

DIN EN 17374

ICS 65.120

Einsprüche bis 2019-06-05

Entwurf

**Futtermittel –
Probenahme- und Untersuchungsverfahren –
Bestimmung von anorganischem Arsen in Futtermittel mittels
Anionenaustausch HPLC-ICPMS;
Deutsche und Englische Fassung prEN 17374:2019**

Animal feeding stuffs: Methods of sampling and analysis –
Determination of inorganic arsenic in animal feed by anion-exchange HPLC-ICPMS;
German and English version prEN 17374:2019

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2019-04-05 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

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

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe 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/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe 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, Saatwinkler Damm 42/43, 13627 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 29 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17374:2019) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 327 „Futtermittel — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NEN (Niederlande) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-03-03 AA „Futtermittel“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

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

Futtermittel — Probenahme- und Untersuchungsverfahren — Bestimmung von anorganischem Arsen in Futtermittel mittels Anionenaustausch HPLC-ICPMS

Animal feeding stuffs: Methods of sampling and analysis — Determination of inorganic arsenic in animal feed by anion-exchange HPLC-ICPMS

ICS:

Deskriptoren

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

STD Version 2.9p

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Kurzbeschreibung	4
4 Reagenzien	4
5 Geräte und Ausrüstung	6
6 Probenahme	7
7 Durchführung	7
7.1 Probenvorbereitung	7
7.2 Wasserbadextraktion	7
7.3 Bestimmung des anorganischen Arsens mit HPLC-ICP-MS	8
7.3.1 Allgemeines	8
7.3.2 Vorbereitung des Gerätes	8
7.3.3 Kalibrierung	8
7.3.4 Bestimmung von Proben und Blindwertlösung	8
7.3.5 HPLC-Sequenz	9
7.3.6 Typische HPLC-ICP-MS-Einstellungen	9
7.4 Qualitätskontrolle	9
8 Berechnung	10
8.1 Integration der Peaks	10
8.2 Anorganisches Arsen in den Prüflösungen	10
8.3 Berechnung des anorganischen Arsens in den Proben	10
9 Präzision	10
9.1 Ringversuch	10
9.2 Wiederholpräzision	10
9.3 Vergleichpräzision	11
10 Untersuchungsbericht	11
Anhang A (informativ) Ergebnisse des Ringversuchs	12
Literaturhinweise	14

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17374:2019) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 327 „Futtermittel – Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NEN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wurde im Rahmen eines Normungsauftrages erarbeitet, den die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelszone CEN erteilt haben.

WARNUNG — Das in dieser Norm beschriebene Verfahren erfordert den Einsatz gesundheitsgefährdender Reagenzien. Diese Norm beansprucht nicht, alle damit verbundenen Sicherheitsprobleme zu behandeln. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieser Norm, vor ihrer Anwendung geeignete Maßnahmen für die Sicherheit und den Gesundheitsschutz des Personals zu ergreifen und dafür Sorge zu tragen, dass behördliche und gesetzliche Regelungen eingehalten werden.

1 Anwendungsbereich

Diese Norm beschreibt ein Verfahren zur Bestimmung von anorganischem Arsen in Futtermitteln durch Anionenaustausch-HPLC-ICP-MS nach Wasserbadextraktion.

Dieses Verfahren wurde im Bereich von 0,149 mg/kg bis 9,69 mg/kg für die folgenden Futtermittelmatrixen erfolgreich geprüft: Reismehl, Seealgenmehl, Fischmehl, Grasmehl, Alleinfuttermittel (auf Basis von Meeresprodukten), Alleinfuttermittel (auf Getreidebasis) und eine synthetische Lösung.

ANMERKUNG Mineralische Futtermittelmatrixen fallen nicht in den Anwendungsbereich dieses Verfahrens, da bei solchen Matrixen die Bestimmung des Gesamtarsengehalts besser geeignet ist.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. 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 ISO 3696, *Wasser für analytische Laborzwecke — Spezifikation und Prüfverfahren (ISO 3696)*

EN ISO 6497, *Futtermittel — Probenahme (ISO 6497)*

EN ISO 6498, *Futtermittel — Leitfaden für die Probenvorbereitung (ISO 6498)*

3 Kurzbeschreibung

Diese Norm beschreibt ein Verfahren zur Bestimmung von anorganischem Arsen in Futtermitteln. Anorganisches Arsen besteht aus Arsenit, As(III), und Arsenat, As(V). Eine repräsentative Prüfmenge der Probe wird mit verdünnter Salpetersäure und Wasserstoffperoxidlösung in einem beheizten Wasserbad behandelt. Dabei werden die Arsenspezies in Lösung extrahiert und As(III) zu As(V) oxidiert. Das anorganische Arsen wird zur Bestimmung des Massenanteils selektiv von den anderen Arsenverbindungen mit der Anionenaustausch-HPLC (Hochleistungs-Flüssigchromatographie, en: high performance liquid chromatography) getrennt. Diese ist online-gekoppelt mit dem elementspezifischen Detektor des ICP-MS (Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma, en: inductively coupled plasma mass spectrometry). Die quantitative Bestimmung der Menge an anorganischem Arsen erfolgt durch externe Kalibrierung mit Lösemittelstandards.

WARNUNG — Das in dieser Norm beschriebene Verfahren erfordert den Einsatz gesundheitsgefährdender Reagenzien. Diese Norm beansprucht nicht, alle damit verbundenen Sicherheitsprobleme zu behandeln. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieser Norm, vor ihrer Anwendung geeignete Maßnahmen für die Sicherheit und den Gesundheitsschutz des Personals zu ergreifen und dafür Sorge zu tragen, dass behördliche und gesetzliche Regelungen eingehalten werden.

4 Reagenzien

Es werden nur Reagenzien von anerkannter Analysenreinheit und Wasser der Qualität 1 nach ISO 3696 verwendet.

4.1 Allgemeines

Die Konzentration von Arsenspezies in den verwendeten Reagenzien und dem Wasser muss hinreichend gering sein, um die Ergebnisse der Bestimmung nicht zu beeinflussen. Die Reagenzien sollten soweit möglich mindestens analysenrein (p.a.-Qualität) sein. Zur Vermeidung von Kontaminationen während der

Vorbereitungs- und Messschritte sollten spezielle Laboreinrichtungen (z. B. Verwendung von Sicherheitswerkbänken oder vergleichbaren Reinraumeinrichtungen) verwendet werden.

ANMERKUNG Bei der Anwendung eines Verfahrens mit hoher Empfindlichkeit wie der ICP-MS, ist eine Kontrolle der Blindwerte von Wasser, Säure und anderen Reagenzien von großer Bedeutung. Im Allgemeinen eignen sich hochreines Wasser der Qualität 1 nach ISO 3696 (d. h. mit einer elektrischen Leitfähigkeit von weniger als 0,1 $\mu\text{S}/\text{cm}$ bei 25 °C) und Säure von hoher Reinheit, z. B. mittels Sub-Boiling-Destillation (Destillation unterhalb des Siedepunktes) gereinigt.

4.2 Salpetersäure (HNO_3), konzentriert, $\geq 65\%$ (Massenanteil), Massenkonzentration von ungefähr $\rho(\text{HNO}_3)$ 1,4 g/ml.

Es wird nur Salpetersäure von hoher Reinheit verwendet oder die Salpetersäure wird zur Vermeidung möglicher Kontaminationen durch Sub-Boiling-Destillation gereinigt.

4.3 Wasserstoffperoxid, H_2O_2 von nicht weniger als 30 % (Massenanteil)

Zur Vermeidung möglicher Kontaminationen ist hohe Reinheit wichtig. Handelsübliches Wasserstoffperoxid für die Analyse sollte vor der Verwendung auf Arsenkontaminationen geprüft werden.

4.4 Extraktionslösung 1, 0,1 mol/l HNO_3 in 3 % (V/V) H_2O_2

In einen 1 000-ml-Messkolben werden 800 ml Wasser H_2O gegossen, dann 6,5 ml Salpetersäure HNO_3 (4.2) und anschließend 100 ml Wasserstoffperoxid H_2O_2 (4.3) hinzugegeben. Der Kolben wird mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Die Lösung sollte am Tag der Verwendung frisch hergestellt werden.

Das für die Analyse erforderliche Gesamtvolumen wird abgeschätzt und nur diese Menge hergestellt.

4.5 Extraktionslösung 2, 0,2 mol/l HNO_3 in 6 % H_2O_2

In einen 100-ml-Messkolben werden 70 ml Wasser H_2O gegossen, dann 1,3 ml Salpetersäure HNO_3 (4.2) und anschließend 20 ml Wasserstoffperoxid H_2O_2 (4.3) hinzugegeben. Der Kolben wird mit Wasser bis zur 100-ml-Marke aufgefüllt. Die Lösung sollte am Tag der Verwendung frisch hergestellt werden.

Das für die Analyse erforderliche Gesamtvolumen wird abgeschätzt und nur diese Menge hergestellt.

4.6 Ammoniumcarbonat, $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, Massenanteil $w \geq 99,999\%$, zur Herstellung der mobilen Phasenlösung.

4.7 Ammoniakwasser, $(\text{NH}_3(\text{aq}))$, $w \geq 25\%$, für die Einstellung des pH-Wertes der mobilen Phase.

4.8 Methanol, (CH_3OH) , HPLC-Reinheit, zur Herstellung der mobilen Phase.

4.9 Mobile Phase, z. B. 50 mmol/l Ammoniumcarbonat in 3%igem Methanol mit einem pH-Wert von 10,3

Es werden z. B. 4,80 g Ammoniumcarbonat (4.6) in etwa 800 ml Wasser gelöst. Der pH-Wert wird mit Ammoniakwasser (4.7) auf 10,3 eingestellt, 30 ml Methanol (4.8) werden hinzugefügt und dann wird die Lösung mit Wasser auf 1 000 ml aufgefüllt. Die mobile Phasenlösung wird vor Verwendung durch einen 0,45- μm -Filter filtriert (4.4).

Die optimale Konzentration des Ammoniumcarbonats in der mobilen Phase hängt von der verwendeten analytischen Trennsäule (z. B. Marke, Partikelgröße und Dimensionen) ab. Die geeignete Konzentration des Ammoniumcarbonats liegt im Ermessen des Analytikers und sollte die Kriterien für eine ausreichende Abtrennung des Arsenat-Peaks, wie in 5.10 angegeben, erfüllen.

Methanol wird der mobilen Phase hinzugefügt, um die Signalintensität für Arsen zu verstärken (Kohlenstoff-Verstärkungseffekt, en: carbon enhancement effect [1]). Die Methanolkonzentration für eine maximale Signalintensität hängt vom verwendeten Analysengerät ab und sollte vom Analytiker ermittelt werden.

4.10 Diarsentrioxid, $w(\text{As}_2\text{O}_3) \geq 99,5 \%$, optional.

4.11 Kaliumhydroxidlösung, $\rho(\text{KOH}) = 20 \text{ g}/100 \text{ ml}$, optional.

4.12 Schwefelsäurelösungen, $w(\text{H}_2\text{SO}_4) = 20 \%$ und $w(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1 \%$, optional.

4.13 Phenolphthalein, optional.

4.14 Standardlösungen, mit einer Arsen-Massenkonzentration von 1 000 mg/l.

Die Verwendung von handelsüblichen Arsen-, Arsen(III)- und/oder Arsen(V)-Standards mit einer Massenkonzentration von 1 000 mg/l wird empfohlen.

Anderenfalls wird wie folgt verfahren: In einem Messkolben werden z. B. 1,320 g Diarsentrioxid (4.10) in 25 ml Kaliumhydroxidlösung (4.11) gelöst, mit 20%iger Schwefelsäurelösung (4.12) unter Zusatz von Phenolphthalein (4.13) als Indikator neutralisiert und mit 1%iger Schwefelsäurelösung (4.12) auf 1 000 ml aufgefüllt.

4.15 Kalibrierlösungen

Eine Reihe von Standardlösungen, einschließlich einer Blindwertlösung, die den linearen Konzentrationsbereich des zu bestimmenden Analyten abdeckt, wird durch Verdünnen der Analytstamm-lösung (4.14) mit der Extraktionslösung (4.4) hergestellt. Die Herstellung der Kalibrierlösungen muss im letzten Verdünnungsschritt mit der Extraktionslösung (4.4) erfolgen. Dadurch wird die Reduktion von Arsenat zu Arsenit verhindert. Vor der Analyse wird ein Aliquot der Kalibrierlösungen in HPLC-Fläschchen umgefüllt.

Die quantitative Oxidation von Arsenit zu Arsenat in den Standardlösungen sollte überprüft werden (z. B. durch visuelle Kontrolle des Chromatogramms, indem auf einen zusätzlichen Peak oder eine verminderte Intensität des Arsenatpeaks geachtet wird).

ANMERKUNG Bei der Herstellung des Standards in der Extraktionslösung 1 (4.4) wird sämtliches Arsenit vollständig zu Arsenat oxidiert.

4.16 Lösung zur Überprüfung der chromatographischen Trennung, die die organischen Arsenverbindungen (z. B. 10 µg/l) Monomethylarsensäure (MMA), Dimethylarsinsäure (DMA) und Arsenobetain (AB) sowie auch Arsenat (z. B. 10 µg/l) und Chlorid (z. B. 100 mg/l) enthält.

5 Geräte und Ausrüstung

5.1 Allgemeines

Um die Kontamination zu minimieren, müssen alle Geräte und jegliche Ausrüstung, die in direkten Kontakt mit der Probe und den Lösungen kommen, sorgfältig vorbehandelt werden. Es wird empfohlen, keine Glasgeräte zu verwenden, da diese Kontaminationen mit Arsenat verursachen können [2].

WARNUNG — Einige Autosampler-Systeme verwenden Spritzen aus Glas. In diesem Fall kann nur auf Kontamination geprüft und diese minimiert werden.

5.2 Labormühle, zum Mahlen bis zu einer Partikelgröße kleiner als 0,3 mm geeignet.

5.3 Analysenwaage, Fehlergrenze von 1 mg.

5.4 Filtriervorrichtung, zum Filtrieren der mobilen Phase, Porengröße 0,45 µm.

5.5 Wasserbad, Programmierung der Temperatur auf 90° C möglich.

5.6 Zentrifuge, für mindestens 4 000 min⁻¹ (2 010 g).

5.7 Einweg-Spritzenfilter (0,45 µm) oder HPLC-Fläschchen mit Filtern, verträglich mit sauren Lösungen zum Filtrieren der Prüflösungen vor der Analyse.

5.8 Messkolben aus Kunststoff, zur Herstellung der mobilen Phase und Kalibrierlösungen.

ANMERKUNG Wenn Kalibrierstandards durch Wägen hergestellt werden, sind Kunststoffprodukte ohne Markierung geeignet.

5.9 Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC)

5.10 Starke Anionenaustauscher-Säule (SAX), geeignet für die selektive Trennung von Arsenat von anderen Arsenverbindungen, die in den Probenextrakten vorhanden sind.

Üblicherweise beträgt die akzeptable Mindestretentionszeit für den Analyten das Doppelte der Retentionszeit des Totvolumens der Säule. Ferner sollte der im Chromatogramm dem Analyten nächstliegende Peak durch mindestens eine vollständige Peakbreite bei 10 % der Peakhöhe des Analyten vom Peak des Analyten getrennt sein. Es wird empfohlen, die ausreichende Trennung des Peaks des Analyten mit einer Lösung von organischen Arsenverbindungen (z. B. Monomethylarsensäure (MMA), Dimethylarsinsäure (DMA) und Arsenobetain (AB)) und Arsenat zu überprüfen. Es ist sicherzustellen, dass der HPLC-Lauf ausreichend lang ist, damit Chlorid (m/z 35) und jegliche Arsenverbindungen mit längeren Retentionszeiten als Arsenat vor der Injektion der nächsten Probe von der Säule eluiert werden. Auch sollte sichergestellt werden, dass die Arsenat- und Chloridpeaks nicht gleichzeitig eluieren, um Interferenzen mit dem Polyatomion ⁴⁰Ar³⁵Cl⁺ im Massenspektrometer zu vermeiden.

Zur Verlängerung der Lebensdauer der analytischen Trennsäule wird eine Vorsäule verwendet.

5.11 Massenspektrometer mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS)

5.12 Argongas, Reinheit ≥ 99,99 %.

6 Probenahme

Probenahme und Vorbereitung der Untersuchungsprobe sind nicht Teil dieses Verfahrens. Ein empfohlenes Probenahmeverfahren und ein Verfahren zur Probenvorbereitung finden sich in EN ISO 6497 und EN ISO 6498.

7 Durchführung

7.1 Probenvorbereitung

Die Probe wird mithilfe geeigneter Geräte und unter Vermeidung übermäßiger Erwärmung homogenisiert.

7.2 Wasserbadextraktion

Eine Prüfmenge von etwa 0,2 g bis 0,5 g einer Untersuchungsprobe, die dem Trockengewicht entspricht, wird auf ein Milligramm in ein Röhrchen eingewogen und auf 10,00 ml mit der Extraktionslösung 1 (4.4) aufgefüllt. Eine Reagenzienblindwertprobe wird ebenfalls angesetzt. Die Röhrchen müssen mit einem