

	Futtermittel Bestimmung von Organophosphorpestizid-Rückständen Gaschromatographisches Verfahren (ISO 14182:1999) Deutsche Fassung EN ISO 14182:1999	DIN EN ISO 14182
ICS 65.120 Animal feeding stuffs — Determination of residues of organophosphorus pesticides — Gas chromatographic method (ISO 14182:1999); German version EN ISO 14182:1999 Aliments des animaux — Détermination des résidus de pesticides organo-phosphorés — Méthode par chromatographie en phase gazeuse (ISO 14182:1999); Version allemande EN ISO 14182:1999 Die Europäische Norm EN ISO 14182:1999 hat den Status einer Deutschen Norm. Nationales Vorwort Diese Europäische Norm fällt in den Zuständigkeitsbereich des Technischen Komitees CEN/TC 327 „Tierfuttermittel — Probenahmeverfahren und Untersuchungsverfahren“ (Sekretariat: Niederlande). Die ihr zugrundeliegende Internationale Norm ISO 14182 ist im ISO/TC 34/SC 10 „Futtermittel“ (Sekretariat: Niederlande) erarbeitet worden. Aufgrund der Ergebnisse des parallelen Abstimmungsverfahrens wurde ISO 14182 als Europäische Norm EN ISO 14182 übernommen. Eine Mitarbeit des DIN im CEN/TC 327 „Tierfuttermittel — Probenahmeverfahren und Untersuchungsverfahren“ erfolgt nicht. Thematisch zuständig ist der Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL). Für die im Abschnitt 2 zitierten Internationalen Normen wird im folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen: ISO 3696 siehe DIN ISO 3696 Nationaler Anhang NA (informativ) Literaturhinweise DIN ISO 3696 Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen; Identisch mit ISO 3696:1987 Fortsetzung 15 Seiten EN Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.		

— Leerseite —

Deutsche Fassung

Futtermittel

Bestimmung von Organophosphorpestizid-Rückständen
Gaschromatographisches Verfahren
(ISO 14182:1999)

Animal feeding stuffs — Determination of residues of organophosphorus pesticides — Gas chromatographic method (ISO 14182:1999)

Aliments des animaux — Détermination des résidus de pesticides organo-phosphorés — Méthode par chromatographie en phase gazeuse (ISO 14182:1999)

Diese Europäische Norm wurde von CEN am 1999-12-15 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 Zentralsekretariat 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 Zentralsekretariat 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.

CEN

EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG

European Committee for Standardization
Comité Européen de Normalisation

Zentralsekretariat: rue de Stassart 36, B-1050 Brüssel

Inhalt

	Seite		Seite
Vorwort	2	11 Präzision	6
1 Anwendungsbereich	2	12 Untersuchungsbericht	6
2 Normative Verweisungen	2	Anhang A (informativ)	
3 Prinzip	2	Beispiele von gaschromatographischen	
4 Chemikalien und Hilfsstoffe	2	Arbeitsbedingungen für	
5 Geräte	4	Organophosphorpestizide	7
6 Probenahme	5	Anhang B (informativ)	
7 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	5	Ergebnisse von Ringversuchen	7
8 Durchführung	5	Literaturhinweise	15
9 Auswertung	6	Anhang ZA (normativ)	
10 Bestätigung der Identität	6	Normative Verweisungen auf internationale	
		Publikationen mit ihren entsprechenden	
		europäischen Publikationen	15

Vorwort

Der Text der Internationalen Norm ISO 14182:1999 vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Agricultural food products“ der International Organization for Standardization (ISO) wurde als Europäische Norm durch das Technische Komitee CEN/TC 327 „Tierfuttermittel — Probenahmeverfahren 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 2000-06, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis 2000-06 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.

Anerkennungsnotiz

Der Text der Internationalen Norm ISO 14182:1999 wurde von 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 von Organophosphorpestizid-Rückständen in Futtermitteln fest.

Das Verfahren ist auf Futtermittel anwendbar, die Rückstände von einem oder mehreren der folgenden Organophosphorpestizide enthalten: Azinphos-Ethyl, Azinphos-Methyl, Bromphos, Carbophenothion, Chlorpyrifos, Chlorpyrifos-Methyl, Diazinon, Dimethoat, Ethion, Fonofos, Malathion, Methidathion, Parathion, Parathion-Methyl, Pirimiphos-Ethyl und Pirimiphos-Methyl.

Die untere Nachweisgrenze für diese Organophosphorpestizide ist 0,01 µg/g.

ANMERKUNG: Das Verfahren ist wahrscheinlich ebenso auf andere Organophosphorpestizide wie Methacryfos und Fenitrothion anwendbar, wurde jedoch für diese Pestizide nicht validiert.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden normativen Dokumente enthalten Festlegungen, die durch Verweisung in diesem Text Bestandteil der vorliegenden Internationalen Norm sind. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieser Internationalen Norm waren die angegebenen Ausgaben gültig. Alle normativen Dokumente unterliegen der Überarbeitung. Vertragspartner, deren Vereinbarungen auf dieser Internationalen Norm basieren, werden gebeten, die Möglichkeit zu prüfen, ob die jeweils neuesten Ausgaben der im folgen-

den genannten Normen angewendet werden können. Die Mitglieder von IEC und ISO führen Verzeichnisse der gegenwärtig gültigen Internationalen Normen.

ISO 3696

Water for analytical laboratory use — Specification and test methods

ISO 6498

Animal feeding stuffs — Preparation of test samples

3 Prinzip

Extraktion der Untersuchungsmenge mit Aceton. Verdünnen des filtrierten Extraktes mit Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung. Abtrennen der Pestizide in Dichlormethan. Reinigung des konzentrierten Extraktes auf einer chromatographischen Säule, die mit zu 10 % wasserdeaktiviertem Silicagel gepackt ist. Gaschromatographische Bestimmung mit einem phosphorselektiven Detektor.

4 Chemikalien und Hilfsstoffe

Es dürfen nur Chemikalien von anerkannter Analysenreinheit und mit einer Reinheit verwendet werden, die zur Analyse von Pestizidrückständen geeignet ist.

Die Reinheit der Chemikalien wird mit einer unter den gleichen Bedingungen wie bei der Analyse erfolgenden Blindwertbestimmung überprüft. Das Chromatogramm sollte keine Anzeichen störender Verunreinigungen zeigen.

Warnhinweis: Einige organische 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 Ethylacetat

4.6 Silicagel, mit einem Massenanteil an Wasser von 10 %.

Das Silicagel 60, Teilchengröße 63 µm bis 200 µm, wird über Nacht bei 130 °C aktiviert und in einem Exsikkator abgekühlt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das Silicagel in ein luftdichtes Glasgefäß geschüttet, und es wird eine entsprechende Menge Wasser hinzugefügt, um den endgültigen Massenanteil an Wasser auf 10 % zu bringen. Das Gefäß wird 30 s kräftig mechanisch oder manuell geschüttelt und unter gelegentlichem Schütteln 30 min stehengelassen. Nach 30 min ist das Silicagel gebrauchsfertig. Es darf nicht länger als 6 h aufbewahrt werden.

4.7 Elutionsmittel, Dichlormethan in Hexan (50 % Volumenanteil).

Gleiche Volumina Dichlormethan (4.4) und Hexan (4.2) wurden gemischt.

4.8 Inertgas, z. B. Stickstoff.

4.9 Natriumsulfat, wasserfrei.

4.10 Gesättigte Natriumchloridlösung

4.11 Pestizid-Referenzstandards, wie folgt:

- Azinphos-Ethyl [S-(3,4-dihydro-4-oxobenzo[d]/[1,2,3]-triazin-3-ylmethyl)-0,0-diethyl-phosphorothioat];
- Azinphos-Methyl [S-(3,4-dihydro-4-oxobenzo[d]/[1,2,3]-triazin-3-ylmethyl)-0,0-dimethyl-phosphorothioat];
- Bromophos [0-4-Bromo-2,5-dichlorophenyl-0,0-dimethylphosphorothioat];
- Carbophenothion [S-4-chlorphenylthiomethyl-0,0-diethylphosphorothioat];
- Chlorpyrifos [0,0-Diethyl-0-(3,5,6-trichlor-2-pyridyl)-phosphorothioat];
- Chlorpyrifos-Methyl [0,0-Dimethyl-0-(3,5,6-trichlor-2-pyridyl)phosphorothioat];
- Diazinon [0,0-Diethyl-0-(2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidin-4-yl)phosphorothioat];
- Dimethoat [0,0-Dimethyl-S-methyl-carbamoylmethyl-phosphorothioat];
- Ethion [0,0,0',0'-Tetraethyl-S,S-methylendi(phosphorodithioat)];
- Fonofos [0-Ethyl-S-phenylethyl-phosphorodithioat];
- Malathion [Diethyl(dimethoxythiophosphorylthio)-succinat];
- Methidathion [S-2,3-Dihydro-5-methoxy-2-oxo-(1,3,4-thia-3-diazolylmethyl)-0,0-dimethylphosphorodithioat];
- Parathion [0,0-Diethyl-0-(4-nitrophenyl)phosphorothioat];

- Parathion-methyl [0,0-Dimethyl-0-(4-nitrophenyl)phosphorothioat];
- Pirimiphos-Ethyl [0-(2-(Diethylamino)-6-methyl-4-pyrimidinyl)-0,0-diethylphosphorothioat];
- Pirimiphos-Methyl [0-(2-(Diethylamino)-6-methyl-4-pyrimidinyl)-0,0-dimethylphosphorothioat].

ANMERKUNG: Die allgemeinen Namen und chemischen Namen (in eckigen Klammern) entsprechen der IUPAC-Nomenklatur nach ISO 1750 [1].

4.12 Innerer Standard: Tributylphosphat.

4.13 Pestizid-Standardlösungen

4.13.1 Stammlösungen einer Konzentration von 1 000 µg/l.

Von jedem Pestizid-Referenzstandard (4.11) und inneren Standard (4.12) wird, wie nachfolgend beschrieben, eine Stammlösung hergestellt.

Eine Masse des Pestizid-Referenzstandards (4.11) oder des inneren Standards (4.12) wird auf 0,1 mg eingewogen, so daß die Konzentration der erhaltenen Lösungen 1 000 µg/ml beträgt. Beim Wägen ist das Referenzmaterial auf seine Reinheit hin zu überwachen. Die eingewogene Masse wird in Meßkolben übergeführt, in Ethylacetat (4.5) gelöst und das Volumen bis zur Marke mit Ethylacetat (4.5) aufgefüllt.

Diese Lösungen sind sechs Monate haltbar, sofern sie im Dunkeln bei 4 °C aufbewahrt werden.

4.13.2 Zwischenlösungen einer Konzentration von 10 µg/ml.

Von jeder Stammlösung (4.13.1) wird jeweils 1 ml in einen einzelnen 100-ml-Meßkolben pipettiert. Das Volumen wird bis zur Marke mit Ethylacetat (4.5) aufgefüllt. Die Lösungen sind einen Monat haltbar, sofern diese im Dunkeln bei 4 °C aufbewahrt werden.

ANMERKUNG: Die Haltbarkeit richtig gelagerter Pestizid-Standards ist weitestgehend bekannt. Untersuchungen haben gezeigt, daß alle geprüften unverdünnten Pestizid-Standards fünfzehn Jahre haltbar sind, wenn diese bei –18 °C gelagert werden. Ebenso sind Stammlösungen von Pestizid-Standards in Toluol mit einem Massenanteil von 1 mg/kg mindestens drei Jahre haltbar, wenn diese bei –18 °C gelagert werden.

Im Hinblick auf eine längere Lagerungsdauer empfiehlt sich folgendes Vorgehen: Anteile der vorbereiteten Standardlösungen werden in gelbbraune (Glas-)Fläschchen eingebracht, die mit PTFE-ausgekleideten Schraubverschlüssen versehen sind. Die (Glas-)Fläschchen werden gewogen und bei –20 °C gelagert. Bei Bedarf wird ein (Glas-)Fläschchen aus dem Gefrierschrank entnommen, auf Raumtemperatur gebracht und gewogen. Falls der evaporationsbedingte Masseverlust die Nettomasse vor dem Einfrieren um 10 % oder mehr übersteigt, wird das (Glas-)Fläschchen verworfen. Stammlösungen und Zwischenlösungen, die über einen Monat verwendet wurden (üblicherweise in 25-ml-(Glas-)Fläschchen), sind zu wägen und erneut einzufrieren. Anderenfalls dürfen die vorbereiteten Standardlösungen (üblicherweise in 2-ml-(Glas-)Fläschchen) bei 4 °C gelagert werden und sind nach einem Monat zu verwerfen.

4.13.3 Arbeitslösungen einer Konzentration von 0,5 µg/ml.

Von jeder Zwischenlösung (4.13.2) werden 5 ml in einen 100-ml-Meßkolben pipettiert und das Volumen bis zur

Marke mit Ethylacetat (4.5) aufgefüllt. Die Lösungen sind einen Monat haltbar, sofern diese im Dunkeln bei 4 °C aufbewahrt werden (siehe 4.13.2).

4.14 Blindprobenlösungen vom gleichen Typ wie die zu untersuchenden Proben, jedoch frei von nachzuweisenden Pestiziden aus vorangegangenen Bestimmungen.

5 Geräte

Zum Entfernen von Störsubstanzen werden sämtliche Glasgeräte vor Gebrauch gründlich mit Reinigungsmittel gereinigt, mit Wasser und anschließend mit Aceton gespült und getrocknet.

Die Verwendung von Kunststoffgefäßen und das Schmie-
ren der Hähne mit Hahnfett ist zu vermeiden, andernfalls könnten Verunreinigungen in die Lösemittel eingetragen werden.

Übliche Laborgeräte sowie:

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

5.2 Saugflaschen, Nennvolumen 500 ml.

5.3 Büchner-Trichter aus Porzellan, 90 mm Innendurchmesser.

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

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

5.6 Rotationsverdampfer, ausgestattet mit Rundkolben von 100 ml und 500 ml Nennvolumen und einem Wasserbad von 40 °C.

5.7 Mechanisches Schüttelgerät oder Schnellmischer

5.8 Gaschromatograph

5.8.1 Komponenten

Das System muß umfassen:

- splitloses oder „On-column“-Injektionssystem;
- Säule;
- phosphorselektiven oder massenselektiven Detektor;
- Elektrometer;
- mV-Recorder oder Integrator;
- Datenverarbeitungssoftware und Computersystem.

Injektorblock, Säulenofen und Detektor müssen jeweils mit einer eigenen, auf $\pm 0,1$ °C geregelten Heizeinrichtung ausgestattet sein.

Der Gaschromatograph muß nach den Kennwerten des verwendeten Gerätes eingerichtet sein, und dementsprechend müssen die Parameter optimiert sein.

5.8.2 Bedingungen

Die Temperaturen von Injektorblock und Detektor müssen nach den Anweisungen des Herstellers 220 °C bis 240 °C bzw. 180 °C bis 380 °C betragen.

Beim Abtrennen von Organophosphorverbindungen mit einer Kapillarsäule wird für den Säulenofen ein Temperaturprogramm empfohlen.

5.8.3 Injektionsvorrichtung

Ein automatisches Injektionssystem oder jede andere geeignete Injektionsvorrichtung darf verwendet werden.

Im Falle einer manuellen Injektion wird eine Mikrospritze mit einem Volumen von 1 µl bis 5 µl und einer für den Injektionsmodus (splitlos oder „on-column“) geeigneten Nadellänge verwendet.

Bevor die Lösung in den Gaschromatograph injiziert wird, wird die Spritze zehnmal mit reinem Lösemittel und dann fünfmal mit der Lösung gespült. Nach dem Injizieren wird die Spritze fünfmal mit reinem Lösemittel gespült.

5.8.4 Säule

Empfohlen wird die Verwendung von Kapillarsäulen mit stationären Phasen von nichtpolar bis mittlerer Polarität, z. B. SE-30, SE-54, OV-17 oder gleichwertige Säulen.

Alternativ können Norm-Glassäulen von 2 m bis 4 m Länge und mit einem Innendurchmesser von 2 mm bis 4 mm, gepackt mit 10 % DC-200 auf Chromosorb WHP von 0,15 mm bis 0,18 mm Teilchengröße, oder ein Gemisch von 2 % QF1 und 1,5 % DC-200 auf Chromosorb WHP von 0,125 mm bis 1,15 mm Teilchengröße, oder alle übrigen für Organophosphor-Rückstandsanalysen empfohlenen stationären Phasen und inerten Trägermaterialien verwendet werden.

Das Temperaturprogramm der Säule muß so gewählt werden, daß das in Abschnitt 1 festgelegte Pestizidgemisch in einzelne Bestandteile (siehe Anhang A) getrennt wird.

Nach Einbau einer neuen Säule muß diese mit durch sie hindurchströmendem Trägergas mindestens 48 h bei einer Temperatur leicht oberhalb der vorgeschlagenen Betriebstemperatur konditioniert werden.

5.8.5 Detektor

Ein phosphorselektiver Detektor [Flammenphotometerdetektor (FPD) oder Thermo-Ionisationsdetektor (Stickstoff-Phosphor-Detektor) in P-Betriebsweise], mit einer Mindestnachweisgrenze von P-Verbindungen von 50 pg wird verwendet.

5.8.6 Trägergas

Es wird reiner Stickstoff, reines Helium oder reiner Wasserstoff verwendet.

Das Trägergas wird durch Hindurchleiten durch Kühlfallen, die mit zuvor für 4 h bis 8 h bei 350 °C aktivierten 0,5 nm Molekularsieben gefüllt und in die Trägergasleitung eingebaut sind, getrocknet.

Die Molekularsiebe werden jedesmal, sobald eine neue Druckgasflasche angeschlossen wird und sooft es notwendig ist, reaktiviert.

5.8.7 Hilfsgase

Es werden Wasserstoff und Luft verwendet.

5.8.8 Überprüfung der Linearität des Systems

Die Linearität des Systems wird im Bereich von 0,1 ng bis 2 ng Parathion überprüft.

Es werden Arbeitslösungen mit Parathiongehalten von 0,05 µg/l bis 1,0 µg/l hergestellt. Es werden 2 µl injiziert.

Aufgetragen wird die Peakgröße (Fläche oder Höhe) gegen die Masse des injizierten Parathions, in ng. Die graphische Darstellung muß eine gerade Linie durch den Ursprung ergeben. Falls nicht, wird der Bereich an Konzentrationen ermittelt, in dem die Detektorresponse linear ist.