

	Futtermittel Bestimmung des Gehalts an Organochlorpestizid-Rückständen Gaschromatographisches Verfahren (ISO 14181:2000) Deutsche Fassung EN ISO 14181:2000	DIN EN ISO 14181
ICS 65.120 Animal feeding stuffs — Determination of residues of organochlorine pesticides — Gas chromatographic method (ISO 14181:2000); German version EN ISO 14181:2000 Aliments des animaux — Détermination des teneurs en résidus de pesticides organochlorés — Méthode par chromatographie en phase gazeuse (ISO 14181:2000); Version allemande EN ISO 14181:2000 Die Europäische Norm EN ISO 14181:2000 hat den Status einer Deutschen Norm. Nationales Vorwort Diese Europäische Norm fällt in den Zuständigkeitsbereich des Technischen Komitees CEN/TC 327 „Futtermittel — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ (Sekretariat: Niederlande). Die ihr zugrunde liegende Internationale Norm ISO 14181 ist im ISO/TC 34/SC 10 „Futtermittel“ (Sekretariat: Niederlande) erarbeitet worden. Aufgrund der Ergebnisse des parallelen Abstimmungsverfahrens wurde ISO 14181 als Europäische Norm EN ISO 14181 übernommen. Eine Mitarbeit des DIN im CEN/TC 327 „Futtermittel — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ erfolgt nicht. Thematisch zuständig ist der Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL). Für die im Abschnitt 2 zitierte Internationale Norm wird im Folgenden auf die entsprechende Deutsche Norm hingewiesen: ISO 3696 siehe DIN ISO 3696 Nationaler Anhang NA (informativ) Literaturhinweise DIN ISO 3696, <i>Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen; Identisch mit ISO 3696:1987.</i> Fortsetzung 22 Seiten EN Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V.		

— Leerseite —

Deutsche Fassung

Futtermittel

**Bestimmung des Gehalts an Organochlorpestizid-Rückständen
Gaschromatographisches Verfahren
(ISO 14181:2000)**

Animal feeding stuffs — Determination of residues of
organochlorine pesticides — Gas chromatographic
method (ISO 14181:2000)

Aliments des animaux — Détermination des teneurs
en résidus de pesticides organochlorés — Méthode
par chromatographie en phase
gazeuze (ISO 14181:2000)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 15. September 2000 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 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, Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Luxemburg, Niederlande, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden, Schweiz, Spanien, der Tschechischen Republik und dem Vereinigten Königreich.



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

Management-Zentrum: rue de Stassart, 36 B-1050 Brüssel

Inhalt

	Seite
Vorwort	2
1 Anwendungsbereich	3
2 Normative Verweisungen	3
3 Prinzip	3
4 Chemikalien und Materialien	3
5 Geräte	5
6 Probenahme	6
7 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	7
8 Durchführung	7
9 Auswertung	9
10 Bestätigung der Identität	10
11 Präzision	10
12 Untersuchungsbericht	10
Anhang A (informativ) Beispiele gaschromatographischer Arbeits- bedingungen für Organochlor-Pestizide	11
Anhang B (informativ) Ergebnisse von Ringversuchen	12
Literaturhinweise	21
Anhang ZA (normativ) Normative Verweisungen auf internationale Publikationen mit ihren entsprechenden europäischen Publikationen	21
Terminologie	21

Vorwort

Der Text des Internationalen Schluss-Entwurfes ISO/FDIS 14181:2000 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Agricultural food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 327 „Futtermittel — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom NNI geführt wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis März 2001, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis März 2001 zurückgezogen werden.

Entsprechend der CEN/CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen:

Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Luxemburg, Niederlande, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden, Schweiz, Spanien, die Tschechische Republik und das Vereinigte Königreich.

Die Anhänge A und B dieser Internationalen Norm dienen nur zur Information.

Anerkennungsnotiz

Der Text der Internationalen Norm ISO 14181:2000 wurde vom CEN als Europäische Norm ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

ANMERKUNG Die normativen Verweisungen auf Internationale Normen sind im Anhang ZA (normativ) aufgeführt.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt ein gaschromatographisches Verfahren zur Bestimmung des Gehalts an Rückständen von Organochlor-Pestiziden in Futtermitteln fest.

Das Verfahren ist anwendbar auf Futtermittel, die Rückstände von einem oder mehreren der folgenden Organochlor-Pestizide und einigen ihrer Isomere und Abbauprodukte enthalten: Aldrin, *op'*-DDE, *pp'*-DDE, *op'*-DDT, *pp'*-DDT, Dieldrin, Endosulfan, Endrin, HCB, α -HCH (α -BHC), β -HCH (β -BHC), γ -HCH (γ -BHC), δ -HCH (δ -BHC), Heptachlor, Heptachlor-epoxid, *op'*-TDE (*op'*-DDD), *pp'*-TDE (*pp'*-DDD) und Methoxychlor.

Die untere Nachweisgrenze für diese Organochlor-Pestizide beträgt 0,005 µg/g. Die untere Nachweisgrenze ist jedoch für *op'*-DDT und *pp'*-DDT 0,01 µg/g und für Methoxychlor 0,05 µg/g.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden normativen Dokumente enthalten Festlegungen, die durch Verweisung in diesem Text Bestandteil der vorliegenden Internationalen Norm sind. Bei datierten Verweisungen gelten spätere Änderungen oder Überarbeitungen dieser Publikation nicht. Anwender dieser Internationalen Norm werden jedoch gebeten, die Möglichkeit zu prüfen, die jeweils neuesten Ausgaben der nachfolgend angegebenen normativen Dokumente anzuwenden. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen normativen Dokuments. Mitglieder von ISO und IEC führen Verzeichnisse der gültigen Internationalen Normen.

ISO 3696:1987, *Water for analytical laboratory use — Specification and test methods*.

ISO 6498, *Animal feeding stuffs — Preparation of test samples*.

3 Prinzip

Extraktion der Untersuchungsprobe mit Aceton. Verdünnung des filtrierten Extrakts mit Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung. Abtrennung der Pestizide in Dichlormethan. Reinigung des konzentrierten Extrakts auf einer Chromatographiesäule, die mit zu 10 % wasserdeaktiviertem Silicagel gepackt ist. Gaschromatographische Bestimmung der Pestizidrückstände mittels eines Elektroneneinfang-Detektors oder eines massenselektiven Detektors.

4 Chemikalien und Materialien

Es dürfen nur Chemikalien von anerkannter Analysenreinheit und mit einer für die Analyse von Pestizidrückständen geeigneten Reinheit verwendet werden.

Die Reinheit der Chemikalien ist durch Untersuchung einer Blindprobe unter den gleichen Bedingungen, wie sie im Verfahren angewandt werden, zu prüfen. Das Chromatogramm sollte keine störenden Verunreinigungen zeigen.

WARNHINWEIS Einige der organischen Lösemittel stehen im Verdacht, karzinogen zu sein. Sie sind vorsichtig zu handhaben.

4.1 Wasser, mindestens entsprechend der Qualität 3 nach ISO 3696.

4.2 Hexan

4.3 Aceton

4.4 Dichlormethan

4.5 Silicagel 60, mit einem Wassergehalt von 10 % (Massenanteil).

Das Silicagel 60, Teilchengröße 63 µm bis 200 µm, wird bei 130 °C aktiviert und über Nacht im Exsikkator abkühlen gelassen. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Silicagel in einen luftdichten Glasbehälter geschüttet und so viel destilliertes Wasser zugegeben, dass der endgültige Wassergehalt 10 % (Massenanteil) beträgt.

Der Behälter wird mechanisch oder von Hand 30 s kräftig geschüttelt, er wird dann bei gelegentlichem Umschütteln 30 min stehen gelassen. Nach 30 min ist das Silicagel gebrauchsfertig. Es sollte nicht länger als 6 h aufbewahrt werden.

4.6 Elutionsmittel, 20 % (Volumenanteil) Dichlormethan in Hexan.

1 Volumenteil Dichlormethan wird mit 4 Volumenteilen Hexan gemischt.

4.7 Inertgas, z. B. Stickstoff.

4.8 Natriumsulfat, wasserfrei.

4.9 Natriumchlorid, gesättigte Lösung.

4.10 Pestizid-Referenzstandards:

- Aldrin [(1R, 4S, 4aS, 5S, 8R, 8aR)-1,2,3,4,10,10-Hexachlor-1,4,4a,5,8,8a-hexahydro-1,4:5,8-dimethanonaphthalen];
- op'-DDE [op' (1,1Dichlor-2,2-bis(4-chlorphenyl)ethen)];
- pp'-DDE [pp' (1,1Dichlor-2,2-bis(4-chlorphenyl)ethen)];
- op'-DDT [op' (1,1,1-Trichlor-2,2-bis(4chlorphenyl)ethan)];
- pp'-DDT [pp' (1,1,1-Trichlor-2,2-bis(4chlorphenyl)ethan)];
- Dieldrin [(1R, 4S, 4aS, 5R, 6R, 7S, 8S, 8aR)-1,2,3,4,10,10-Hexachlor-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-6,7-epoxy-1,4 5,8-dimethanonaphthalen];
- Endosulfan (6,7,8,9,10,10-Hexachlor-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,4,3-benzodioxathiepin-3-oxid);
- Endrin [(1R, 4S, 4aS, 5S, 6S, 7R, 8R, 8aR)-1,2,3,4,10,10-Hexachlor-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-6,7-epoxy-1,4:5,8-dimethanonaphthalen];
- HCB (Hexachlorbenzen);
- α -HCH (α -BHC) (α -1,2,3,4,5,6-Hexachlorcyclohexan);
- β -HCH (β -BHC) (β -1,2,3,4,5,6-Hexachlorcyclohexan);
- γ -HCH (γ -BHC; Lindan) (γ -1,2,3,4,5,6-Hexachlorcyclohexan);
- δ -HCH (δ -BHC) (δ -1,2,3,4,5,6-Hexachlorcyclohexan);
- Heptachlor (1,4,5,6,7,8,8-Heptachlor-3a,4,7,7a-tetrahydro-4,7-methanoinden);
- Heptachlor-Epoxid (Heptachlorepoxy-Tetrahydromethanoinden);
- op'-TDE [op'-DDD] (op'-1,1Dichlor-2,2-bis(4chlorphenyl)ethan);
- pp'-TDE (pp'-DDD) (pp'-1,1Dichlor-2,2-bis(4chlorphenyl)ethan);
- Methoxychlor 1,1,1-Trichlor-2,2-bis(4-methoxyphenyl)ethan].

4.11 Innerer Standard: Mirex (1,3,5-Tribrombenzen) oder Pentachlornitrobenzen.

4.12 Pestizid-Standardlösungen

4.12.1 Stammlösungen einer Konzentration von 1 000 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Von jedem Pestizid-Referenzstandard (4.10) und inneren Standard (4.11) wird, wie nachfolgend beschrieben, eine Stammlösung hergestellt.

Eine Menge des Pestizid-Referenzstandards (4.10) oder des Inneren Standards (4.11) wird auf 0,1 mg eingewogen, so dass die Konzentration der erhaltenen Lösungen 1 000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ beträgt. Beim Wägen ist das Referenzmaterial auf seine Reinheit hin zu überwachen. Die eingewogene Masse wird in einen

Messkolben übergeführt, in Hexan oder einem anderen Lösemittel wie Toluol oder Iso-Octan gelöst, β -HCH wird jedoch in Aceton gelöst. Mit dem gleichen Lösemittel wird auf das Volumen aufgefüllt und gut durchmischt.

Bei Lagerung im Dunkeln bei 4 °C sind diese Lösungen sechs Monate stabil.

4.12.2 Zwischenlösungen einer Konzentration von 10 µg/ml.

Von jeder Stammlösung (4.12.1) wird jeweils 1 ml in einen einzelnen 100-ml-Messkolben pipettiert.

Das Volumen wird mit Hexan aufgefüllt. Die Lösungen sind für mindestens drei Monate stabil, wenn sie dunkel bei 4 °C gelagert werden.

ANMERKUNG Die Haltbarkeit richtig gelagerter Pestizid-Standards ist weitestgehend bekannt. Untersuchungen haben gezeigt, dass alle geprüften unverdünnten Pestizid-Standards 15 Jahre haltbar sind, wenn diese bei – 18 °C gelagert werden.

Stammlösungen von Pestizid-Standards in Toluol mit einem Massenanteil von 1 mg/ml sind mindestens drei Jahre haltbar, wenn sie bei – 18 °C gelagert werden.

Im Hinblick auf eine längere Lagerdauer kann wie folgt vorgegangen werden. Teile der vorbereiteten Standardlösungen werden in braune Flaschen mit PTFE-ausgekleideten Schraubverschlüssen gegeben. Die Flaschen werden gewogen und bei – 20 °C aufbewahrt. Bei Bedarf wird eine Flasche aus dem Gefrierschrank entnommen, auf Raumtemperatur gebracht und gewogen. Falls der evaporationsbedingte Massenverlust der Nettomasse vor dem Einfrieren 10 % oder mehr beträgt, wird die Flasche verworfen. Stammlösungen und Zwischenlösungen, die mehr als drei Monate in Gebrauch sind, werden gewogen und erneut eingefroren (üblicherweise in 25-ml-Flaschen). Anderenfalls können die vorbereiteten Standardlösungen (üblicherweise in 2-ml-Flaschen) bei 4 °C gelagert werden und müssen nach drei Monaten verworfen werden.

4.12.3 Arbeitslösung einer Konzentration von 0,05 µg/ml.

0,5 ml jeder Zwischenlösung (4.12.2) wird in einen 100-ml-Messkolben pipettiert. Das Volumen wird bis zur Marke mit Hexan aufgefüllt. Die Lösung ist einen Monat stabil, wenn sie bei 4 °C im Dunkeln gelagert wird (siehe 4.12.2).

5 Geräte

Vor Gebrauch werden alle Glasgeräte mit einer von störenden Substanzen freien Reinigungslösung gewaschen, mit Wasser und danach mit Aceton nachgespült und getrocknet.

Die Verwendung von Kunststoffgefäßen ist zu vermeiden und die Hähne sind nicht mit Fetten zu schmieren, andernfalls könnten Verunreinigungen in die Lösemittel eingebracht werden.

Die übliche Laborausrüstung und besonders folgende Geräte.

5.1 Scheidetrichter, Nennvolumen 500 ml und 1 000 ml, mit Verschlussähnen und Stopfen aus Polytetrafluorethylen (PTFE).

5.2 Saugflaschen, Nennvolumen 500 ml.

5.3 Büchner-Trichter aus Porzellan, Innendurchmesser 90 mm.

5.4 Messzylinder, Nennvolumen 10 ml, mit Stopfen aus Polytetrafluorethylen (PTFE).

5.5 Glas-Chromatographiesäule, etwa 300 mm Länge, Innendurchmesser 8 mm bis 10 mm, mit grober Sinterglasplatte, Porosität P 100 (Porengrößenindex 40 µm bis 100 µm [2]) oder Verschluss aus Glaswolle.

5.6 Vakuum-Rotationsverdampfer mit 100-ml- und 500-ml-Rundkolben und Wasserbad von (40 ± 2) °C.

5.7 Mechanisches Schüttelgerät oder Schnellmischer.

5.8 System zur Gaschromatographie, bestehend aus:

- splitlosem oder „On-column“-Injektionssystem;
- Säule;
- Elektroneneinfang-Detektor oder massenselektivem Detektor;
- Elektrometer;
- mV-Recorder oder Integrator;
- Datenverarbeitungssoftware und Computersystem.

Der Injektor, der Säulenofen und der Detektor müssen jeweils mit einer unabhängigen Heizeinrichtung ausgestattet sein, die auf 0,1 °C einstellbar ist.

Das Chromatographiesystem muss nach den Parametern des verwendeten Geräts eingestellt und seine Parameter müssen dementsprechend optimiert sein.

5.8.1 Injektionsvorrichtung

Es darf ein automatisches Injektionssystem oder jede andere gleichwertige Injektionsvorrichtung verwendet werden.

Bei manueller Injektion wird eine Mikro-Injektionsspritze mit 1 µl bis 10 µl Nennvolumen und einer für den Injektionsmodus (splitlos oder „on-column“) geeigneten Nadellänge verwendet. Vor dem Injizieren in den Gaschromatographen wird die Spritze zehnmal mit reinem Lösemittel, danach fünfmal mit der Lösung gespült. Nach dem Injizieren wird die Spritze fünfmal mit reinem Lösemittel gespült.

5.8.2 Säule

Die Verwendung von mit stationären Phasen mittlerer Polarität (z. B. SE-30, SE-54, OV 17) beschichteten oder gleichwertigen Säulen wird empfohlen.

Als Alternative könnten Standard-Glassäulen von 2 m bis 4 m Länge und 2 mm bis 4 mm Innendurchmesser, gepackt mit einem Gemisch von 2,5 % QF1 + 1 % OV 11 + 0,5 % XE 60 auf Chromosorb WHP, Teilchengröße 0,125 mm bis 1,15 mm, verwendet werden, oder aber jede andere stationäre Phase und inerte Trägersubstanz, die für Analysen von Pestizidrückständen empfohlen wird.

Das Temperaturprogramm für die Säule muss so gewählt werden, dass das im Abschnitt 1 festgelegte Pestizidgemisch in Einzelkomponenten getrennt wird (siehe Anhang A).

Nach Aufbau einer neuen Säule muss diese mindestens 24 h bei einer leicht oberhalb der vorgeschlagenen Betriebshöchsttemperatur liegenden Temperatur konditioniert werden, wobei Trägergas durch sie fließt und das Säulenende vom Detektor getrennt ist.

5.8.3 Detektor

Es wird ein Elektroneneinfangdetektor (ECD) verwendet, der entweder im Modus konstanter Strom oder im Modus konstante Frequenz arbeitet; Einstellung der Polarisationsspannung, der Breite, Amplitude oder Frequenz der Pulsationen auf die Werte, bei denen eine Maximalmenge von 0,2 ng Heptachlor-epoxid 40 % bis 50 % des vollen Skalenausschlages auslöst.

5.8.4 Trägergas und Make-up-Gas

Reiner Stickstoff (sauerstofffrei), reines Helium oder reiner Wasserstoff, oder ein Gemisch aus Argon und Methan [90 + 10 Volumenanteil oder (95 + 5) % Volumenanteil].

5.9 Mühle

6 Probenahme

Es ist wichtig, dass das Laboratorium eine Probe erhält, die tatsächlich repräsentativ ist und während des Transportes oder der Lagerung nicht beschädigt oder verändert wurde.

Die Probenahme ist kein Teil des in dieser Internationalen Norm festgelegten Verfahrens. Ein zu empfehlendes Verfahren zur Probenahme ist in ISO 6497 [1] angegeben.