

DIN EN 17706



ICS 65.080

Einsprüche bis 2023-08-02
Vorgesehen als Ersatz für
DIN CEN/TS 17706:2022-06

Entwurf

**Pflanzen-Biostimulanzien –
Bestimmung von anorganischem Arsen;
Deutsche und Englische Fassung prEN 17706:2023**

Plant biostimulants –
Determination of inorganic arsenic;
German and English version prEN 17706:2023

Biostimulants des végétaux –
Dosage de l'arsenic inorganique;
Version allemande et anglaise prEN 17706:2023

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2023-06-02 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 oder Am DIN-Platz, 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 44 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17706:2023) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 455 „Pflanzen-Biostimulanzien“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-03-06 AA „Pflanzen-Biostimulanzien“ 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.

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

ISO 5725-2 siehe DIN ISO 5725-2

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

Änderungen

Gegenüber DIN CEN/TS 17706:2022-06 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Änderung der Veröffentlichungsform von einer Technischen Spezifikation zu einer Europäischen Norm;
- b) Ergänzung von Anmerkungen zur Präzisierung von 5.12, 6.5 und 8.4.2.1;
- c) Ergänzung des informativen Anhangs B mit Ringversuchsdaten zur Wiederhol- und Vergleichpräzision des Verfahrens;
- d) Ergänzung des informativen Anhangs ZA zum Zusammenhang mit der Verordnung für EU-Düngeprodukte.

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 Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens*

– *Entwurf* –

E DIN EN 17706:2023-07

– Leerseite –

Pflanzen-Biostimulanzien – Bestimmung von anorganischem Arsen

Plant biostimulants – Determination of inorganic arsenic

Biostimulants des végétaux – Dosage de l'arsenic inorganique

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Einleitung	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Begriffe	5
4 Kurzbeschreibung	5
5 Reagenzien	6
6 Geräte	8
7 Probenahme	8
8 Durchführung	9
8.1 Probenvorbereitung	9
8.2 Wasserbadextraktion	9
8.3 Herstellung der Kalibrierlösungen	9
8.4 Messung	9
8.4.1 Allgemeine Gerätebedingungen	9
8.4.2 Messung des anorganischen Arsens mit HPLC-ICP/MS	10
9 Berechnung und Angabe der Ergebnisse	12
9.1 Integration der Peaks	12
9.2 Berechnung des anorganischen Arsens in den Proben	12
10 Prüfbericht	12
Anhang A (informativ) Beispiele für typische chromatographische Trennungen	14
Anhang B (informativ) Ergebnisse des Ringversuchs	17
B.1 Ringversuch	17
B.2 Statistische Ergebnisse der Bestimmung von anorganischem Arsen	17
Anhang ZA (informativ) Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und den grundlegenden Anforderungen der abzudeckenden Verordnung (EU) 2019/1009 zur Bereitstellung von EU-Düngeprodukten auf dem Markt	19
Literaturhinweise	20

Bilder

Bild A.1 — Probe eines originalen (natürlichen) Biostimulans (fest), Konzentration des anorganischen Arsens unter der Bestimmungsgrenze (< 0,1 mg/kg)	14
Bild A.2 — Aufgestockte Probe eines Biostimulans (fest), Konzentration des anorganischen Arsens 9,02 mg/kg	15
Bild A.3 — Probe eines originalen (natürlichen) Biostimulans (flüssig), Konzentration des anorganischen Arsens 0,26 mg/kg	16
Bild A.4 — Aufgestockte Probe eines Biostimulans (flüssig), Konzentration des anorganischen Arsens 17,59 mg/kg	16

Tabellen

Tabelle 1 — Beispiel für mögliche Einstellungen einer HPLC-ICP-MS-Geräteausstattung	11
Tabelle B.1 — Für den Ringversuch ausgewählte Proben	17
Tabelle B.2 — Bestimmung von anorganischem Arsen	18
Tabelle ZA.1 — Zusammenhang zwischen dieser Europäischen Norm und der Verordnung (EU) 2019/1009	19

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17706:2023) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 455 „Pflanzen-Biostimulanzien“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird CEN/TS 17706:2022 ersetzen.

Dieses Dokument wurde im Rahmen eines Normungsauftrages erarbeitet, den die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelsassoziation CEN erteilt haben, und unterstützt grundlegende Anforderungen der EU-Richtlinie(n)/Verordnung(en).

Zum Zusammenhang mit EU-Richtlinie(n)/Verordnung(en) siehe informativen Anhang ZA, der Bestandteil dieses Dokuments ist.

Einleitung

Dieses Dokument wurde von den Experten des CEN/TC 455 „Pflanzen-Biostimulanzien“ erarbeitet. Das Europäische Komitee für Normung (CEN) wurde von der Europäischen Kommission (EC) beauftragt, Europäische Normen bzw. europäische Normungsergebnisse zu verfassen, die der Umsetzung der Verordnung (EU) 2019/1009 vom 5. Juni 2019 mit Vorschriften für die Bereitstellung von EU-Düngeprodukten auf dem Markt („Düngeprodukteverordnung“) dienen sollen.

Dieser Normungsauftrag, vorgestellt als M/564 und M/564/Amd1, ist auch ein Beitrag zur Strategie „Innovating for Sustainable Growth: A Bio economy for Europe“. Im Rahmen dieses Normungsauftrags wurde die Arbeitsgruppe 4 „Weitere Sicherheitsparameter“ (en: Other safety parameters) gebildet, um ein Arbeitsprogramm zu entwickeln. Das Technische Komitee CEN/TC 455 „Pflanzen-Biostimulanzien“ wurde eingerichtet, um dieses Arbeitsprogramm auszuführen, wobei eine Normenreihe erarbeitet wird. Das Interesse an Biostimulanzien als wertvolles Hilfsmittel für die Landwirtschaft ist in Europa deutlich gestiegen. Es wurde erkannt, dass der Normung eine wichtige Rolle zukommt, wenn es darum geht, den Einsatz von Biostimulanzien zu fördern. Die Arbeit des CEN/TC 455 ist darauf ausgerichtet, die Zuverlässigkeit der Lieferkette zu verbessern und so das Vertrauen von Landwirten, Industrie und Verbrauchern im Bereich Biostimulanzien zu stärken, und wird die Kommerzialisierung der europäischen Biostimulanzienindustrie fördern und unterstützen. Die Erarbeitung dieses Dokuments beruht auf einem Normungsauftrag, der CEN von der Europäischen Kommission und der Europäischen Freihandelsassoziation (Normungsauftrag M/564) bezüglich der Modernisierung der Verfahren zur Analyse von Düngemitteln im Rahmen der Verordnung (EU) 2019/1009 des Europäischen Parlaments und des Rates erteilt wurde.

Dieses Dokument beschreibt ein Extraktions- und Messverfahren zur Bestimmung von anorganischem Arsen in Pflanzen-Biostimulanzien. Das Dokument beruht auf einer leicht sauren oxidativen Extraktion der Arsenspezies, an die sich eine Flüssigchromatographie (HPLC oder IC), gekoppelt mit einer ICP-MS mit elementspezifischem Detektor, zur Bestimmung des Massenanteils des anorganischen Arsens (iAs) anschließt.

WARNUNG — Die Anwender dieses Dokuments sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Dieses Dokument beansprucht nicht, sämtliche mit dessen Anwendung verbundenen Sicherheitsprobleme, soweit diese gegeben sind, zu behandeln. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die angemessenen Maßnahmen in Bezug auf den Gesundheits- und Arbeitsschutz einzuleiten und die Einhaltung jeglicher nationaler gesetzlicher Vorschriften sicherzustellen.

WICHTIG — Es ist unerlässlich, dass nach diesem Dokument durchgeführte Prüfungen von entsprechend geschultem Personal durchgeführt werden.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Verfahren zur Extraktion, Trennung und Bestimmung von anorganischem Arsen in Pflanzen-Biostimulanzien mit Anionenaustausch-Hochleistungs-Flüssigchromatograph (HPLC) oder Ionenchromatographie (IC) gekoppelt mit ICP-MS fest. Dieses Dokument ist für Düngeproduktmischungen anwendbar, die zur PFC 7 gehören und bei denen das in der Mischung enthaltene EU-Düngeprodukt Pflanzen-Biostimulans den größten Massenanteil in % in der Mischung ausmacht. Im Fall von gleich großen Anteilen kann der Anwender entweder die vorliegende Norm oder die für den/die anderen Bestandteil(e) anwendbare(n) Norm(en) verwenden.

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 17704:—¹, *Pflanzen-Biostimulanzien — Bestimmung der Trockenmasse*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Analyt

zu bestimmender Parameter

3.2

Blindwert-Kalibrierlösung

Lösung, die auf dieselbe Weise wie die Kalibrierlösung, jedoch ohne Analyten, hergestellt wird

3.3

Blindwertlösung

Lösung, die auf dieselbe Weise wie die Lösung der zu untersuchenden Untersuchungsprobe, jedoch ohne die Prüfmenge, hergestellt wird

3.4

Kalibrierlösung

zur Kalibrierung des Messgeräts verwendete Lösung, aus Stammlösungen und durch bedarfsweise Zugabe von Säuren, Puffer, Bezugselement und Salzen hergestellt

3.5

Stammlösung

Lösung mit genau bekannter/bekannten Analytkonzentration(en), aus Reinsubstanzen hergestellt

4 Kurzbeschreibung

Dieses Dokument beschreibt ein Verfahren zur Bestimmung von anorganischem Arsen in Pflanzen-Biostimulanzien. Anorganisches Arsen besteht aus Arsenit, As(III), und Arsenat, As(V). Eine repräsentative Prüfmenge wird mit verdünnter Salpetersäure und Wasserstoffperoxidlösung in einem beheizten Wasserbad behandelt. Dadurch wird die Probe solubilisiert, die Arsenspezies werden in die Lösung extrahiert und As(III) wird zu As(V) oxidiert. Das anorganische Arsen wird zur Bestimmung des Massenanteils selektiv von den anderen Arsenverbindungen mit der Anionenaustausch-HPLC (Hochleistungs-Flüssigchromatographie, en:

1 In Vorbereitung.

High Performance Liquid Chromatography) getrennt. Diese ist online-gekoppelt mit dem elementspezifischen Detektor des ICP-MS (Massenspektrometer mit induktiv gekoppeltem Plasma, en: Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer). Der Gehalt an anorganischem Arsen wird durch externe Kalibrierung mit an die Lösemittelmatrix angepassten Standards quantifiziert. Alternativ kann die mit ICP-MS gekoppelte IC (Ionenchromatographie) verwendet werden.

Eine vorläufige Bestimmung des Gesamtgehalts an Arsen in Königwasserextrakten mittels ICP-AES (EN 17701-1² und EN 17701-2³) könnte die Anzahl der Proben reduzieren, bei denen die Bestimmung von anorganischem Arsen notwendig ist. Der Grund dafür ist, dass die Bestimmung von anorganischem Arsen nicht notwendig ist, wenn der Gehalt an dem mit Königwasser extrahierbaren (Gesamt-)Arsen niedriger ist als der gesetzliche Grenzwert für anorganisches Arsen.

5 Reagenzien

Bei der Anwendung eines nachweisstarken Verfahrens wie der ICP-MS und HPLC ist eine Kontrolle der Blindwerte von Wasser, Säuren und anderen Chemikalien von großer Bedeutung. Die Reagenzien müssen von angemessener Reinheit und von anerkannter Analysenreinheit sein. Die Konzentration von Arsenspezies in den verwendeten Reagenzien und dem Wasser muss vernachlässigbar und hinreichend gering sein, um die Ergebnisse der Bestimmung nicht zu beeinflussen. Im Allgemeinen werden hochreines Wasser aus einem Reinigungssystem und mindestens analysenreine Salpetersäure (p. a.-Qualität) empfohlen.

5.1 Wasser, mit einer elektrischen Leitfähigkeit von höchstens 0,1 mS/m bei 25 °C und einem spezifischen elektrischen Widerstand von mindestens 18,2 MΩ · cm.

5.2 Salpetersäure (HNO₃), konzentriert, Massenanteil ≥ 65 %, Massenkonzentration etwa ρ (HNO₃) 1,4 g/ml.

Zur Vermeidung möglicher Kontaminationen wird nur Salpetersäure mit hoher Reinheit (mindestens p.a.-Qualität) verwendet.

5.3 Wasserstoffperoxid, H₂O₂, Massenanteil mindestens 30 %.

Zur Vermeidung möglicher Kontaminationen ist die hohe Reinheit wichtig. Handelsübliches Wasserstoffperoxid für die Analyse sollte vor der Verwendung auf Arsenkontaminationen geprüft werden. Es ist notwendig, den Abbau des Peroxids zu verhindern und die Stabilität der Lösung sicherzustellen. Dabei liegt es im Ermessen des Analytikers, nur H₂O₂ von geeigneter Qualität zu verwenden.

5.4 Extraktionslösung, 0,1 mol/l HNO₃ in 3 % Volumenanteil H₂O₂.

In einen 1 000-ml-Messkolben werden 800 ml Wasser (5.1) vorgelegt; 6,5 ml HNO₃ (5.2) und anschließend 100 ml Wasserstoffperoxid (5.3) werden hinzugegeben. Der Kolben wird mit Wasser (5.1) bis zur Marke aufgefüllt. Die Lösung wird arbeitstäglich frisch hergestellt.

Es wird empfohlen, das für die Analyse erforderliche Gesamtvolumen abzuschätzen und nur diese Menge am Tag der Verwendung herzustellen.

5.5 Ammoniumcarbonat, (NH₄)₂CO₃, Massenanteil w ≥ 99,999 %, zur Herstellung der mobilen Phase.

5.6 Ammoniaklösung (wässr.), (NH₃[wässr.]) w ≥ 25 %, für die Einstellung des pH-Wertes der mobilen Phase.

5.7 Methanol, (CH₃OH), HPLC-Reinheit, zur Herstellung der mobilen Phase.

² In Vorbereitung.

³ In Vorbereitung.

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

Es werden 4,80 g Ammoniumcarbonat (5.5) in etwa 800 ml Wasser (5.1) gelöst. Der pH-Wert wird mit Ammoniaklösung (wässr.) (5.6) auf 10,3 eingestellt, 30 ml Methanol (5.7) werden hinzugefügt und dann wird die Lösung mit Wasser (5.1) auf 1 000 ml aufgefüllt. Die mobile Phase wird vor Verwendung durch einen 0,45-µm-Filter in einer Filtriervorrichtung (6.4) filtriert.

Die optimale Konzentration des Ammoniumcarbonats in der mobilen Phase hängt von der analytischen Trennsäule (z. B. Marke, Partikelgröße und Maße) ab und sollte vorab überprüft werden. Die geeignete Konzentration Ammoniumcarbonat (üblicherweise zwischen 10 mmol/l und 50 mmol/l) hängt stark von der verwendeten Säule ab und liegt im Ermessen des Analytikers. Sie sollte die Kriterien für die ausreichende Abtrennung des Arsenatpeaks erfüllen.

Methanol wird der mobilen Phase hinzugefügt, um die Signalintensität für Arsen zu verbessern. Die Methanolkonzentration zur Erreichung eines maximalen Signal-Rausch-Verhältnisses hängt vom Analysengerät ab und sollte vom Analytiker ermittelt werden.

Es dürfen auch verschiedene, den Anweisungen des Säulenherstellers entsprechende mobile Phasen verwendet werden; es ist aber notwendig, die optimalen Trennbedingungen zu überprüfen.

Zum Beispiel wurde die Säule G3154-65001 von Agilent⁴ zusammen mit einer Vorsäule G3154-65002 und einer empfohlenen mobilen Phase für diese Säule (2 mmol Kaliumdihydrogencarbonat, 0,2 mmol EDTA, pH-Wert mit 1 mol Natriumhydroxidlösung auf 6,0 eingestellt) erfolgreich für die Analyse eingesetzt.

5.9 Arsen(V)-Standard-Stammlösung, mit einer Arsen(V)-Massenkonzentration von 1 000 mg/l.

Die Verwendung von handelsüblichen Arsen-(As[V]-)Standards mit einer Massenkonzentration von 1 000 mg/l wird empfohlen.

5.10 Arsen(V)-Standardlösung I, mit einer Arsen(V)-Massenkonzentration von 10 mg/l in 2 % Volumenanteil HNO₃.

1 ml der Arsen-Standard-Stammlösung (5.9) wird in einen 100-ml-Messkolben pipettiert. 2 ml Salpetersäure (5.2) werden hinzugegeben, und es wird bis zur Marke mit Wasser (5.1) aufgefüllt und gut geschüttelt. Diese Lösung ist in einem Kühlschrank für mindestens eine Woche stabil.

5.11 Arsen(V)-Standardlösung II, mit einer Arsen(V)-Massenkonzentration von 1 mg/l.

10 ml der Arsen-Standardlösung I (5.10) werden in einen 100-ml-Messkolben pipettiert, mit Wasser (5.1) wird bis zur Markierung aufgefüllt und es wird gut gemischt. Die Lösung sollte arbeitstäglich frisch hergestellt werden.

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

Diese Lösung wird empfohlen, um eine zufriedenstellende Abtrennung der einzelnen Arsenspezies sowie mögliche Störsubstanzen nachzuweisen und um zu ermitteln, wie die chromatographischen Bedingungen optimiert werden sollten (z. B. durch eine Änderung der Konzentration oder der Flussrate der mobilen Phase).

4 Agilent® ist ein eingetragenes Warenzeichen von Agilent Technologies Inc. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN. Gleichwertige Produkte dürfen verwendet werden, wenn sie nachweisbar zu den gleichen Ergebnissen führen.

Die Lösung darf nicht in der Extraktionslösung, sondern muss in Wasser (5.1) hergestellt werden, um die Retentionszeit der einzelnen Arsenspezies, deren visuelle Darstellung im Chromatogramm und die Trennung der Peaks zu prüfen.

6 Geräte

6.1 Übliche Laborgeräte aus Glas und Kunststoff.

Zur Herstellung der mobilen Phase und der Kalibrierlösungen werden Messkolben aus Kunststoff empfohlen. Alle Glas- und Kunststoffgeräte müssen adäquat gereinigt und gelagert werden, um Kontaminationen zu verhindern.

6.2 Labormühle, geeignet zum Mahlen bis zu einer Partikelgröße kleiner als 0,5 mm.

6.3 Analysenwaage, Fehlergrenze ≤ 1 mg.

6.4 Filtriervorrichtung, zum Filtrieren der mobilen Phase, Porengröße des Filters 0,45 μm .

6.5 Beheiztes Schüttel-Wasserbad, geeignet zur Aufrechterhaltung einer Temperatur von 90 °C.

Manche feinen Materialien können eine dünne Schicht auf der Oberfläche der Extraktionslösung bilden, und so kann es sein, dass der Kontakt zwischen Probe und Extraktionslösung weniger intensiv ist. Daher wird empfohlen, das Schüttel-Wasserbad zu verwenden, um eine effiziente Extraktion der Probe sicherzustellen.

6.6 Zentrifuge, mindestens 4 000 min^{-1} (etwa 2 000 g).

6.7 Einweg-Spritzenfilter (0,45 μm) oder HPLC-Fläschchen mit Filtern, geeignet für säurehaltige Lösungen zum Filtrieren der Messlösungen vor der Analyse.

6.8 Hochleistungs-Flüssigchromatograph (HPLC).

6.9 Anionenaustausch-Chromatographiesäule, geeignet für die selektive Trennung von Arsenat von anderen Arsenverbindungen, die in den Probenextrakten vorhanden sind.

Eine Vorsäule wird zur Verlängerung der Lebensdauer der analytischen Trennsäule sehr empfohlen.

Die Verwendung einer anderen Säule und einer anderen mobilen Phase ist möglich, vorausgesetzt die Ergebnisse sind vergleichbar. Es ist notwendig und sehr wichtig, zu verifizieren, dass die Trennbedingungen optimal sind. Die anderen Säulen dürfen in Kombination mit der geeigneten Art von mobiler Phase entsprechend den Empfehlungen des Herstellers (siehe 5.8) verwendet werden.

6.10 Massenspektrometer mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS).

6.11 Argongas, Reinheit $\geq 99,99$ %.

7 Probenahme

Probenahme und Vorbereitung der Untersuchungsprobe sind nicht Gegenstand dieses Verfahrens. Ein empfohlenes Probenahmeverfahren findet sich in EN 17702-1⁵ und eine empfohlene Probenvorbereitung findet sich in EN 17702-2⁶.

⁵ In Vorbereitung.

⁶ In Vorbereitung.

8 Durchführung

8.1 Probenvorbereitung

Feste Proben werden mit einer Labormühle (6.2) gemahlen und homogenisiert. Eine übermäßige Erwärmung während der Probenvorbehandlung sollte vermieden werden. Flüssige Proben werden durch gründliches Mischen vor der Einwaage der Prüfmenge homogenisiert.

8.2 Wasserbadextraktion

Etwa 0,2 g bis 0,6 g einer Untersuchungsprobe werden auf 1 mg in ein Extraktionsröhrchen eingewogen und 10,00 ml der Extraktionslösung (5.4) werden hinzugefügt. Die Röhrchen müssen mit einem dichten Deckel sicher verschlossen werden. Die Röhrchen werden gründlich geschüttelt, um die Probe ausreichend mit der Extraktionslösung (5.4) zu benetzen, bevor sie in ein Wasserbad gestellt wird, um eine zufriedenstellende Extraktion des Analyten sicherzustellen.

Die Lösungen werden anschließend in ein beheiztes Schüttel-Wasserbad (6.5) bei $(90 \pm 2)^\circ\text{C}$ gestellt und (60 ± 5) min extrahiert.

Eine Reagenzienblindwertprobe wird ebenfalls angesetzt. Nach dem gleichen Verfahren wie für die Proben ist eine Blindwertlösung herzustellen.

Nach der Extraktion und Abkühlung auf Raumtemperatur werden die Röhrchen 10 min bei $4\,000\text{ min}^{-1}$ (etwa $2\,000\text{ g}$) zentrifugiert. Der Überstand wird jeweils in saubere Kunststoffröhrchen (aus PE oder PP) überführt. Die Probenextrakte sollten vor der Analyse durch ein Spritzenfilter (6.7) in saubere HPLC-Fläschchen filtriert werden. Die Probenextrakte können in einem Kühlschrank (bei etwa 4°C) maximal eine Woche aufbewahrt werden.

8.3 Herstellung der Kalibrierlösungen

Für die quantitative Bestimmung wird die externe Kalibrierung angewendet. Es werden eine Blindwert-Kalibrierlösung sowie mindestens drei Kalibrier-Standardlösungen im linearen Kalibrierbereich für anorganisches Arsen (As V) hergestellt; dazu wird die Arsen-Standardlösung II der As(V)-Konzentration 1 mg/l (5.11) mit der mobilen Phase (5.8) verdünnt. Für die Kalibrierstandards werden die Konzentrationen 0, 25, 50 und $100\text{ }\mu\text{g/l}$ empfohlen. Vor der Analyse wird ein Aliquot der Kalibrierlösungen in HPLC-Fläschchen überführt.

ANMERKUNG Es ist möglich, das Gerät auf höhere Konzentrationen des Elements zu kalibrieren, wenn die Kalibrierkurve einen linearen Verlauf hat.

8.4 Messung

8.4.1 Allgemeine Gerätebedingungen

Das Analyseverfahren erfordert eine angemessene Erfahrung in der Bedienung und Optimierung der Geräte.

Wegen der Unterschiede zwischen den verschiedenen Arten von HPLC- und ICP-MS-Geräten können keine detaillierten Anweisungen für die Bedienung eines bestimmten Geräts gegeben werden. Die von den Herstellern bereitgestellten Anweisungen sollten befolgt werden.

Arsen ist ein monoisotopisches Element und kann mittels ICP-MS über das Masse/Ladungsverhältnis (m/z) von 75 bestimmt werden.

ANMERKUNG Geräte mit einzelner Quadrupol-ICP-MS können Arsen bei einem m/z -Verhältnis von 75 durch Anwendung des He-Gas-Kollisionsmodus, des H_2 -Gas-Reaktionsmodus oder des No-Gas-Modus bestimmen. Es ist möglich, Arsen im Gasreaktionsmodus der O_2 -Zelle mit einer Tripel-Quadrupol-ICP-MS/MS-Apparatur zu messen. Arsen wird zu seinem Ion AsO^+ und wird beim m/z -Wert von 91 im MS/MS-Massenverschiebungsmodus bestimmt.

Es ist empfehlenswert, vor der Analyse den HPLC-Fluss der mobilen Phase einzuschalten, damit sich das HPLC-System (einschließlich der analytischen Trennsäule) äquilibrieren kann und stabile Bedingungen sichergestellt sind. Zum Erreichen stabiler Chromatographiebedingungen können wiederholte Injektionen von Kalibrier-Blindlösungen erforderlich sein, bevor eine Messsequenz gestartet werden kann.

Die Kalibrierung des Geräts und die Berechnung der Konzentrationen an anorganischem Arsen in den einzelnen Prüflösungen erfolgt mithilfe der Gerätesoftware. Alle Prüf-, Blind- und Kalibrierlösungen werden unter Anwendung derselben optimierten Bedingungen gemessen. Beispielhafte Gerätebedingungen sind in Tabelle 1 angegeben.

8.4.2 Messung des anorganischen Arsens mit HPLC-ICP/MS

8.4.2.1 HPLC-Bedingungen

Die Retentionszeit des Analyten sollte etwa das Doppelte derjenigen betragen, die dem Totvolumen der Säule entspricht; außerdem sollte der im Chromatogramm dem Analyten nächstliegende Peak durch mindestens eine vollständige Peakbreite bei 10 % der Peakhöhe des Analyten getrennt sein. Es wird empfohlen, die ausreichende Trennung des Analytpeaks mit der Lösung (5.12) zu überprüfen. Es ist sicherzustellen, dass der HPLC-Lauf ausreichend lang ist, damit Chlorid (m/z 35) und alle Arsenverbindungen mit längeren Retentionszeiten als Arsenat vor der Injektion der nächsten Probe von der Säule eluiert werden können. Es wird nachdrücklich empfohlen, das Cl-Isotop (m/z 35) zusammen mit Arsen (m/z 75) zu kontrollieren. Auch sollte sichergestellt werden, dass die Arsenat- und Chloridpeaks nicht gleichzeitig eluieren, um Interferenzen mit dem $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ -Polyatomion im Massenspektrometer zu vermeiden.

Die quantitative Oxidation von Arsenit zu Arsenat in Probenlösungen sollte überprüft werden (z. B. visuelle Kontrolle des Chromatogramms, bei der nach einem zusätzlichen Peak von Arsenit As(III) oder einer verminderten Intensität des Peaks von Arsenat As(V) gesucht wird). Die Lösung zur Überprüfung der chromatographischen Trennung (5.12), die sowohl organische als auch anorganische Formen von Arsen enthält (Arsenit und Arsenat), kann zum Vergleich mit den Chromatogrammen der eigentlichen Proben verwendet werden.

Die quantitative Oxidation von Arsenit kann auch überprüft werden, indem die Probe mit Arsenit As(III) aufgestockt wird, z. B. durch Zugabe einer Aufstocklösung mit Arsenit 10 µg/l zur Probe vor dem Extraktionsverfahren. Nach der Extraktion werden sowohl die nicht aufgestockten Proben als auch die mit As(III) aufgestockte Probe gemessen und die Wiederfindung am Peak von Arsenat As(V) wird beurteilt. Eine visuelle Kontrolle des Chromatogramms, bei der nach einem zusätzlichen Peak von Arsenit As(III) gesucht wird, ist notwendig. Wenn die Oxidation von As(III) zu As(V) quantitativ erfolgt ist, sollte auf dem Chromatogramm kein As(III)-Peak erscheinen.

Wenn keine zufriedenstellende Abtrennung zwischen As(V) und Cl^- erreicht wurde, sollten die chromatographischen Bedingungen optimiert werden, z. B. durch eine Änderung der Konzentration oder der Flussrate der mobilen Phase.

Eine Vorsäule wird zur Verlängerung der Lebensdauer der analytischen Trennsäule sehr empfohlen.

8.4.2.2 Kalibrierung

Für die quantitative Bestimmung des Massenanteils von anorganischem Arsen (As V) wird die externe Kalibrierung angewendet. Zur Erstellung der Kalibrierkurve wird ein geeignetes Volumen der Kalibrierlösungen in das HPLC-ICP-MS-System injiziert, um das Gerät zu kalibrieren, z. B. indem von jedem der Kalibrierpunkte die Peakfläche ermittelt wird.

8.4.2.3 Messung der Proben

Es wird eine Messsequenz aus Blindwertlösung, Untersuchungsproben und Kontrollproben (z. B. internes Referenzmaterial) unter denselben Bedingungen analysiert. Es wird eine geeignete Verdünnung der Probenextrakte mit der mobilen Phase (5.8) empfohlen, um Matrixeffekte zu unterdrücken und ein Signal innerhalb des linearen Kalibrierbereichs zu erhalten. Die empfohlene Verdünnung der Proben ist ungefähr 10fach (zu