

DIN EN 17299



ICS 65.120

**Futtermittel –
Probenahme- und Untersuchungsverfahren –
Screening und Bestimmung von zugelassenen Kokzidiostatika in
Konzentrationen von Zusatzstoffen und deren Verschleppungen im Bereich
von 1 % und 3 % sowie von nicht registrierten Kokzidiostatika und von
einem Antibiotikum in Konzentrationen unterhalb von Zusatzstoffen in
Mischfuttermitteln mittels Hochleistungs-Flüssigchromatographie mit
Tandem-Massenspektrometrie-Nachweis (LC-MS/MS);
Deutsche Fassung EN 17299:2019**

Animal feeding stuffs: Methods of sampling and analysis –
Screening and determination of authorized coccidiostats at additive and 1 % and 3 %
cross-contamination level, and of non-registered coccidiostats and of one antibiotic at
sub-additive levels, in compound feed with High Performance Liquid Chromatography –
Tandem Mass Spectrometry detection (LC-MS/MS);
German version EN 17299:2019

Aliments des animaux: Méthodes d'échantillonnage et d'analyse –
Recherche et dosage dans des aliments composés pour animaux des coccidiostatiques
autorisés aux taux d'additif et de contamination croisée à 1 % et 3 %, de coccidiostatiques non
enregistrés et d'un antibiotique aux taux sub-additifs, par chromatographie en phase liquide à
haute performance couplée à une détection par spectrométrie de masse en tandem
(CL-SM/SM);
Version allemande EN 17299:2019

Gesamtumfang 56 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN 17299:2019) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 327 „Futtermittel — Probe-
nahme- 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).

Deutsche Fassung

**Futtermittel — Probenahme- und Untersuchungsverfahren —
Screening und Bestimmung von zugelassenen Kokzidiostatika in
Konzentrationen von Zusatzstoffen und deren Verschleppungen im
Bereich von 1 % und 3 % sowie von nicht registrierten Kokzidiostatika
und von einem Antibiotikum in Konzentrationen unterhalb von
Zusatzstoffen in Mischfuttermitteln mittels Hochleistungs-
Flüssigchromatographie mit Tandem-Massenspektrometrie-Nachweis
(LC-MS/MS)**

Animal feeding stuffs: Methods of sampling and analysis —
Screening and determination of authorized coccidiostats at
additive and 1 % and 3 % cross-contamination level, and
of non-registered coccidiostats and of one antibiotic at
sub-additive levels, in compound feed with High
Performance Liquid Chromatography — Tandem Mass
Spectrometry detection (LC-MS/MS)

Aliments des animaux: Méthodes d'échantillonnage et
d'analyse — Recherche et dosage dans des aliments
composés pour animaux des coccidiostatiques autorisés
aux taux d'additif et de contamination croisée à 1 % et
3 %, de coccidiostatiques non enregistrés et d'un
antibiotique aux taux sub-additifs, par chromatographie
en phase liquide à haute performance couplée à une
détection par spectrométrie de masse en tandem
(CL-SM/SM)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 17. Juni 2019 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim CEN-CENELEC-Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, der Republik Nordmazedonien, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Begriffe	4
4 Kurzbeschreibung	5
5 Reagenzien und Materialien	5
6 Geräte	23
7 Probenahme	24
8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	24
8.1 Allgemeines	24
8.2 Laboratoriumsprobe	24
8.3 Untersuchungsprobe	24
8.4 Prüfmenge	24
9 Verfahren	25
9.1 Allgemeines	25
9.2 Positiv- und Negativkontrollproben	25
9.2.1 Allgemeines	25
9.2.2 Positivkontrollprobe (PCS)	25
9.2.3 Negativkontrollprobe (NCS)	25
9.3 Probenvorbereitung	26
9.3.1 Extraktion	26
9.3.2 Filtration	26
9.3.3 Verdünnung	26
9.4 Quantifizierung durch Standardaddition	26
9.5 HPLC-Analyse	27
9.5.1 Analysebedingungen	27
9.5.2 HPLC-Bestimmung	29
9.5.3 Kriterien für die Annahme des Analyseergebnisses	30
10 Berechnung	31
11 Untersuchungsbericht	32
Anhang A (informativ) Ergänzende Geräteinformationen	33
Literaturhinweise	54

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN 17299:2019) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 327 „Futtermittel — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NEN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Februar 2020, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Februar 2020 zurückgezogen werden.

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

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

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die Republik Nordmazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Verfahren fest zum gleichzeitigen Screening und/oder zur Bestimmung des Gehalts der elf zugelassenen Kokzidiostatika (Halofuginon, Hydrobromid, Robenidinhydrochlorid, Nicarbazin, Diclazuril, Decoquinat, Monensin-Natrium, Salinomycin-Natrium, Narasin, Lasalocid-A-Natrium, Semduramicin-Natrium und Maduramicin-Ammonium-Alpha) durch Hochleistungs-Flüssigchromatographie in Kombination mit Tandem-Massenspektrometrie (HPLC-MS/MS) in Mischfuttermitteln und Einzelfuttermitteln pflanzlichen Ursprungs in Konzentrationen von Zusatzstoffen und deren Verschleppungen und von den fünf nicht registrierten Kokzidiostatika (Ethopabat, Clopidol, Ronidazol, Dimetridazol und Amprolium) in Konzentrationen unterhalb von Zusatzstoffen und zum Screening auf das verbotene Antibiotikum Furazolidon in Konzentrationen unterhalb von Zusatzstoffen, in den gleichen Matrices. Das Verfahren ist nur für Geflügel-, Rinder- und Schweinemischfuttermittel vollständig validiert worden.

Der Anwendungsbereich des Verfahrens ist geeignet für das Screening auf und die Bestimmung von allen elf registrierten Kokzidiostatika bei den in der europäischen Gesetzgebung festgelegten Werten, für die nicht registrierten Kokzidiostatika und für das Screening auf das verbotene Antibiotikum.

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

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- IEC Electropedia: verfügbar unter <http://www.electropedia.org/>
- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <http://www.iso.org/obp>

3.1

Interner Standard

IS

Verbindung mit bekannter Konzentration, die einer Probe zugesetzt wird, um die qualitative Identifizierung und/oder quantitative Bestimmung der Probenbestandteile zu erleichtern

[QUELLE: ISO 20752:2014, 3.2]

3.2

Futtermittel für Zieltierarten

Futtermittel für Tierarten oder Tierkategorien, für die die Zusatzstoffe bestimmt sind (Zieltierarten bzw. Zieltierkategorien)

[QUELLE: Verordnung (EG) Nr. 124/2009 der Kommission]

3.3

Futtermittel für Nichtzieltierarten

Futtermittel zum Einsatz bei Tierarten oder Tierkategorien, für die die Verwendung von Kokzidiostatika oder Histomonostatika nicht zugelassen ist

[QUELLE: Verordnung (EG) Nr. 124/2009 der Kommission]

4 Kurzbeschreibung

Alle 11 zugelassenen Kokzidiostatika, nicht registrierten Kokzidiostatika und das verbotene Antibiotikum werden mittels Fest-Flüssig-Extraktion extrahiert. Die Extrakte werden zentrifugiert und die Überstände werden filtriert. Nach einer ersten Screening-Analyse werden die Analyten durch Umkehrphasen-HPLC unter Verwendung einer Elektrospray-Ionisation mit einem anschließenden Tandem-Massenspektrometrie-Nachweis bestimmt. Die Quantifizierung der nachgewiesenen Zielanalyten wird unter Verwendung eines mehrstufigen Standard-Additionsverfahrens durchgeführt.

5 Reagenzien und Materialien

WARNUNG —Einatmen und Kontakt mit den toxischen Standardmaterialien und deren Lösungen sind zu vermeiden. Bei der Handhabung der Lösemittel und Lösungen ist unter einem Dunstabzug zu arbeiten.

Sofern nicht anders angegeben, sind nur Reagenzien von anerkannter Analysenreinheit zu verwenden.

- 5.1 Wasser**, von HPLC-Qualität oder gleichwertig (z. B. milli-Q-gereinigtes Wasser).
- 5.2 Acetonitril**, von HPLC-Gradientenqualität oder hypergrade LC-MS, Reinheit von mindestens 99,9 %.
- 5.3 Methanol**, von HPLC-Qualität oder hypergrade LC-MS.
- 5.4 Ameisensäure**, von HPLC-Qualität oder hypergrade LC-MS, Reinheit von mindestens 98 %.
- 5.5 Ethanol**, absolut, Reinheit von mindestens 99,9 %.
- 5.6 N,N-Dimethylformamid**, Reinheit von mindestens 99 %.
- 5.7 Dimethylsulfoxid**, Reinheit von mindestens 99,5 %.
- 5.8 Calciumchlorid**, wasserfrei, Reinheit von mindestens 93 %.
- 5.9 Acetonitril-Lösung** in Wasser 1 : 1, (Volumenteile).

50 ml Acetonitril (5.2) werden in einen 100-ml-Glasmesszylinder (6.11) gegeben und 50 ml Wasser (5.1) hinzugefügt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

5.10 1%ige Calciumchloridlösung in Methanol.

Es werden sorgfältig 1,0 g des wasserfreien Calciumchlorids (5.8) auf 0,1 g in einen 100-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht des wasserfreien Calciumchlorids (5.8) wird notiert. Die Substanz wird in Methanol (5.3) gelöst und das Volumen mit Methanol (5.3) auf 100 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei 4 °C in Glasgeräten aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

5.11 Lösemittelmischung zur Futtermittelsextraktion Acetonitril/Methanol/Wasser 80 : 10 : 10, Volumenteile.

800 ml Acetonitril (5.2) werden in einen 1 000-ml-Messkolben (6.9) oder in einen 1 000-ml-Glasmesszylinder (6.11) gegeben und 100 ml Methanol (5.3) und 100 ml Wasser (5.1) hinzugefügt. Alles wird gründlich gemischt. Die Lösung wird vor der Extraktion frisch zubereitet und bei Raumtemperatur belassen.

5.12 Mobile Phase für HPLC

5.12.1 Wasser, mit 0,5 % Volumenanteil Ameisensäure – Phase A.

5 ml Ameisensäure (5.4) werden in einen 1 000-ml-Messkolben (6.9) gegeben und das Volumen wird mit Wasser (5.1.) auf 1 000 ml aufgefüllt. Die Lösungen werden jeden Monat frisch hergestellt.

5.12.2 Methanol, mit 0,5 % Volumenanteil Ameisensäure – Phase B.

5 ml Ameisensäure (5.4) werden in einen 1 000-ml-Messkolben (6.9) gegeben und das Volumen wird mit Methanol (5.3) auf 1 000 ml aufgefüllt. Die Lösungen werden jeden Monat frisch hergestellt.

5.13 Referenzstandards

Reinheit, die für jedes Los von Referenz- und Internen Standards benötigt wird.

ANMERKUNG Falls keiner der nachstehend beschriebenen Standards mit den angegebenen Reinheiten verfügbar ist, können Standardsubstanzen mit anderen Reinheiten verwendet werden, vorausgesetzt, dass die Reinheit in der Berechnung angemessen berücksichtigt wird und dass das chromatographische Verhalten, z. B. Peakform nicht beeinflusst wird.

5.13.1 Halofuginon-Hydrobromid, CAS-Nr.: 64924-67-0, Reinheit von mindestens 99 %, ausgedrückt als **Halofuginon-Hydrobromid**.

5.13.2 Robenidin-Hydrochlorid, CAS-Nr.: 25875-50-7, Reinheit von mindestens 97 %.

5.13.3 Nicarbazin, CAS-Nr.: 330-95-0, Reinheit von mindestens 97 %.

5.13.4 Diclazuril, CAS-Nr.: 101831-37-2, Reinheit von mindestens 98 %.

5.13.5 Decoquinat, CAS-Nr.: 18507-89-6, Reinheit von mindestens 98 %.

5.13.6 Semduramicin-Natrium, CAS-Nr.: 113378-31-7, Reinheit von mindestens 93 %, angegeben als Semduramicin.

5.13.7 Monensin-Natrium, CAS-Nr.: 22373-78-0, Reinheit von mindestens 86 %, angegeben als **Monensin-A-Natrium**.

5.13.8 Maduramicin-Ammonium, CAS-Nr.: 84878-61-5, Reinheit von mindestens 97 % angegeben als **Maduramicin-Ammonium-Alpha**.

5.13.9 Salinomycin-Natrium, CAS-Nr.: 55721-31-8, Reinheit von mindestens 93 %.

5.13.10 Lasalocid-Natrium, CAS-Nr.: 25999-20-6, Reinheit von mindestens 95 %, angegeben als **Lasalocid-A-Natrium**.

5.13.11 Narasin, CAS-Nr.: 55134-13-9, Reinheit von mindestens 97 %, angegeben als Narasin A.

5.13.12 Ethopabat, CAS-Nr.: 59-06-3, Reinheit von mindestens 99 %.

5.13.13 Clopidol, CAS-Nr.: 2971-90-6, Reinheit von mindestens 99 %.

5.13.14 Amproliumhydrochlorid, CAS-Nr.: 137-88-2, Reinheit von mindestens 99 %.

5.13.15 Furazolidon, CAS-Nr.: 67-45-8, Reinheit von mindestens 99 %.

5.13.16 Ronidazol, CAS-Nr.: 7681-76-7, Reinheit von mindestens 99 %.

5.13.17 Dimetridazol, CAS-Nr.: 551-92-8, Reinheit von mindestens 99 %.

5.13.18 Robenidin-D₈, Hydrochlorid, CAS-Nr.: 1173097-77-2, Reinheit von mindestens 98 %, zur Verwendung als Interner Standard (IS) für Robenidin (5.13.2).

5.13.19 Dinitrocarbanilid-D₈, CAS-Nr.: 1156508-87-0, Reinheit von mindestens 99 %, zur Verwendung als Interner Standard (IS) für Dinitrocarbanilid [Marker für Nicarbazin (5.13.3)].

5.13.20 Bis-Diclazuril, CAS-Nr.: 103337-71-9, Reinheit von mindestens 97 %, zur Verwendung als Interner Standard (IS) für Diclazuril (5.13.4).

5.13.21 Decoquinat-D₅, CAS-Nr.: 1228182-55-5, Reinheit von mindestens 98 %, zur Verwendung als Interner Standard (IS) für Decoquinat (5.13.5).

5.13.22 Nigericin-Natrium, CAS-Nr.: 28643-80-3, Reinheit von mindestens 98 %, zur Verwendung als Interner Standard (IS) für ionophore Kokzidiostatika (5.13.6; 5.13.7; 5.13.8; 5.13.9; 5.13.10; 5.13.11).

5.13.23 Dimetridazol-D₃, CAS-Nr.: 64678-69-9, Reinheit von mindestens 99 %, zur Verwendung als Interner Standard (IS) für Dimetridazol (5.13.17).

5.13.24 Ethopabat-D₅, CAS-Nr.: 59-06-03 — ungekennzeichnet, Reinheit von mindestens 99 %, zur Verwendung als Interner Standard (IS) für Ethopabat (5.13.12).

5.13.25 Furazolidon-D₄, CAS-Nr.: 1217222-76-8, Reinheit von mindestens 99 %, zur Verwendung als Interner Standard (IS) für Furazolidon (5.13.15).

5.13.26 Ronidazol-D₃, CAS-Nr.: 1015855-87-4, Reinheit von mindestens 99 %, zur Verwendung als Interner Standard (IS) für Ronidazol (5.13.16) und Clopidol (5.13.13).

5.14 Standardlösungen

5.14.1 Standard-Stammlösungen, etwa 1 mg/ml.

5.14.1.1 Allgemeines

5.14.1.2 Halofuginon-Hydrobromid

Es werden sorgfältig 10 mg des Halofuginon-Hydrobromid-Standards (5.13.1) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Halofuginon-Hydrobromid wird notiert. Die Substanz wird in Acetonitril-Lösung in Wasser (5.9) gelöst und das Volumen mit der Acetonitril-Lösung in Wasser (5.9) auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei –20 °C in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Halofuginon-Hydrobromid-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (1) ermittelt.

$$C_{\text{HAL}} = \frac{m}{10} \times P \quad (1)$$

Dabei ist

C_{HAL} die Konzentration von Halofuginon-Hydrobromid in der Standard-Stammlösung, in mg/ml;

P die vom Anbieter angegebene Reinheit des Halofuginon-Hydrobromid-Standards, in %;

ANMERKUNG Zum Beispiel 0,99.

m die gewogene Masse des Halofuginon-Hydrobromid-Standards (5.13.1), in mg.

5.14.1.3 Robenidin-Hydrochlorid

Es werden sorgfältig 10 mg des Robenidin-Hydrochlorid-Standards (5.13.2) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Robenidin-Hydrochlorid wird notiert. Die Substanz wird in Ethanol (5.5) gelöst und das Volumen mit Ethanol (5.5) auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei -20 °C in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Robenidin-Hydrochlorid-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (2) ermittelt.

$$C_{\text{ROB}} = \frac{m}{10} \times P \quad (2)$$

Dabei ist

C_{ROB} die Konzentration von Robenidin-Hydrochlorid in der Standard-Stammlösung, in mg/ml;

P die vom Anbieter angegebene Reinheit des Robenidin-Hydrochlorid-Standards, in %;

ANMERKUNG Zum Beispiel 0,97.

m die gewogene Masse des Robenidin-Hydrochlorid-Standards (5.13.2), in mg.

5.14.1.4 Nicarbazin

Es werden sorgfältig 10 mg des Nicarbazin-Standards (5.13.3) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Nicarbazin wird notiert. Die Substanz wird in Dimethylsulfoxid (5.7) gelöst und das Volumen mit Dimethylsulfoxid (5.7) auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei -20 °C in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Nicarbazin-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (3) ermittelt.

$$C_{\text{NIC}} = \frac{m}{10} \times P \quad (3)$$

Dabei ist

C_{NIC} die Konzentration von Nicarbazin in der Standard-Stammlösung, in mg/ml;

P die vom Anbieter angegebene Reinheit des Nicarbazin-Standards, in %;

ANMERKUNG Zum Beispiel 0,97.

m die gewogene Masse des Nicarbazin-Standards (5.13.3), in mg.

5.14.1.5 Diclazuril

Es werden sorgfältig 10 mg des Diclazuril-Standards (5.13.4) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Diclazuril wird notiert. Die Substanz wird in N,N-Dimethylformamid (5.6) gelöst und das Volumen mit N,N-Dimethylformamid (5.6) auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Diclazuril-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (4) ermittelt.

$$C_{\text{DICL}} = \frac{m}{10} \times P \quad (4)$$

Dabei ist

C_{DICL} die Konzentration von Diclazuril in der Standard-Stammlösung, in mg/ml;

P die vom Anbieter angegebene Reinheit des Diclazuril-Standards, in %;

ANMERKUNG Zum Beispiel 0,98.

m die gewogene Masse des Diclazuril-Standards (5.13.4), in mg.

5.14.1.6 Semduramicin-Natrium

Es werden sorgfältig 10 mg des Semduramicin-Natrium-Standards (5.13.6) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Semduramicin-Natrium wird notiert. Die Substanz wird in 3 ml Methanol (5.3) gelöst und das Volumen mit Acetonitril (5.2) auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Semduramicin-Natrium-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (5) ermittelt.

$$C_{\text{SEM}} = \frac{m}{10} \times P \quad (5)$$

Dabei ist

C_{SEM} die Konzentration von Semduramicin-Natrium in der Standard-Stammlösung, in mg/ml;

P die vom Anbieter angegebene Reinheit des Semduramicin-Natrium-Standards, in %;

ANMERKUNG Zum Beispiel 0,93.

m die gewogene Masse des Semduramicin-Natrium-Standards (5.13.6), in mg.

5.14.1.7 Monensin-Natrium

Es werden sorgfältig 10 mg des Monensin-Natrium-Standards (5.13.7) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Monensin-Natrium wird notiert. Die Substanz wird in 3 ml Methanol (5.3) gelöst und das Volumen mit Acetonitril (5.2) auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung ist bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufzubewahren. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Monensin-Natrium-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (6) ermittelt.

$$C_{\text{MON}} = \frac{m}{10} \times P \quad (6)$$

Dabei ist

C_{MON} die Konzentration von Monensin-Natrium in der Standard-Stammlösung, in mg/ml;

P die vom Anbieter angegebene Reinheit des Monensin-Natrium-Standards, in %;

ANMERKUNG Zum Beispiel 0,86.

m die gewogene Masse des Monensin-Natrium-Standards (5.13.7), in mg.

5.14.1.8 Maduramicin-Ammonium

Es werden sorgfältig 10 mg des Maduramicin-Ammonium-Standards (5.13.8) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Maduramicin-Ammonium wird notiert. Die Substanz wird in 3 ml Methanol (5.3) gelöst und das Volumen mit Acetonitril (5.2) auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Maduramicin-Ammonium-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (7) ermittelt.

$$C_{\text{MAD}} = \frac{m}{10} \times P \quad (7)$$

Dabei ist

C_{MAD} die Konzentration von Maduramicin-Ammonium in der Standard-Stammlösung, in mg/ml;

P die vom Anbieter angegebene Reinheit des Maduramicin-Ammonium-Alpha-Standards, in %;

ANMERKUNG Zum Beispiel 0,97.

m die gewogene Masse des Maduramicin-Ammonium-Alpha-Standards (5.13.8), in mg.

5.14.1.9 Salinomycin-Natrium

Es werden sorgfältig 10 mg des Salinomycin-Natrium-Standards (5.13.9) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Salinomycin-Natrium wird notiert. Die Substanz wird in 3 ml Methanol (5.3) gelöst und das Volumen mit Acetonitril (5.2) auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Salinomycin-Natrium-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (8) ermittelt.

$$C_{\text{SAL}} = \frac{m}{10} \times P \quad (8)$$

Dabei ist

C_{SAL} die Konzentration von Salinomycin-Natrium in der Standard-Stammlösung, in mg/ml;

P die vom Anbieter angegebene Reinheit des Salinomycin-Natrium-Standards, in %;

ANMERKUNG Zum Beispiel 0,93.

m die gewogene Masse des Salinomycin-Natrium-Standards (5.13.9), in mg.

5.14.1.10 Lasalocid-A-Natrium

Es werden sorgfältig 10 mg des Lasalocid-Natrium-Standards (5.13.10) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Lasalocid-Natrium wird notiert. Die Substanz wird in 3 ml Methanol (5.3) gelöst und das Volumen mit Acetonitril (5.2) auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Lasalocid-A-Natrium-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (9) ermittelt.

$$C_{\text{LAS}} = \frac{m}{10} \times P \quad (9)$$

Dabei ist

C_{LAS} die Konzentration von Lasalocid-A-Natrium in der Standard-Stammlösung, in mg/ml;

P die vom Anbieter angegebene Reinheit des Lasalocid-A-Natrium-Standards, in %;

ANMERKUNG Zum Beispiel 0,95.

m die gewogene Masse des Lasalocid-Natrium-Standards (5.13.10), in mg.

5.14.1.11 Narasin

Es werden sorgfältig 10 mg des Narasin-Standards (5.13.11) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Narasin wird notiert. Die Substanz wird in 3 ml Methanol (5.3) gelöst und das Volumen mit Acetonitril (5.2) auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Narasin-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (10) ermittelt.

$$C_{\text{NAR}} = \frac{m}{10} \times P \quad (10)$$

Dabei ist

C_{NAR} die Konzentration von Narasin in der Standard-Stammlösung, in mg/ml;

P die vom Anbieter angegebene Reinheit des Narasin-Standards, in %;

ANMERKUNG Zum Beispiel 0,97.

m die gewogene Masse des Narasin-Standards (5.13.11), in mg.

5.14.1.12 Amprolium

Es werden sorgfältig 10 mg des Amprolium-Hydrochlorid-Standards (5.13.14) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Amprolium wird notiert. Die Substanz wird in 5 ml Methanol (5.3) gelöst und das Volumen mit Methanol (5.2) ^{N1)} auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei –20 °C in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Amprolium-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (11) ermittelt.

$$C_{\text{AMP}} = \frac{m}{10} \times P \quad (11)$$

Dabei ist

C_{AMP} die Konzentration von Amprolium in der Standard-Stammlösung, in mg/ml;

P die vom Anbieter angegebene Reinheit des Amprolium-Standards, in %;

ANMERKUNG Zum Beispiel 0,99.

m die gewogene Masse des Amprolium-Standards (5.13.14), in mg.

5.14.1.13 Clopidol

Es werden sorgfältig 10 mg des Clopidol-Standards (5.13.13) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Clopidol wird notiert. Die Substanz wird in 5 ml Dimethylsulfoxid (5.7) gelöst und das Volumen mit Dimethylsulfoxid (5.7) auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei –20 °C in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Clopidol-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (12) ermittelt.

$$C_{\text{CLOP}} = \frac{m}{10} \times P \quad (12)$$

^{N1)} Nationale Fußnote: Anstatt „Methanol (5.2)“ muss es „Methanol (5.3)“ lauten.

Dabei ist

C_{CLOP} die Konzentration von Clopidol in der Standard-Stammlösung, in mg/ml;

P die vom Anbieter angegebene Reinheit des Clopidol-Standards, in %;

ANMERKUNG Zum Beispiel 0,99.

m die gewogene Masse des Clopidol-Standards (5.13.13), in mg.

5.14.1.14 Dimetridazol

Es werden sorgfältig 10 mg des Dimetridazol-Standards (5.13.17) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Dimetridazol wird notiert. Die Substanz wird in 5 ml Ethanol (5.5) gelöst und das Volumen mit Ethanol (5.5) auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei -20 °C in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Dimetridazol-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (13) ermittelt.

$$C_{\text{DIM}} = \frac{m}{10} \times P \quad (13)$$

Dabei ist

C_{DIM} die Konzentration von Dimetridazol in der Standard-Stammlösung, in mg/ml;

P die vom Anbieter angegebene Reinheit des Dimetridazol-Standards, in %;

ANMERKUNG Zum Beispiel 0,98.

m die gewogene Masse des Dimetridazol-Standards (5.13.17), in mg.

5.14.1.15 Ethopabat

Es werden sorgfältig 10 mg des Ethopabat-Standards (5.13.12) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Ethopabat wird notiert. Die Substanz wird in 5 ml Ethanol (5.5) gelöst und das Volumen mit Ethanol (5.5) auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei -20 °C in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Ethopabat-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (14) ermittelt.

$$C_{\text{ETHO}} = \frac{m}{10} \times P \quad (14)$$

Dabei ist

C_{ETHO} die Konzentration von Ethopabat in der Standard-Stammlösung, in mg/ml;

P die vom Anbieter angegebene Reinheit des Ethopabat-Standards, in %;

ANMERKUNG Zum Beispiel 0,99.

m die gewogene Masse des Ethopabat-Standards (5.13.12), in mg.

5.14.1.16 Furazolidon

Es werden sorgfältig 10 mg des Furazolidon-Standards (5.13.15) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Furazolidon wird notiert. Die Substanz wird in 5 ml Dimethylsulfoxid (5.7) gelöst und das Volumen mit Dimethylsulfoxid (5.7) auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Furazolidon-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (15) ermittelt.

$$C_{\text{FURA}} = \frac{m}{10} \times P \quad (15)$$

Dabei ist

C_{FURA} die Konzentration von Furazolidon in der Standard-Stammlösung, in mg/ml;

P die vom Anbieter angegebene Reinheit des Furazolidon-Standards, in %;

ANMERKUNG Zum Beispiel 0,99.

m die gewogene Masse des Furazolidon-Standards (5.13.15), in mg.

5.14.1.17 Ronidazol

Es werden sorgfältig 10 mg des Ronidazol-Standards (5.13.16) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Ronidazol wird notiert. Die Substanz wird in 5 ml Ethanol (5.5) gelöst und das Volumen mit Ethanol (5.5) auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Ronidazol-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (16) ermittelt.

$$C_{\text{RON}} = \frac{m}{10} \times P \quad (16)$$

Dabei ist

C_{RON} die Konzentration von Ronidazol in der Standard-Stammlösung, in mg/ml;

P die vom Anbieter angegebene Reinheit des Ronidazol-Standards, in %;

ANMERKUNG Zum Beispiel 0,99.

m die gewogene Masse des Ronidazol-Standards (5.13.16), in mg.

5.14.1.18 Nigericin (IS)

Es werden sorgfältig 10 mg des Nigericin-Natrium-Standards (5.13.22) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Nigericin-Natrium wird notiert. Die Substanz wird in Methanol (5.3) gelöst und das Volumen mit Methanol (5.3) auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Nigericin-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (17) ermittelt.

$$C_{\text{NIG}} = \frac{m}{10} \times P \quad (17)$$

Dabei ist

C_{NIG} die Konzentration von Nigericin in der Standard-Stammlösung, in mg/ml;

P die vom Anbieter angegebene Reinheit des Nigericin-Natrium-Standards, in %;

ANMERKUNG Zum Beispiel 0,98.

m die gewogene Masse des Nigericin-Natrium-Standards (5.13.22), in mg.

5.14.1.19 Robenidin-D₈-Hydrochlorid (IS)

Es werden sorgfältig 10 mg des Robenidin-D₈-Hydrochlorid-Standards (5.13.18) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Robenidin-D₈-Hydrochlorid wird notiert. Die Substanz wird in Ethanol (5.5) gelöst und das Volumen mit Ethanol (5.5) auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei –20 °C in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Robenidin-D₈-Hydrochlorid-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (18) ermittelt.

$$C_{\text{ROB-D}_8} = \frac{m}{10} \times P \quad (18)$$

Dabei ist

$C_{\text{ROB-D}_8}$ die Konzentration von Robenidin-D₈ in der Standard-Stammlösung, in mg/ml;

P die vom Anbieter angegebene Reinheit des Robenidin-D₈-Hydrochlorid-Standards, in %;

ANMERKUNG Zum Beispiel 0,97.

m die gewogene Masse des Robenidin-D₈-Hydrochlorid-Standards (5.13.18), in mg.

5.14.1.20 Decoquinat-D₅ (IS)

Es werden sorgfältig 10 mg des Decoquinat-D₅-Standards (5.13.21) auf 0,1 mg in einen 10-ml-Messkolben (6.9) eingewogen. Das genaue Gewicht von Decoquinat-D₅ wird notiert. Die Substanz wird in 1%iger Calciumchloridlösung in Methanol (5.10) gelöst und das Volumen mit 1%iger Calciumchloridlösung in Methanol (5.10) auf 10 ml aufgefüllt. Die Lösung wird bei –20 °C in Fläschchen aus Braunglas (6.13) aufbewahrt. Die Lösung wird alle drei Monate frisch hergestellt.

Die genaue Konzentration der Decoquinat-D₅-Standard-Stammlösung wird unter Verwendung des vom Anbieter bereitgestellten Reinheitswertes des Referenzstandards mithilfe von Gleichung (19) ermittelt.

$$C_{\text{DEC-D}_5} = \frac{m}{10} \times P \quad (19)$$