

DIN ISO 16308

ICS 13.060.50

Einsprüche bis 2013-06-08

Entwurf

**Wasserbeschaffenheit –
Bestimmung von Glyphosat und AMPA –
Verfahren mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC)
mit tandem-massenspektrometrischer Detektion (ISO/DIS 16308:2013)**

Water quality –

Determination of glyphosate and AMPA –

Method using high performance liquid chromatography (HPLC) with tandem mass spectrometric detection (ISO/DIS 16308:2013)

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/DIS 16308:2013)

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2013-03-25 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 naw@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 Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN, 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 25 Seiten

Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN

Inhalt

	Seite
Nationales Vorwort	3
Nationaler Anhang NA (informativ) Literaturhinweise	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Grundlage des Verfahrens	7
4 Störungen	8
5 Reagenzien	8
6 Geräte	9
7 Probenahme	10
8 Durchführung	11
8.1 Vorbehandlung (SPM)	11
8.2 Aufspalten des Chelats und Derivatisierung	11
8.2.1 Aufspalten des Chelats und Derivatisierung beim direkten Einspritzen	11
8.2.2 Aufspalten des Chelats und Derivatisierung vor der Voranreicherung	11
8.3 Voranreicherung	12
8.3.1 Flüssig-Flüssig-Extraktion der Analytderivate	12
8.3.2 Festphasenextraktion	12
8.4 Chromatographische Bestimmung	13
8.4.1 Allgemeine Anforderungen	13
8.4.2 Chromatographische Bedingungen	13
8.5 Identifizierung und Nachweis des Analyts	13
8.6 Überwachung mittels Blindwert-Kontrolllösungen	14
9 Kalibrierung	14
9.1 Konzentrationsbereiche	14
9.2 Matrixangepasste Kalibrierung	14
9.2.1 Kalibrierung	14
9.2.2 Berechnung	15
9.3 Kalibrierung mit internem Standard	15
9.3.1 Kalibrierung	15
9.3.2 Berechnung	16
10 Auswertung	16
11 Analysenbericht	17
Anhang A (informativ) Beispiele für chromatographische Bedingungen	18
Anhang B (informativ) Beispiele für Chromatogramme	19
Anhang C (informativ) Analyse von Gluphosinat	20
Anhang D (informativ) Vorbehandlung von Hartwasserproben	24
Literaturhinweise	25

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 Normenausschuss Wasserwesen (NAW) an der Bearbeitung beteiligt.

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 6058	siehe DIN 38406-3
ISO 6059	siehe DIN 38406-3
ISO 8466-1	siehe DIN 38402-51

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 Normenausschuss Wasserwesen (NAW) im DIN 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 38402-51, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser und Schlammuntersuchung — Allgemeine Angaben (Gruppe A); Kalibrierung von Analysenverfahren, Auswertung von Analysenergebnissen und lineare Kalibrierfunktionen für die Bestimmung von Verfahrenskenngrößen (A 51)*

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

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

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

Einleitung

Glyphosat [*N*-(Phosphonomethyl)glycin] ist ein nicht selektives Breitbandherbizid. Aufgrund seiner Wirksamkeit ist diese Verbindung ein umsatzstarkes und weltweit am weitesten verbreitetes Herbizid, 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. Dennoch ist es bekannt, dass AMPA ebenfalls bei der Abwasseraufbereitung freigesetzt werden kann (z. B. aufgrund des Einsatzes 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 Spurenanalyse 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-Fluorenylmethylchloroformat (FMOC-Cl) empfohlen, um weniger polare Derivate zu bilden, die besser mittels Flüssigkeitschromatographie getrennt werden können.

Das durch Rechtsvorschriften weniger berücksichtigte Gluphosinat, das zur Familie der Aminophosphonate gehört, kann ebenfalls bestimmt werden, vorausgesetzt, es wird nachgewiesen, dass keine Störungen in den zu analysierenden Proben 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) durchgeführt werden. Die vorliegende Internationale Norm basiert auf diesem analytischen Verfahren und deckt den steigenden Bedarf von Laboratorien, die an der gesetzlichen Kontrolle der aquatischen Umwelt beteiligt und derzeit weitgehend mit dieser Art Geräte ausgestattet sind.

WARNUNG — Anwender dieser Internationalen Norm sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Diese 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 Meereswasser oder Salzwasser. Dieses Verfahren darf 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-Fluorenylmethylchloroformat (FMOC-Cl) (5.16.1) derivatisiert, um deren Polarität zu senken und die Retention der Verbindungen bei einer Trennung auf einer Umkehrphasen-Chromatographiesäule (z. B. C18) zu erhöhen.

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.

Tabelle 1 — Analytierte Substanzen

Name	Formel	Molekularmasse g/mol	CAS-RN ^a
Glyphosat <i>N</i> -(Phosphonomethyl)glycin	C ₃ H ₈ NO ₅ P	169,1	1071-83-6
AMPA Aminomethylphosphonsäure	CH ₆ NO ₃ P	111,0	1066-51-9
^a CAS-RN Chemical Abstracts Services Registrier-Nummer.			

ANMERKUNG Gluphosinat, das der Familie der Aminophosphonate angehört, kann gleichzeitig bestimmt werden, vorausgesetzt, es wird nachgewiesen, dass es die zu analysierende Probe nicht stört.

4 Störungen

Dieses Verfahren ist für hartes Wasser validiert, dessen summierter Calcium- und Magnesiumgehalt bis zu 3,2 mmol/l beträgt. Bei Wasserarten mit einem höheren Calcium- und Magnesiumgehalt kann es erforderlich sein, die Konzentration von EDTA-Na (5.16) beim Derivatisierungsschritt zu erhöhen (siehe Anhang C).

ANMERKUNG Es kann erforderlich sein, den in Anhang D beschriebenen Ansäuerungsschritt selbst für einige Wasserarten miteinzubeziehen, deren summierter Calcium- und Magnesiumgehalt unterhalb von 3,2 mmol/l liegt. Das Laboratorium muss prüfen, ob dieses Verfahren für dessen Routineproben notwendig ist.

Das Vorhandensein von freiem Chlor, z. B. in behandeltem Wasser, kann Verluste von Glyphosat durch eine Oxidation verursachen. Als Konsequenz muss Natriumthiosulfat eingesetzt werden (siehe Abschnitt 7).

5 Reagenzien

Wenn nicht anders angegeben, müssen alle Reagenzien und Lösemittel von ausreichender Reinheit sein, z. B. „für die Spurenanalyse“.

5.1 Entionisiertes Wasser.

5.2 Reinstwasser, entsprechend Qualität 1 nach ISO 3696.

5.3 Stickstoff, N₂, Reinheit ≥ 99,996 %.

5.4 Labor-Reinigungsmittel, basisch.

5.5 Natriumthiosulfat, Na₂S₂O₃.

5.6 Acetonitril, C₂H₃N, HPLC-Qualität.

5.7 Methanol, CH₄O, HPLC-Qualität.

5.8 Ethanol, C₂H₆O, 95 %, HPLC-Qualität.

5.9 Ethylacetat, C₄H₈O₂, HPLC-Qualität.

5.10 Ammoniumacetat, C₂H₇O₂N.

5.11 Triethylamin, C₆H₁₅N.

5.12 Ammoniak, NH₃, 28 %.

5.13 Ameisensäure, CH₂O₂.

5.14 Salzsäure, HCl, 30 %.

5.15 Eisessig, C₂H₄O₂.

5.16 Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA), Di-Natriumsalzdihydrat, C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈·2H₂O, mit einer Mindestreinheit von 99 %.

5.17 9-Fluorenylmethylchloroformat, Fmoc-Cl, C₁₅H₁₁ClO₂, mit einer Mindestreinheit von 97 %.

Fmoc-Cl für die Herstellung des Derivatisierungsreagens, Fmoc-Cl-Lösung, 50 mg/ml, in Acetonitril (5.6), verwenden. Diese Lösung kann bei (–18 ± 3) °C für sechs Monate aufbewahrt werden.