Standards, der für Fe-[o,o] EDDHA-Proben verwendet wurde sowie die Möglichkeit, die Inhaltsstoffe des Chelatbildners wiederzugeben;
- g) A.3 und A.4: Ergebnisse des im Jahr 2014 durchgeführten Ringversuchs Teil A bzw. Teil B wurden hinzugefügt.
- h) Anhang C: Vollständige Namen der Chelatbildner wurden technisch überarbeitet.

Für die in diesem Dokument zitierte internationale Norm wird im Folgenden auf die entsprechende Deutsche Norm hingewiesen:

ISO 5725-2 siehe DIN ISO 5725-2

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

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

Düngemittel — Bestimmung von Chelatbildnern in Düngemitteln mit Chromatographie — Teil 2: Bestimmung von Fe chelatisiertem [o,o] EDDHA, [o,o] EDDHMA und HBED, oder der Menge der Chelatbildner, mit Ionen-Paarchromatographie

Engrais — Détermination des agents chélatants dans les engrais par chromatographie — Partie 2 : Détermination du fer chélaté [o,o] EDDHA, [o,o] EDDHMA et HBED, ou de la quantité d'agents chélatants, par chromatographie d'appariement d'ions

Fertilizers — Determination of chelating agents in fertilizers by chromatography — Part 2: Determination of Fe chelated by [o,o] EDDHA, [o,o] EDDHMA and HBED, or the amount of chelating agents, by ion pair chromatography

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokument-Stage: CEN-Umfrage
Dokument-Sprache: D

STD Version 2.8f

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Begriffe	5
4 Kurzbeschreibung	6
5 Störungen	6
6 Reagenzien	6
7 Geräte	8
8 Probenahme und Probenvorbereitung	8
9 Durchführung	9
9.1 Herstellung der Probenlösung für Eisenchelate	9
9.2 Herstellung der Probenlösung für andere Spurennährstoff-Chelate	9
9.3 Herstellung der Kalibrierlösungen	9
9.4 Chromatographische Analyse	10
10 Angabe der Ergebnisse (Fe in Fe-Chelaten)	13
10.1 Durch [o,o] EDDHA oder [o,o] EDDHMA chelatisiertes Fe in Fe-[o,o] EDDHA oder Fe-[o,o] EDDHMA-Chelaten	13
10.2 Durch HBED chelatisiertes Fe in Fe-HBED-Chelaten	14
10.2.1 Allgemeines	14
10.2.2 Massenanteil des Chelatbildners in Düngemitteln, die [o,o] EDDHA oder [o,o] EDDHMA enthalten	14
10.2.3 Massenanteil des Chelatbildners in Düngemitteln, die HBED enthalten	14
11 Präzision	15
11.1 Ringversuch	15
11.2 Wiederholpräzision	15
11.3 Vergleichpräzision	15
12 Untersuchungsbericht	17
Anhang A (informativ) Statistische Ergebnisse der Ringversuche	18
A.1 Statistische Ergebnisse des im Jahr 2003 durchgeführten Ringversuchs	18
A.1.1 Untersuchungsproben	18
A.1.2 Durchführung des Ringversuchs	18
A.1.3 Ergebnisse und statistische Auswertung	18
A.2 Statistische Ergebnisse des im Jahr 2010 durchgeführten Ringversuchs	19
A.2.1 Untersuchungsproben	19
A.2.2 Durchführung des Ringversuchs	20
A.2.3 Ergebnisse und statistische Auswertung	20
A.3 Ergebnisse des im Jahr 2014 durchgeführten Ringversuchs — Teil A	21
A.3.1 Zielstellung	21
A.3.2 Untersuchungsproben	21
A.3.3 Durchführung des Ringversuchs	21
A.3.4 Ergebnisse und statistische Auswertung	21
A.4 Statistische Ergebnisse des im Jahr 2014 durchgeführten Ringversuchs — Teil B	23

A.4.1	Zielstellung	23
A.4.2	Durchführung des Ringversuchs	24
A.4.3	Ergebnisse und statistische Auswertung.....	24
Anhang B (informativ) Allgemeines Verfahren zur Bestimmung der titrimetrischen Reinheit der Chelatbildner unter Anwendung eines photometrischen Titrierautomaten.....		25
Anhang C (informativ) Vollständige Bezeichnung der Chelatbildner		26
Literaturhinweise.....		27

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 13368-2:2016) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 260 „Düngemittel und Kalkdünger“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN 13368-2:2012 ersetzen.

Dieses Dokument wurde unter einem Normungsauftrag erarbeitet, den die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelszone dem CEN erteilt haben.

Gegenüber EN 13368-2:2012 wurden folgende Änderungen durchgeführt:

- a) die Bestimmung der Chelatbildner wurde zum Anwendungsbereich und zum Titel hinzugefügt;
- b) ein Derivatisierungsverfahren zur Bestimmung des Chelatbildners ist in Abschnitt 4 Kurzbeschreibung beschrieben;
- c) eine neue Option zur Herstellung der Fe-[o,o] EDDHA-Lösung wurde zu 6.6 hinzugefügt, ausgehend von einem Fe-[o,o] EDDHA Standard;
- d) die Berechnung des Massenanteils der Chelatbildner wurde in Abschnitt 10 aufgenommen, einschließlich Formeln (3) und (4);
- e) Tabelle 2 wurde um die Präzisionsdaten zum Ringversuch von 2014 erweitert;
- f) Abschnitt 12 enthält nun Angaben über die Art des Standards, der für Fe-[o,o] EDDHA-Proben verwendet wurde sowie die Möglichkeit die Inhaltsstoffe des Chelatbildners wiederzugeben;
- g) A.3 und A.4: Ergebnisse des im Jahr 2014 durchgeführten Ringversuchs Teil A bzw. Teil B wurden hinzugefügt.
- h) Anhang C: Vollständige Namen der Chelatbildner wurden technisch überarbeitet.

EN 13368 *Düngemittel — Bestimmung von Chelatbildnern in Düngemitteln mit Chromatographie* besteht aus folgenden Teilen:

- Teil 1: *Bestimmung von EDTA, HEEDTA und DTPA mit Ionenchromatographie*
- Teil 2: *Bestimmung von Fe chelatisiertem [o,o] EDDHA, [o,o] EDDHMA und HBED, oder der Menge der Chelatbildner, mit Ionen-Paarchromatographie*
- Teil 3 *Bestimmung von Fe chelatisiertem [S,S]-EDDS, oder der Menge der Chelatbildner, mit Ionen-Paarchromatographie* (in Vorbereitung)

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm legt ein Verfahren zur chromatographischen Bestimmung von Eisen, das mit jedem individuellen *ortho*(hydroxy)-*ortho*(hydroxy)-Isomer der Chelatbildner [o,o] EDDHA, [o,o] EDDHMA und mit HBED Chelate bildet, in Düngemitteln fest, die eine oder mehrere dieser Substanzen enthalten, mit Ausnahme von [o,o] EDDHMA- und HBED-Gemischen. Das Verfahren erlaubt die Identifizierung und die Bestimmung der Gesamtkonzentration von wasserlöslichen Eisenchelaten dieser Chelatbildner. Nach der Derivatisierung mit Fe ist auch die Bestimmung des löslichen Anteils der Chelatbildner möglich, wenn andere Spurennährstoffe außer Fe in Düngemitteln vorhanden sind, die [o,o] EDDHA, [o,o] EDDHMA oder HBED enthalten.

Dieses Verfahren ist anwendbar für EG-Düngemittel, die der Verordnung (EG) Nr. 2003/2003 [4] unterliegen. Es gilt für einen Massenanteil an chelatisiertem Metall von mindestens 0,625 %.

ANMERKUNG 1 Die Substanzen EDDHA (Ethylendiamin-N,N'-di[(hydroxyphenyl)essigsäure]) und EDDHMA (Ethylendiamin-N,N'-di[(hydroxy-methylphenyl)essigsäure]) existieren in mehreren unterschiedlichen isomeren Formen. Es sind sowohl Stellungsisomere (in *Ortho*-, *Meta*- und *Para*-Stellungen) als auch Stereoisomere (*Meso*- und dl-Racemformen) der Hydroxyl- oder Methylgruppen bekannt. Die *Meso*- und dl-Racemformen von *ortho,ortho*-EDDHA und *ortho,ortho*-EDDHMA sind Stellungsisomere der Hydroxylgruppen, die nach der Verordnung (EG) Nr. 2003/2003 zugelassen sind. Da *Para*-, *Meta*- und *Orthomethyl*-Stellungsisomere von EDDHMA eine sehr ähnliche Stabilität aufweisen, könnten sie in einer Gruppe zusammengefasst werden: in dem hier beschriebenen Verfahren werden die *Para*-, *Meta*- und *Orthomethyl*-Stellungsisomere von [o,o] EDDHMA zusammen betrachtet. HBED (N,N'-Bis(2-hydroxybenzyl)ethylendiamin-N,N'-diessigsäure) bildet keine isomeren Formen aus.

ANMERKUNG 2 Gegenwärtig existieren analysenreine Standards nur für *ortho,ortho*-EDDHA, *ortho,ortho*-EDDHMA und HBED. Da alle anderen Substanzen als Standards nicht zur Verfügung stehen, ist deren Einfluss bei eventuellem Vorkommen in den Proben (in Bezug auf die Empfindlichkeit und die Trennschärfe dieses Verfahrens) noch nicht untersucht worden.

ANMERKUNG 3 Mit diesem Verfahren können die *Meso*- und dl-Racemformen von [o,o] EDDHA und [o,o] EDDHMA einzeln bestimmt werden.

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).

EN 1482-2, *Düngemittel und Calcium-Magnesium-Bodenverbesserungsmittel — Probenahme und Probenvorbereitung — Teil 2: Probenvorbereitung*

EN 12944-1:1999, *Düngemittel und Calcium-Magnesium-Bodenverbesserungsmittel — Wörterbuch — Teil 1: Allgemeine Begriffe*

EN 12944-2:1999, *Calcium-Magnesium-Bodenverbesserungsmittel — Wörterbuch — Teil 2: Begriffe für Düngemittel*

EN ISO 3696, *Wasser für analytische Laborzwecke — Spezifikation und Prüfverfahren (ISO 3696)*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Begriffe nach EN 12944-1:1999 und EN 12944-2:1999.

4 Kurzbeschreibung

Die Eisenchelate werden abgetrennt und durch isokratische Ionenpaar-Hochleistungs-Flüssigchromatographie bestimmt. Wenn ein Eisenchelat (Anion) zu einer polaren Flüssigkeit (Elutionsmittel) gegeben wird, die ein großes Kation enthält, bildet sich ein Ionenpaar. Dieses Ionenpaar wird durch eine apolare feste Phase (stationäre Phase) zurückgehalten. Die Stärke der Rückhaltung hängt von der Größe des Moleküls und dessen Acidität ab. In Abhängigkeit vom Chelatbildner steht folglich jedes Eisenchelat für eine charakteristische Retentionszeit und wird von den anderen in der Probe vorliegenden Substanzen abgetrennt. Die Trennung erfolgt auf einer Umkehrphasen-Quarzsäule und mit einer wässrigen Lösung von TBA⁺ (Tetrabutylammonium) und Acetonitril als Elutionsmittel. Der Nachweis erfolgt photometrisch bei 280 nm.

Für andere Metallchelate als Fe darf ein Derivatisierungsverfahren verwendet werden, um die Fe-Chelate zu bilden, und dann darf der Chelatbildner durch die hier vorgestellte isokratische Ionenpaar-Hochleistungs-Flüssigchromatographie bestimmt werden.

ANMERKUNG Für zusätzliche Informationen siehe [5], [6] und [7].

5 Störungen

Es wurden keine Störungen nachgewiesen. Weder Eisenchelate mit HBEP, EDDHSA, EDTA, DTPA, CDTA, HEEDTA, [*p,p*] EDDHA, [*o,p*] EDDHA, IDHA noch die Chelatbildner stören, weil sie von Fe-[*o,o*] EDDHA, Fe-[*o,o*] EDDHMA oder Fe-HBED abgetrennt wurden. Fe-[*o,o*] EDDHA beeinträchtigt nicht Fe-[*o,o*] EDDHMA oder Fe-HBED. Falls Fe[*o,o*] EDDHMA oder Fe-HBED in derselben Probe vorhanden sind, ist das Auftreten einer Überlappung des *Meso*-Isomers der Fe[*o,o*] EDDHMA- und Fe-HBED-Peaks bei mancher Ausrüstung, abhängig von der angewendeten Säule, möglich. Die Anwendung einer anderen Säule des gleichen Typs kann dieses Problem lösen.

ANMERKUNG Bezüglich der vollständigen Bezeichnungen der in diesem Dokument verwendeten Abkürzungen der Chelatbildner siehe Anhang C.

6 Reagenzien

6.1 Allgemeines

Alle Reagenzien müssen von anerkannter Analysenreinheit sein. Das für die Herstellung von Elutionsmitteln, Standards und Probenlösungen verwendete Wasser muss der Qualität 1 nach EN ISO 3696 entsprechen, entgast und frei von organischen Verunreinigungen sein. Falls bei der Herstellung von Standardlösungen Produkte mit einer angegebenen Reinheit von weniger als 99 % verwendet werden, sollte eine entsprechende Korrektur erfolgen, um exakt die geforderte Konzentration in der Lösung zu erhalten.

Wenn Zweifel an der Reinheit des Standards bestehen, ist es notwendig, diese zu bestimmen.

ANMERKUNG Für diese Bestimmung kann ein titrimetrisches Verfahren verwendet werden. Siehe Anhang B für ein allgemeines Verfahren unter Anwendung eines Titrierautomaten. Manuelle Titration kann auch ausreichend sein.

6.2 Natriumchloridlösung, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$.

4 g NaOH in Form von Plätzchen werden in einem 1 l-Messkolben in Wasser (6.1) gelöst. Die Lösung wird bis zur Marke aufgefüllt und homogenisiert.

Die Aufnahme von CO₂ aus der Luft sollte sorgfältig vermieden werden. Andernfalls kann die Auflösung der Chelatbildner (siehe 6.6, 6.7 und 6.8) unvollständig sein.

6.3 Salzsäurelösung, $c(\text{HCl}) = 1,0 \text{ mol/l}$.

88 ml Salzsäure (Massenanteil 35 % HCl) werden mit Wasser auf 1 000 ml verdünnt.

6.4 Salzsäurelösung, $c(\text{HCl}) = 0,1 \text{ mol/l}$.

50 ml Salzsäure mit einer Konzentration von 1,0 mol/l (6.3) werden mit Wasser auf 500 ml verdünnt.

6.5 Eisennitratlösung, $\rho(\text{Fe}) = 1\,050 \text{ mg/l}$.

0,759 4 g Eisennitrat-9-hydrat ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) werden in 100 ml Wasser gelöst. Es wird überprüft (zum Beispiel mittels AAS), ob die Fe-Konzentration in dieser Lösung ($1\,050 \pm 30$) mg/l beträgt.

ANMERKUNG Da $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ hygroskopisch ist, wird es als Lösung von bekannter Konzentration hinzugefügt.

6.6 Fe-[o,o] EDDHA-Lösung, $\rho(\text{Fe}) = 100 \text{ mg/l}$.

Je nach Verfügbarkeit können entweder die Verfahren 6.6.1 oder 6.6.2 verwendet werden, um die Standardstammlösung herzustellen.

6.6.1 Herstellung aus Fe-[o,o] EDDHA.

5/P g (wobei P die Reinheit des festen Standards in Prozent von Fe chelatiert ist) werden in 50 ml Wasser (6.1) in einem 100-ml-Becherglas gelöst und das Volumen wird in einem Messkolben mit Wasser auf 500 ml aufgefüllt. Der auf diese Weise erhaltene Standard darf im Dunkeln bis zu einem Jahr aufbewahrt werden.

6.6.2 Herstellung aus [o,o] EDDHA.

0,322 1 g (siehe 6.1) Ethylendiamin-N,N'-di[(*ortho*-hydroxyphenyl)essigsäure] werden in einem 500-ml-Becherglas in 350 ml Wasser (6.1) und 27 ml NaOH (6.2) gelöst. 50 ml der Fe-Lösung (6.5) werden zur Chelatbildner-Lösung hinzugegeben und diese wird für etwa 5 min gerührt.

Der pH-Wert der Lösung wird mit NaOH-Lösung (6.2) auf 7,0 eingestellt. Die Lösung wird über Nacht im Dunkeln stehengelassen, damit der Überschuss an Fe als Oxid ausfallen kann. Die Lösung wird quantitativ durch ein Cellulosefilter filtriert und das Volumen wird in einem Messkolben mit Wasser (6.1) auf 500 ml aufgefüllt. Der auf diese Weise erhaltene Standard darf im Dunkeln bis zu einem Jahr aufbewahrt werden.

6.7 Fe-[o,o] EDDHMA-Lösung, $\rho(\text{Fe}) = 100 \text{ mg/l}$.

In einem 500-ml-Becherglas werden 0,347 1 g (siehe 6.1) Ethylendiamin-N,N'-di[(*ortho*-hydroxy-*para*-methylphenyl)essigsäure] [das *para*-methylisomer von [o,o] EDDHMA, (siehe Anmerkung 1 in Abschnitt 1)] in 350 ml Wasser (6.1) und 27 ml NaOH (6.2) gelöst. 50 ml der Fe-Lösung (6.5) werden zur Chelatbildner-Lösung hinzugegeben und diese wird für etwa 5 min gerührt.

Der pH-Wert der Lösung wird mit NaOH-Lösung (6.2) auf 7,0 eingestellt. Anschließend wird die Lösung über Nacht im Dunkeln stehengelassen, damit der Überschuss an Fe als Oxid ausfallen kann. Die Lösung wird quantitativ durch ein Cellulosefilter filtriert und das Volumen in einem Messkolben mit Wasser (6.1) auf 500 ml aufgefüllt. Der auf diese Weise erhaltene Standard darf im Dunkeln bis zu einem Jahr aufbewahrt werden.

6.8 Fe-HBED-Lösung, $\rho(\text{Fe}) = 100 \text{ mg/l}$.

In einem 500-ml-Becherglas werden 0,347 1 g (siehe 6.1) N,N'-Bis(2-hydroxybenzyl)-ethylendiamin-N,N'-diessigsäure (HBED) oder 0,379 7 g, wenn HBED-HCl verwendet wird, in 350 ml Wasser (6.1) und 27 ml NaOH (6.2) gelöst. 50 ml der Fe-Lösung (6.5) werden zur Chelatbildner-Lösung hinzugegeben und diese wird für etwa 5 min gerührt.

Der pH-Wert der Lösung wird mit HCl-Lösung (6.4) oder mit NaOH-Lösung (6.2) auf 5,0 eingestellt. Anschließend wird die Lösung über Nacht im Dunkeln stengelassen, damit der Überschuss an Fe als Oxid ausfallen kann. Die Lösung wird quantitativ durch ein Cellulosefilter filtriert und das Volumen in einem Messkolben mit Wasser (6.1) auf 500 ml aufgefüllt. Der auf diese Weise erhaltene Standard darf im Dunkeln bis zu einem Jahr aufbewahrt werden.

6.9 Elutionsmittel für die Bestimmung.

20 ml TBAOH (Massenanteil 40 % Tetrabutylammoniumhydroxid-Lösung in Wasser) werden zu 600 ml Wasser (6.1) gegeben. Der pH-Wert wird mit Salzsäurelösung (6.3 und 6.4) auf 6,0 eingestellt. 300 ml Acetonitril (HPLC-Reinheitsgrad) werden hinzugefügt und das Volumen wird in einem 1-l-Messkolben mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Die Lösung wird durch ein 0,2-µm-Membranfilter (7.4 b)) filtriert und entgast.

TBACl oder TBABr dürfen verwendet werden, vorausgesetzt, dass der pH-Wert mit NaOH oder HCl auf 6,0 eingestellt ist.

7 Geräte

Übliche Laborausrüstung, Glasgeräte und Folgendes:

7.1 Magnetrührer.

7.2 Chromatograph, ausgerüstet mit:

- a) einer isokratischen Pumpe, die das Elutionsmittel mit einer Durchflussrate von 1,5 ml/min befördert;
- b) einem Injektionsventil mit einer 20-µl-Injektionsschleife;
- c) einer C-18-Säule; Innendurchmesser: 3,9 mm; Säulenlänge: 150 mm; dp = 5 µm¹;
- d) einer C-18-Vorsäule (wird empfohlen);
- e) einem UV/VIS-Detektor mit einem 280-nm-Filter;
- f) einem Integrator.

7.3 Analysenwaage, mit einer Fehlergrenze von ± 0,1 mg.

7.4 Membranfilter, dazu gehören:

- a) gegen wässrige Lösungen beständige Mikromembranfilter mit einer Porenweite von 0,45 µm;
- b) gegen organische Lösungen beständige Mikromembranfilter (z. B. Polyamid-66-Mikromembranfilter), mit einer Porenweite von 0,2 µm.

8 Probenahme und Probenvorbereitung

Die Probenahme ist nicht Bestandteil des in diesem Dokument festgelegten Verfahrens. Ein empfohlenes Probenahmeverfahren ist in EN 1482-1 angegeben.

1) SYMMETRY™ C18, von WATERS, LiChroCART® Purospher® RP-18, von MERCK oder eine gleichwertige Säule sind Beispiele für geeignete handelsübliche Produkte. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieser Europäischen Norm und bedeutet keine Anerkennung dieser genannten Produkte durch CEN.

Die Vorbereitung der Probe muss nach EN 1482-2 erfolgen.

Zum Zerkleinern von Proben mit einem hohen Gehalt an Chelatbildnern sollte keine Hochgeschwindigkeits-Labormühle verwendet werden. Zweckmäßiger ist es, die Probe bis auf eine Teilchengröße unter 1 mm zu vermahlen.

9 Durchführung

9.1 Herstellung der Probenlösung für Eisenchelate

In ein 250-ml-Becherglas werden 200 mg Eisenchelat auf 0,1 mg eingewogen. 200 ml Wasser (6.1) werden hinzugefügt. Unter Anwendung eines Magnetrührers ist 1 h zu rühren. Die Lösung wird quantitativ in einen 250-ml-Messkolben überführt. Der Kolben ist bis zur Marke mit Wasser aufzufüllen und der Inhalt zu homogenisieren.

Für Proben, bei denen mehr als 5 % chelatisiertes Fe deklariert werden, wird ein 500-ml-Messkolben angewendet.

Bei flüssigen Proben wird eine Menge eingewogen, die 200 mg Feststoff entspricht.

9.2 Herstellung der Probenlösung für andere Spurennährstoff-Chelate

In ein 250 ml-Becherglas wird 1 g des Chelats auf 0,1 mg eingewogen. 200 ml Wasser (6.1) werden hinzugefügt. Unter Anwendung eines Magnetrührers wird 1 h gerührt. Die Lösung wird quantitativ in einen 250-ml-Messkolben überführt. Der Kolben wird bis zur Marke mit Wasser (6.1) aufgefüllt und der Inhalt wird homogenisiert. Die Lösung wird durch ein Papierfilter filtriert. In ein 50 ml-Becherglas werden 20 ml der Lösung pipettiert. 10 ml der Eisen(III)-Lösung (6.5), werden hinzugefügt, homogenisiert und dann 15 min stehen gelassen. Der pH-Wert wird mit Natriumchloridlösung (6.2) auf $9,0 \pm 0,1$ eingestellt und es wird für weitere 15 min stehen gelassen. Die Lösung wird quantitativ in einen 100-ml-Messkolben überführt. Es wird bis zur Marke mit Wasser (6.1) aufgefüllt und homogenisiert.

Für Proben, bei denen mehr als 5 % chelatisierte Metalle deklariert werden, wird im ersten Schritt ein 500 ml-Messkolben verwendet.

Bei flüssigen Proben wird eine Menge eingewogen, die 200 mg Feststoff entspricht.

9.3 Herstellung der Kalibrierlösungen

Ein entsprechendes Volumen von V ml (siehe Tabelle 1) der Standardlösung von Fe-[o,o] EDDHA (6.6) oder Fe[o,o] EDDHMA (6.7) oder Fe-HBED (6.8) wird in sechs 100 ml-Messkolben pipettiert. Das Volumen wird bis zur Marke mit Wasser (6.1) aufgefüllt und homogenisiert.

Tabelle 1 — Zusammensetzung der Kalibrierlösungen

Lösung	V ml	Fe-Konzentration im <i>rac</i>-Chelat mg/l	Fe-Konzentration im <i>Meso</i>-Chelat mg/l	Gesamt Fe- Konzentration im Chelat mg/l
1	5	2,5	2,5	5,0
2	10	5,0	5,0	10,0
3	20	10,0	10,0	20,0
4	30	15,0	15,0	30,0
5	40	20,0	20,0	40,0
6	50	25,0	25,0	50,0

ANMERKUNG 1 Da die Standardlösungen der Chelate zu jeweils 50 % aus *Meso*- und 50 % *dl*-Racemformen der optischen Isomere bestehen sollten, ist die Gesamtkonzentration der Eisenchelate gleich der Summe der in Tabelle 1 angegebenen Konzentrationen.

ANMERKUNG 2 Wenn HBED keine optischen Isomere aufweist, können die Gesamtkonzentrationen angewendet werden.

9.4 Chromatographische Analyse

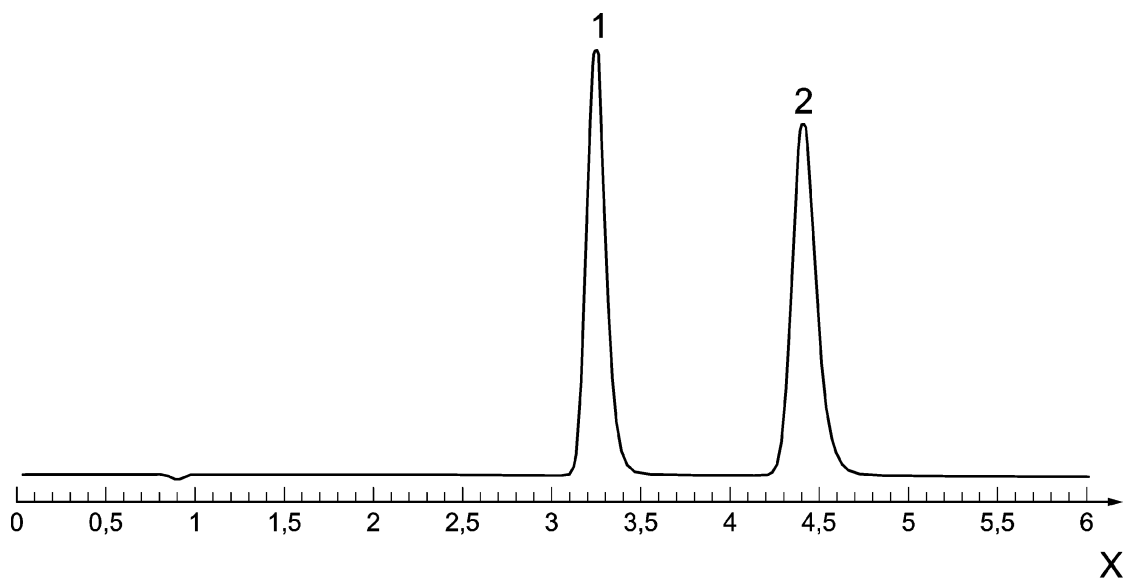
Unmittelbar vor der Injektion müssen alle Lösungen durch ein 0,45 µm-Membranfilter (7.4 a)) filtriert werden. Die Kalibrierlösungen (siehe 9.3) werden in das chromatographische System (7.2) injiziert. Die Retentionszeiten und die Peakflächen der beiden Isomere (*Meso*- und *dl*-Racemform) von Fe-[*o,o*] EDDHA oder Fe[*o,o*] EDDHMA oder die Fe-HBED-Peaks werden für alle Lösungen ermittelt. Für jedes betreffende Eisenchelat werden aus den Werten der Peakflächen der Kalibrierlösungen gegen die Eisenkonzentration (mg/l) in Form des entsprechenden Isomers des Chelatbildners zwei Kalibrierkurven ermittelt. Für Fe-HBED ist nur eine Kurve erforderlich. Siehe Bilder 1 bis 4.

ANMERKUNG Siehe ANMERKUNG 1 in 9.3.

Ein statistisch signifikanter negativer Schnittpunkt kann durch Verunreinigung der Säule mit Eisenoxidniederschlag hervorgerufen werden. In diesem Fall sollte die Säule ausgetauscht oder gereinigt werden.

Die Probenlösung (siehe 9.1 oder 9.2) wird injiziert. Der Chelatbildner wird mit Hilfe der Retentionszeit der erhaltenen Peaks (siehe Bilder 2, 3 und 4) identifiziert. Die Peakflächen der Isomere werden für jeden Chelatbildner ermittelt. Die Konzentration des durch jedes optische Isomer chelatisierten Eisens (mg Fe/l) wird unter Anwendung der entsprechenden Kalibrierkurve bestimmt.

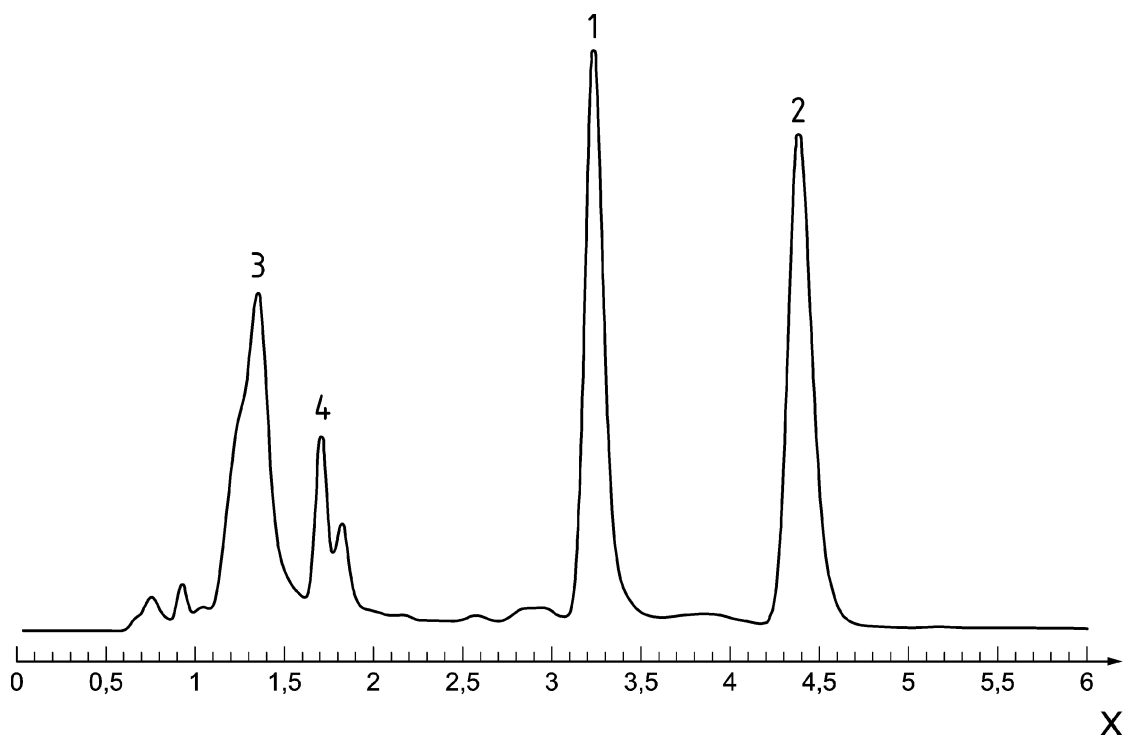
In Bild 3 ist das typische Chromatogramm eines handelsüblichen Produktes dargestellt, das Fe-[*o,o*] EDDHMA enthält. Außer den Isomeren in *Meso*- und *dl*-Racemform von *Para*-methyl *ortho*-hydroxyl Fe-[*o,o*] EDDHMA werden zwei weitere Isomere gefunden, die anderen Methyl-Stellungsisomeren zuzuordnen sind (Peak 3 und 4). Da sie eine ähnliche Stabilität haben wie die *Para*-Methyl-Isomere (siehe ANMERKUNG 1 in Abschnitt 1), sollte ihre Fläche zu der nächstgelegenen Peakfläche (1 oder 2) addiert werden.



Legende

- 1 *dl-racemische* Fe-[*o,o*] EDDHA
- 2 *Meso*-Fe-[*o,o*] EDDHA
- X Zeit in Minuten

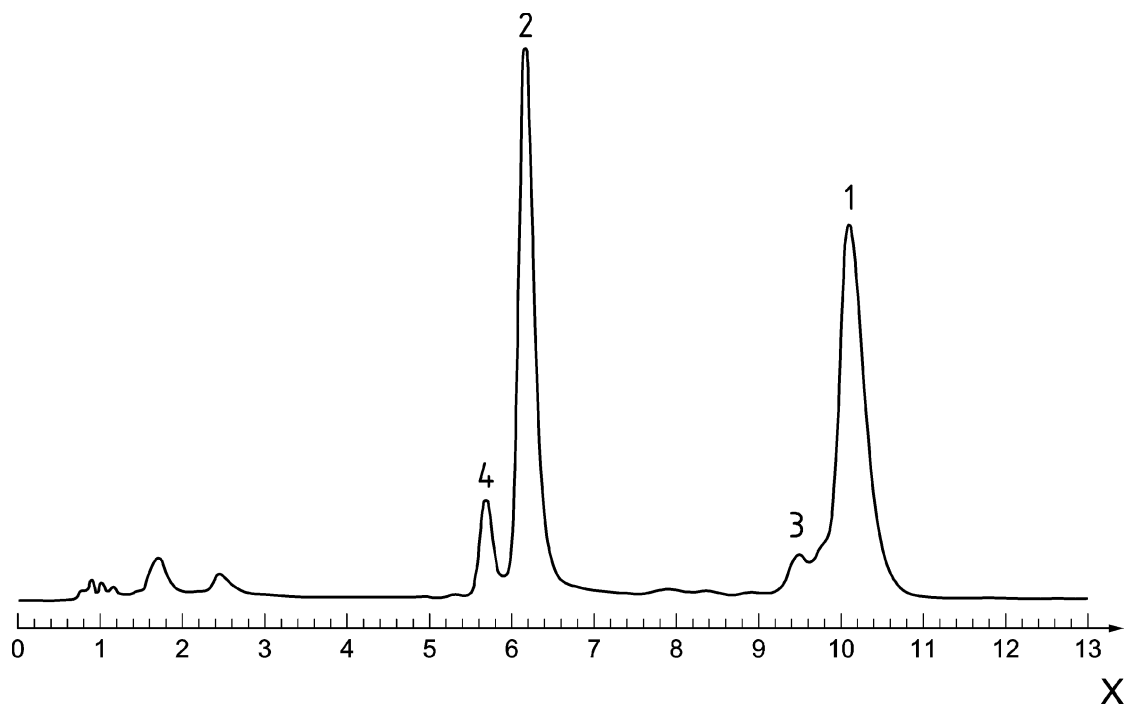
Bild 1— Typisches Chromatogramm einer Fe-[*o,o*] EDDHA Standardlösung mit einer Fe-Konzentration von 25 mg/l



Legende

- 1 *dl-racemische* Fe-[*o,o*] EDDHA
- 2 *Meso*-Fe-[*o,o*] EDDHA
- 3 *Ortho*-hydroxy *para*-hydroxy-Isomer
- 4 *Para*-hydroxy *para*-hydroxy-Isomer Nebenprodukt
- X Zeit in Minuten

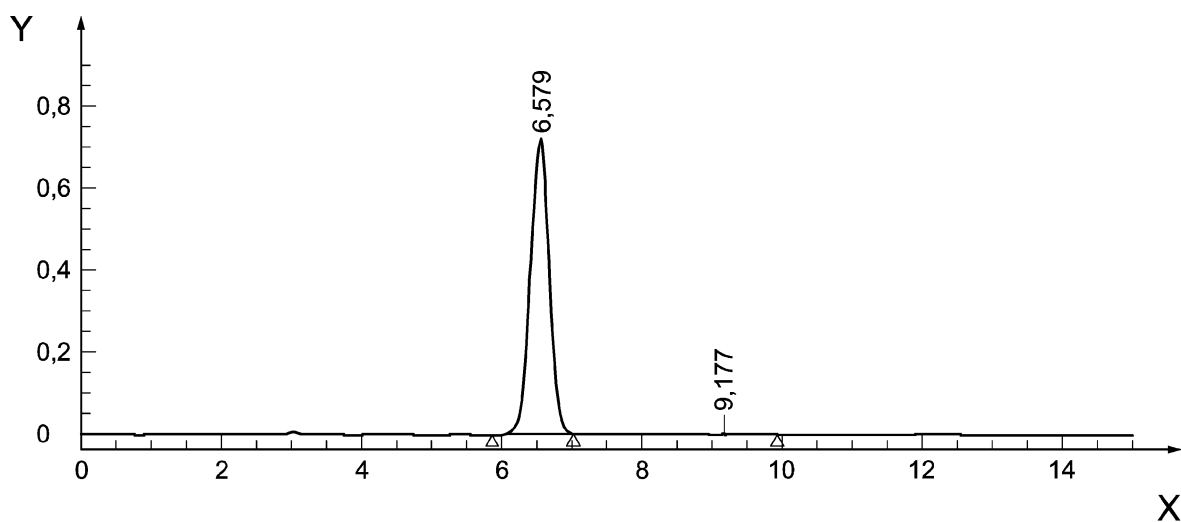
Bild 2 — Typisches Chromatogramm eines handelsüblichen Fe-[*o,o*] EDDHA-Produkts



Legende

- 1 *dl*-racemische Fe-[*o,o*] EDDHMA
- 2 *Meso*-Fe-[*o,o*] EDDHMA
- 3 und 4 Methyl-Stellungsisomere von Fe-[*o,o*] EDDHMA
- X Zeit in Minuten

Bild 3 — Typisches Chromatogramm eines handelsüblichen Fe-[*o,o*] EDDHMA-Produkts

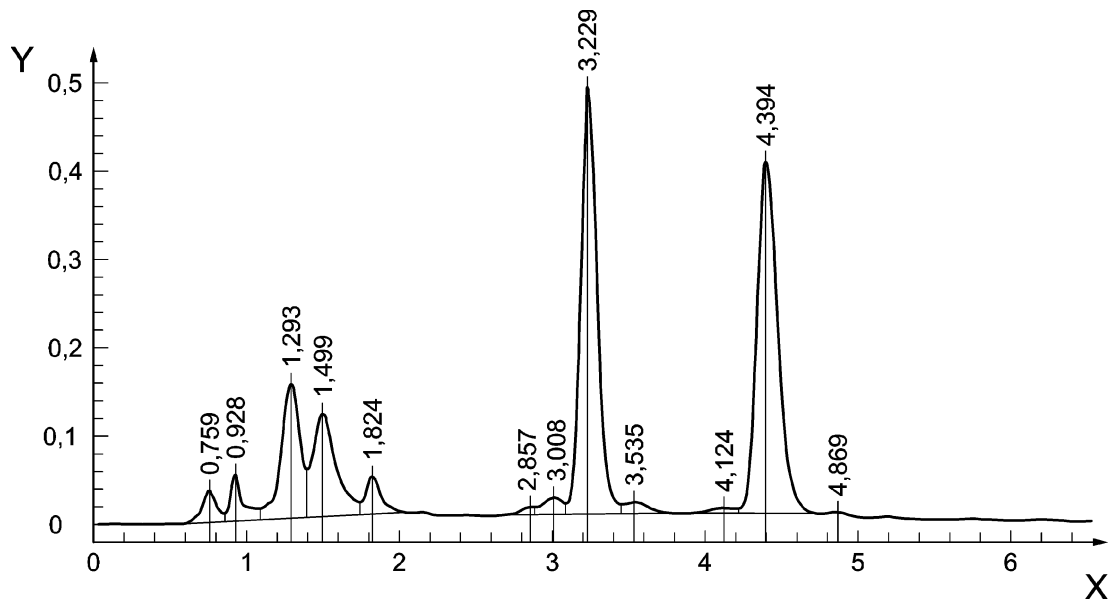


Legende

- X Zeit in Minuten
- Y Absorptionseinheiten

Bild 4 — Typisches Chromatogramm einer handelsüblichen Fe-HBED-Probe

Wenn eine Überlappung auftritt, sollte bei der Integration eine Korrektur der Basislinie erfolgen (siehe Bild 5).



Legende

X Zeit in Minuten

Y Absorptionseinheiten

Bild 5 — Beispiel für die Korrektur der Basislinie

10 Angabe der Ergebnisse (Fe in Fe-Chelaten)

10.1 Durch [o,o] EDDHA oder [o,o] EDDHMA chelatisiertes Fe in Fe-[o,o] EDDHA oder Fe-[o,o] EDDHMA-Chelaten

Der Massenanteil in Prozent, w_{Fe} von durch [o,o] EDDHA oder [o,o] EDDHMA chelatisiertem Fe im Düngemittel wird nach Gleichung (1) berechnet.

$$w_{\text{Fe}}(\%) = \frac{c_{\text{rac}} + c_{\text{m}}}{m} \times V \times 10^{-4} \quad (1)$$

Dabei ist/sind

c_{rac} und c_{m}	die Fe-Konzentrationen des durch die Isomere in Racem- oder <i>Meso</i> form chelatisierten Eisens, bestimmt aus den Kalibrierkurven, in Milligramm je Liter;
m	die Masse der für die Analyse eingesetzten Probe, in Gramm;
V	das Volumen der Probenlösung (9.1), in Milliliter.

Wenn die Probe sowohl Fe-[o,o] EDDHA als auch Fe-[o,o] EDDHMA enthält, setzt sich der Wert für das chelatisierte Eisen aus der Summe der für jeden Chelatbildner erhaltenen Ergebnisse zusammen.

10.2 Durch HBED chelatisiertes Fe in Fe-HBED-Chelaten

10.2.1 Allgemeines

Der Massenanteil in Prozent, w_{Fe} von durch HBED chelatisiertem Fe im Düngemittel wird nach Gleichung (2) berechnet.

$$w_{\text{Fe}}(\%) = \frac{c}{m} \times V \times 10^{-4} \quad (2)$$

Dabei ist/sind

- | | |
|-----|--|
| c | die Fe-Konzentrationen des durch HBED chelatisierten Eisens, bestimmt aus den Kalibrierkurven, in Milligramm je Liter; |
| m | die Masse der für die Analyse eingesetzten Probe, in Gramm; |
| V | das Volumen der Probenlösung (9.1), in Milliliter. |

10.2.2 Massenanteil des Chelatbildners in Düngemitteln, die [o,o] EDDHA oder [o,o] EDDHMA enthalten

Der Massenanteil des Chelatbildners ([o,o] EDDHA oder [o,o] EDDHMA), W_L , im Düngemittel in Prozent, angegeben als freie Säure, wird nach Gleichung (3) berechnet.

$$W_L(\%) = \frac{(c_{\text{rac}} + c_{\text{m}})}{m} \times V \times \left(\frac{M_w}{55,847} \right) \times 5 \times 10^{-4} \quad (3)$$

Dabei ist

- | | |
|-------------------------------------|--|
| c_{rac} und c_{m} | die Fe-Konzentrationen des durch die Isomere in Racem- oder <i>Meso</i> form chelatisierten Eisens, das nach der Derivatisierung gebildet wurde, bestimmt aus den Kalibrierkurven, in Milligramm je Liter; |
| M_w | die Molmasse, in Gramm pro Mol, des Chelatbildners in Säureform, die den folgenden Wert hat für [o,o] EDDHA: 360,2, [o,o]EDDHMA: 388,2; |
| V | das Volumen der Ausgangslösung der Probe (9.2), in Milliliter; |
| m | die Masse der für die Analyse eingesetzten Probe, in Gramm. |

10.2.3 Massenanteil des Chelatbildners in Düngemitteln, die HBED enthalten

Der Massenanteil des Chelatbildners(HBED), W_L im Düngemittel in Prozent, angegeben als freie Säure, wird nach Gleichung (4) berechnet.

$$W_L(\%) = \frac{(c)}{m} \times V \times \left(\frac{M_w}{55,847} \right) \times 5 \times 10^{-4} \quad (4)$$

Dabei ist

- | | |
|-----|---|
| c | die Fe-Konzentration des durch HBED chelatisierten Eisens, das nach der Derivatisierung gebildet wurde, bestimmt aus den Kalibrierkurven, in Milligramm je Liter; |
|-----|---|

M_w	die Molmasse, in Gramm je Mol, des Chelatbildners in Säureform, für HBED: 388,2;
V	das Volumen der Ausgangslösung der Probe (9.2), in Milliliter;
m	die Masse der für die Analyse eingesetzten Probe, in Gramm.

11 Präzision

11.1 Ringversuch

Im Jahr 2003 wurde ein Ringversuch mit vierzehn teilnehmenden Laboratorien durchgeführt bei dem sieben unterschiedliche Proben (zwei Standardlösungen, zwei Düngemittel mit [o,o] EDDHMA und drei Düngemittel mit [o,o] EDDHA als Chelatbildner) untersucht wurden. Der Versuch ergab die in CEN/TR 15106 angeführten und in A.1 zusammengefassten Daten. Die Wiederhol- und Vergleichpräzision wurden nach ISO 5725-2 berechnet.

Im Jahr 2010 wurde ein zweiter Ringversuch durchgeführt, an dem zehn Laboratorien teilnahmen und drei unterschiedliche Proben (eine flüssige Lösung und zwei feste Düngemittel, mit HBED als Chelatbildner) untersucht wurden. Der Versuch ergab die in A.2 zusammengefassten Daten. Die Wiederhol- und Vergleichpräzision wurden nach ISO 5725-2 berechnet.

Im Jahr 2014 wurde ein dritter Ringversuch durchgeführt, an dem dreizehn Laboratorien teilnahmen und der aus zwei Teilen bestand. In Teil A wurden zwei feste Fe-[o,o] EDDHA Proben unter Verwendung von zwei verschiedenen Standards (hergestellt wie in 6.6.1 und in 6.6.2 beschrieben) analysiert. In Teil B wurden zwei feste Proben, die [o,o] EDDHA und HBED chelatisiert mit anderen Metallen als Eisen, enthalten, analysiert. Der Versuch ergab die in A.3 zusammengefassten Daten. Die Wiederhol- und Vergleichpräzision wurden nach ISO 5725-2 berechnet.

Die aus diesen Ringversuchen abgeleiteten Werte sind möglicherweise auf andere Konzentrationsbereiche und Matrices als die in A.1, A.2 und A.3 angegebenen nicht anwendbar.

11.2 Wiederholpräzision

Die absolute Differenz zwischen zwei voneinander unabhängigen Untersuchungsergebnissen, die unter Anwendung desselben Verfahrens an identischem Untersuchungsmaterial im selben Laboratorium durch den selben Bearbeiter mit derselben Geräteausrüstung in kurzen Zeitabständen gewonnen wurde, wird in nicht mehr als 5 % der Fälle die in Tabelle 2 angegebenen Werte für r überschreiten.

11.3 Vergleichpräzision

Die absolute Differenz zwischen zwei voneinander unabhängigen Untersuchungsergebnissen, die unter Anwendung desselben Verfahrens an identischem Untersuchungsmaterial in verschiedenen Laboratorien durch verschiedene Bearbeiter mit verschiedenen Geräteausrüstungen gewonnen wurde, wird in nicht mehr als 5 % der Fälle die in Tabelle 2 angegebenen Werte für R überschreiten.