

DIN EN 15741



ICS 65.120

Entwurf

Einsprüche bis 2018-10-03
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN 15741:2009-06

**Futtermittel: Probenahme- und Untersuchungsverfahren –
Bestimmung von OCP und PCB mittels GC/MS;
Deutsche und Englische Fassung prEN 15741:2018**

Animal feeding stuffs: Methods of sampling and analysis –
Determination of OCPs and PCBs by GC/MS;
German and English version prEN 15741:2018

Aliments des animaux: Méthodes d'échantillonnage et d'analyse –
Détermination des OCP et des PCB par CPG/SM;
Version allemande et anglaise prEN 15741:2018

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2018-08-03 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, 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 122 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 15741:2018) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 327 „Futtermittel — Probenahme- 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).

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 internationalen Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 5725-2:1994	siehe DIN ISO 5725-2:2002-12
ISO 5725-5:1998	siehe DIN ISO 5725-5:2002-11

Änderungen

Gegenüber DIN EN 15741:2009-06 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Einleitung neu aufgenommen;
- b) Abschnitt 3 „Begriffe“ wurde redaktionell überarbeitet und aktualisiert;
- c) Hinsichtlich nicht dioxinähnlicher PCB (ndl-PCBs) wurden zwei Verfahren in das Dokument aufgenommen (Unterabschnitt 4.2 und 4.3), nach denen vorgegangen werden kann. Verfahren 1 bezieht sich auf die ursprünglichen Extraktions- und Reinigungsverfahren aus der vorherigen Ausgabe dieser Norm, jedoch kombiniert mit empfindlicheren Ermittlungsverfahren. Im Verfahren 2 wurden die Extraktions- und Reinigungsverfahren modifiziert, um die Prüfmenge zu erhöhen. Der Nachweis des Verfahrens 2 bezieht sich auf das ursprüngliche Nachweisverfahren aus der vorherigen Ausgabe dieser Norm;
- d) Abschnitt 12 „Untersuchungsbericht“ wurde überarbeitet/aktualisiert;
- e) früherer Anhang B „Beschreibung des PTV-Injektionssystems (falls dieses zur Verfügung steht)“ wurde zum Anhang A;
- f) Anhang B „Ringversuch“ überarbeitet und aktualisiert (ehemals Anhang A);
- g) Literaturhinweise überarbeitet/aktualisiert;
- h) Norm redaktionell überarbeitet und den derzeit gültigen Gestaltungsregeln angepasst.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN ISO 5725-2:2002-12, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für die Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens (ISO 5725-2:1994 einschließlich Technisches Korrigendum 1:2002)*

DIN ISO 5725-5:2002-11, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 5: Alternative Methoden für die Ermittlung der Präzision eines vereinheitlichten Messverfahrens (ISO 5725-5:1998)*

— Leerseite —

Futtermittel: Probenahme- und Untersuchungsverfahren — Bestimmung von OCP und PCB mittels GC/MS

Aliments des animaux: Méthodes d'échantillonnage et d'analyse — Détermination des OCP et des PCB par CPG/SM

Animal feeding stuffs: Methods of sampling and analysis — Determination of OCPs and PCBs by GC/MS

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm

Dokument-Untertyp:

Dokument-Stage: CEN-Umfrage

Dokument-Sprache: D

STD Version 2.9d

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	8
3 Begriffe	9
4 Kurzbeschreibung	9
4.1 Allgemeines	9
4.2 ndl-PCB; Verfahren 1	10
4.3 ndl-PCB; Verfahren 2	10
5 Reagenzien und Materialien	10
5.1 Allgemeines	10
5.2 Chemikalien	10
5.2.1 Ethylacetat	10
5.2.2 Cyclohexan	10
5.2.3 Ethylacetat/Cyclohexan = 1 + 1, Volumenteile	10
5.2.4 Hexan	10
5.2.5 Decan	11
5.2.6 Hexan/Decan = 95 + 5, Volumenteile	11
5.2.7 Isooctan	11
5.2.8 Toluol	11
5.2.9 Silicagel, desaktiviert mit 3,5 % Wasser	11
5.2.10 Hexan/Toluol = 3 + 7, Volumenteile	11
5.2.11 Konzentrierte H ₂ SO ₄	11
5.2.12 Interner Standard (PCB 209)	11
5.3 Interne Standards (mit ¹³ C massenmarkierte PCB)	12
5.3.1 Interne Standards (mit ¹³ C massenmarkierte PCB), 1 000 ng/ml	12
5.3.2 Interne Standards (mit ¹³ C massenmarkierte PCB), 100 ng/ml	12
5.4 Standard-Stammlösung der PCB-Kongenere	12
5.4.1 Standard-Stammlösung der PCB-Kongenere, 10 µg/ml	12
5.4.2 Arbeits-Standardlösung der PCB-Kongenere, 2,0 µg/ml	12
5.4.3 Arbeits-Standardlösung der PCB-Kongenere, 0,2 µg/ml	12
5.5 Referenzstandards der OC-Pestizide, wie folgt:	13
5.5.1 Pestizid-Stammlösung 1, 100 µg/ml	15
5.5.2 Pestizid-Stammlösung 2, 2,5 µg/ml	15
5.5.3 Pestizid-Arbeitslösung, 0,5 µg/ml	15
5.6 Kalibrierlösungen	15
5.7 Glasfläschchen, 100 ml, mit PTFE-beschichteten Schraubverschlüssen	16
5.8 Glaswolle	16
5.9 Natriumsulfat, wasserfrei	16
5.10 Heliumgas, Reinheitsgrad 5,0 oder höher	16
5.11 Stickstoffgas, Reinheitsgrad 5,0 oder höher	16
5.12 GC-Probenfläschchen, 2 ml	16
5.13 Messglasverdampfungsröhrchen, 50 ml	16
5.14 Chromatographieröhre, Glas oder PTFE	16

5.15	Autosampler-Fläschchen, mit Einspritzteil zur begrenzten Volumenaufgabe	16
5.16	Glasröhrchen, etwa 50 ml.....	16
5.17	Glasröhrchen, etwa 4 ml	16
5.18	Natriumsulfat, wasserfrei.....	16
6	Geräte.....	16
6.1	Allgemeines	16
6.2	Analysenwaage, Fehlergrenze 0,01 mg	17
6.3	Analysenwaage, Fehlergrenze 10 mg.....	17
6.4	Mechanisches Schüttelgerät.....	17
6.5	GPC-Probenreinigungssystem	17
6.5.1	HPLC-Pumpe.....	17
6.5.2	Automatisches Injektionssystem.....	17
6.5.3	GPC-Säule.....	17
6.5.4	Fraktionssammler	17
6.6	Verdampfungssystem, ausgerüstet mit 50-ml-Messglasröhrchen und Stickstoffgas	17
6.7	Verdampfungsblock, ausgerüstet mit Heizgerät und Stickstoffgas	17
6.8	Gaschromatograph-Massenspektrometer (einzelner Quadrupol)	17
6.8.1	Allgemeines	17
6.8.2	Massenspektrometer — SIM-Arbeitsweise.....	18
6.9	Gaschromatograph-Massenspektrometer (Dreifach-Quadrupol)	19
6.9.1	Allgemeines	19
6.9.2	Massenspektrometer	19
7	Probenahme	21
8	Vorbereitung der Untersuchungsprobe.....	21
9	Durchführung	21
9.1	Allgemeines	21
9.2	Prüfmengen von Futtermittel- und von Ölproben	22
9.2.1	Prüfmenge des Futtermittels	22
9.2.2	Prüfmenge von 1 g Öl	22
9.3	Extraktion der Futtermittel-Prüfmenge	22
9.3.1	Organochlorpestizide und ndl-PCB (Verfahren 1).....	22
9.3.2	ndl-PCB (Verfahren 2)	23
9.4	Reinigung.....	23
9.4.1	Gelpermeationschromatographie-Reinigung.....	23
9.4.2	Vorbereitung des GPC-Systems	23
9.4.3	Reinigung.....	23
9.4.4	Säulenchromatographie mit teilweise deaktiviertem Siliciumoxid.....	23
9.5	Gaschromatographie.....	24
9.5.1	Vorbereitung des Systems.....	24
9.5.2	Prüfung der Geräteeinstellungen.....	24
9.5.3	Prüfung der Empfindlichkeit des Systems	24
9.5.4	Bestimmung.....	24
10	Berechnung und Angabe der Ergebnisse	24
10.1	Allgemeines	24
10.2	Kalibrierkriterien	25
10.3	Identifizierung und Bestätigung	25
10.4	Berechnung.....	25
10.5	Wiederfindungsrate	27
11	Präzision.....	28
11.1	Ringversuch.....	28
11.2	Wiederholpräzision und Präzision innerhalb der teilnehmenden Laboratorien	28
11.3	Vergleichpräzision und Präzision zwischen den teilnehmenden Laboratorien.....	28

12	Untersuchungsbericht	28
13	Wichtige Überlegungen zu diesem Verfahren	29
13.1	Alternative Extraktionstechniken	29
13.2	Andere Mengen an Siliciumoxid	29
13.3	Anderer Reinigungsschritt	29
13.4	Anderer Interner Standard	29
13.5	Optimale GC-MS/MS-Einstellungen	29
Anhang A (informativ) Beschreibung des PTV-Injektionssystems (falls dieses zur Verfügung steht)		30
A.1	Probenvorbereitungsverfahren	30
A.2	Bedingungen der PTV-Injektion bei Anwendung der 50-µl-Injektion (Extrakte sind in Hexan/Decan gelöst (95/5, [5.2.5])	30
Anhang B (informativ) Ringversuch		32
Literaturhinweise		58

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 15741:2018) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 327 „Futtermittel — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NEN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN 15741:2009 ersetzen.

Im Vergleich zur vorherigen Ausgabe wurden folgende technische Änderungen vorgenommen:

In Bezug auf nicht-dioxinähnliche PCB (ndl-PCB) enthält dieses Dokument zwei Ansätze, die verfolgt werden können. Verfahren 1 betrifft die ursprünglichen Extraktions- und Reinigungsverfahren der früheren Ausgabe dieser Norm, jedoch kombiniert mit empfindlicheren Nachweisansätzen. In Verfahren 2 wurden die Extraktions- und Reinigungsverfahren verändert, um die Prüfmenge zu erhöhen. Der Nachweis von Verfahren 2 betrifft das ursprüngliche Nachweisverfahren der vorherigen Ausgabe dieser Norm.

Dieses Dokument wurde unter einem Mandat erarbeitet, das die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelszone dem CEN erteilt haben.

Einleitung

WARNUNG — Die Anwendung dieses Dokuments kann den Einsatz gefährlicher Substanzen, Arbeitsgänge und Geräte mit sich bringen. Diese Norm erhebt nicht den Anspruch, dass alle mit ihrer Anwendung verbundenen Sicherheitsprobleme angesprochen werden. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieser Europäischen Norm, vor Anwendung angemessene Sicherheits- und Gesundheitsvorkehrungen zu treffen und zu prüfen, welche einschränkenden Vorschriften zu berücksichtigen sind.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein gaschromatographisches massenspektrometrisches Verfahren (GC-MS) für die Bestimmung von Organochlorpestiziden (OCP) und polychlorierten Biphenylen (PCB) in Futtermitteln und Öl fest.

Das Verfahren ist auf Futtermittel mit einem Massenanteil von weniger als 20 % und für öl-/fetthaltige Proben anwendbar, die Rückstände von einem oder mehreren der folgenden OCP und PCB und einige von deren Isomeren und Abbauprodukten enthalten:

- Aldrin;
- Dieldrin;
- Chlordan, als die Summe von Chlordanisomeren und Oxychlordan;
- Dichlordiphenyltrichlorethan (DDT), als die Summe der Isomere von op'-DDT, pp'-DDT, pp'-TDE (pp'-DDD) und pp'-DDE;
- Endosulfan, als die Summe von α -/ β -Isomeren und Endosulfan-Sulfat;
- Endrin, als die Summe von Endrin und Delta-Keto-Endrin;
- Heptachlor, als die Summe von Heptachlor und Heptachlorepoxyd;
- Hexachlorbenzol (HCB);
- Hexachlorcyclohexan-Isomere α -HCH (α -BHC), β -HCH (β -BHC), γ -HCH (γ -BHC oder Lindan);
- Photoheptachlor;
- *cis*- und *trans*-Nonachlor;
- nicht-dioxinähnliche PCB (ndl-PCB), als Summe von PCB 28, 52, 101, 138, 153 und 180.

Das Verfahren wurde vollständig durch einen Ringversuch für die in Tabelle 1 aufgeführten Substanzen und entsprechenden Bereiche (ng/g) validiert.

Tabelle 1 — Rückstandsverbindung und Bereich (ng/g) des Ringversuchs

Verbindung	Bereich (ng/g)
alle ndl-PCB	0,7 bis 39
Aldrin	10 bis 34
Dieldrin	12 bis 97
Endrin	13 bis 88
cis-Chlordan ^a	7 bis 24a
trans-Chlordan ^b	7 bis 25b
pp'-DDT	19 bis 199
op'-DDT	8 bis 87
pp'-TDE	7 bis 103

Verbindung	Bereich (ng/g)
pp'-DDE	21 bis 263
Alpha-Endosulfan	15 bis 165
Beta-Endosulfan	26 bis 331
Endosulfan-Sulfat ^c	38 bis 61c
Heptachlor	15 bis 365
Heptachlorepoxyd	15 bis 382
HCBD ^d	8 bis 170d
alpha-HCH	21 bis 247
beta-HCH	6 bis 84
gamma-HCH	17 bis 186
ANMERKUNG Die folgende Information ist zu berücksichtigen: a) Cis-Chlordan wurde nicht vollständig für Fischöl validiert. b) Trans-Chlordan wurde nicht vollständig für Pflanzenöl validiert. c) Endosulfan-Sulfat wurde nicht vollständig für Schweinefutter, Pflanzenöl und Fischöl validiert. d) HCB wurde nicht vollständig für Fischöl validiert.	

Das Verfahren wurde für Oxychlordan, Endrin-Keton, cis- und trans-Nonachlor und Photoheptachlor in allen Matrices nicht vollständig validiert.

Das Verfahren ist nicht anwendbar auf Chlorcamphen (Toxaphen), eine komplexe Mischung von polychlorierten Champhenen. Chlorcamphen hat ein sehr ausgeprägtes chromatographisches Profil und ist leicht erkennbar durch GC/ECD. Eine positive Identifizierung der Toxaphen-Isomere kann mit einer Massenspektrometrie mit negativen Ionen bei chemischer Ionisation (NCI-MS), einer Elektronenstoß-Tandem-Massenspektrometrie (EI-MS × MS) oder einer hochauflösenden Elektronenstoß-Massenspektrometrie (EI-HRMS) durchgeführt werden, die nicht im Rahmen des Anwendungsbereichs dieses Verfahrens sind.

In der Regel sollte für die betreffenden Organochlorpestizide eine Bestimmungsgrenze (LOQ) von 5 ng/g erreicht werden. Jedoch gilt bei Heptachlor, Aldrin, Endrin, Dieldrin und Endosulfan (α -, β - und Sulfat) eine Bestimmungsgrenze von 10 ng/g. Für die ndl-PCB sollte eine Bestimmungsgrenze von 0,5 ng/g bis 1,0 ng/g erreicht werden. Die erwähnten Bestimmungsgrenzen gelten für die einzelnen Verbindungen (d. h. nicht die Summe von zwei oder mehr Verbindungen). Die einzelnen Laboratorien sind dafür verantwortlich, dass die von ihnen verwendeten Geräte diese Bestimmungsgrenzen erreichen. Auf Kundenwunsch darf die Norm nur auf die Analyse von PCB oder OCP angewendet werden.

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

3.1

Nachweisgrenze

geringster gemessener Gehalt, aus dem mit einer annehmbaren statistischen Sicherheit das Vorliegen des Analyten abgeleitet werden kann

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Nachweisgrenze ist numerisch gleich dem Dreifachen der Standardabweichung des Mittelwertes der Blindwertbestimmungen ($n > 10$).

3.2

Bestimmungsgrenze

niedrigster Gehalt des Analyten, der mit einer annehmbaren statistischen Sicherheit gemessen werden kann

Anmerkung 1 zum Begriff: Wenn sowohl Richtigkeit als auch Präzision in einem Konzentrationsbereich um die Nachweisgrenze konstant sind, dann ist die Bestimmungsgrenze numerisch gleich dem Sechsfachen der Standardabweichung des Mittelwertes der Blindwertbestimmungen ($n > 10$).

3.3

Futtermittel-Zusatzstoffe

Substanzen, die der in der Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates angeführten Definition über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung entsprechen

4 Kurzbeschreibung

4.1 Allgemeines

Um auf das Vorhandensein von Organochlorpestiziden (OCP) zu prüfen, wird eine Prüfmenge von Tierfutter mit Internem Standard ($^{13}\text{C}_{12}$ -PCB-Gemisch) angereichert und mit Ethylacetat extrahiert. Der Extrakt wird eingengt und anschließend gereinigt durch:

- Gelpermeationschromatographie (GPC), mit einer Mischung aus Cyclohexan und Ethylacetat als Eluent;
- Chromatographie an teilweise desaktiviertem Silicagel.

Die gesammelte Fraktion, die die zu analysierenden Verbindungen enthält, wird eingengt und in einer Lösung, die einen anderen Internen Standard (PCB 209) als Referenzstandard enthält, wieder gelöst. Nach dem Einengen wird ein Aliquot des Extraktes mit einem splitlosen Injektor in ein GC-MS injiziert. Falls eine höhere Empfindlichkeit erforderlich ist oder weniger Volumeneinengung gewünscht wird, ist eine Injektion eines größeren Volumens durch einen Programmed-Temperature-Vaporizer-(PTV-)Injektor möglich. Ein Beispiel ist in Anhang B beschrieben.

Für ndl-PCB können zwei Ansätze verfolgt werden.

4.2 ndl-PCB; Verfahren 1

Eine Prüfmenge des Futtermittels wird mit Internem Standard ($^{13}\text{C}_{12}$ -PCB-Gemisch) angereichert und mit Ethylacetat extrahiert. Der Extrakt wird eingeeengt und anschließend gereinigt durch

- Gelpermeationschromatographie, mit einer Mischung aus Cyclohexan und Ethylacetat als Elutionsmittel, und
- Chromatographie an teilweise desaktiviertem Silicagel.

Die gesammelte Fraktion, die die zu analysierenden Verbindungen enthält, wird eingeeengt und in einer Lösung, die einen anderen Internen Standard (PCB 209) als Referenzstandard enthält, wieder gelöst. Nach dem Einengen wird ein Aliquot des Extraktes mit einem splitlosen Injektor in ein GC-MS/MS oder GC-HRMS injiziert. Alternativ ist eine Injektion mit einem PTV-Injektor möglich. Ein Beispiel ist in Anhang B beschrieben.

4.3 ndl-PCB; Verfahren 2

Eine Prüfmenge des Futtermittels wird mit Internem Standard ($^{13}\text{C}_{12}$ -PCB-Gemisch) angereichert und mit Ethylacetat extrahiert. Der Extrakt wird eingeeengt und anschließend gereinigt durch

- konzentrierte Schwefelsäure,
- Gelpermeationschromatographie (GPC), mit einer Mischung aus Cyclohexan und Ethylacetat als Elutionsmittel, und
- Chromatographie an teilweise desaktiviertem Silicagel.

Die gesammelte Fraktion, die die zu analysierenden Verbindungen enthält, wird eingeeengt und in einer Lösung, die einen anderen Internen Standard (PCB 209) als Referenzstandard enthält, wieder gelöst. Nach dem Einengen wird ein Aliquot des Extraktes mit einem splitlosen Injektor in ein GC-MS injiziert. Alternativ ist eine Injektion mit einem PTV-Injektor möglich. Ein Beispiel ist in Anhang B beschrieben.

5 Reagenzien und Materialien

5.1 Allgemeines

Es sind nur Reagenzien von anerkannter Analysenreinheit und mit einer für die OCP- oder PCB-Rückstandsanalyse geeigneten Reinheit zu verwenden. Die Reinheit der Reagenzien ist durch die Durchführung einer Blindwertbestimmung unter den gleichen Bedingungen, die in dem Verfahren angewendet werden, zu überprüfen. Das Chromatogramm sollte während der Retentionszeit der zu analysierenden Verbindungen keine Anzeichen störender Verunreinigungen zeigen.

5.2 Chemikalien

5.2.1 Ethylacetat

5.2.2 Cyclohexan

5.2.3 Ethylacetat/Cyclohexan = 1 + 1, Volumenteile

500 ml Ethylacetat (5.2.1) werden mit 500 ml Cyclohexan (5.2.2) gründlich gemischt. Die Lösung wird bei Raumtemperatur in einer dicht verschlossenen Flasche aufbewahrt.

5.2.4 Hexan

5.2.5 Decan

5.2.6 Hexan/Decan = 95 + 5, Volumenteile

950 ml Hexan (5.2.4) werden mit 50 ml Decan (5.2.5) gründlich gemischt. Die Lösung wird bei Raumtemperatur in einer dicht verschlossenen Flasche aufbewahrt.

5.2.7 Isooctan

5.2.8 Toluen

5.2.9 Silicagel, desaktiviert mit 3,5 % Wasser

Silicagel 60 (63 µm bis 200 µm = 70 mesh bis 230 mesh) wird bei 130 °C mindestens fünf Stunden erhitzt, in einem Exsikkator abgekühlt und in einem dicht verschlossenen Gefäß im Exsikkator aufbewahrt. 96,5 g getrocknetes Silicagel werden in einen 300-ml-Erlenmeyerkolben mit Schliff gegeben, 3,5 ml Wasser werden tropfenweise von einer Bürette unter kontinuierlichem Schwenken hinzugefügt. Der Kolben wird sofort mit einem Schliffstopfen verschlossen und fünf Minuten kräftig geschüttelt, bis alle Klumpen verschwunden sind. Danach wird die Lösung für zwei Stunden mit einem mechanischen Schüttelgerät geschüttelt und dann in einem dicht verschlossenen Gefäß aufbewahrt. Wenn desaktiviertes Silicagel sorgfältig gelagert wird, ist es etwa zwei Wochen haltbar.

5.2.10 Hexan/Toluen = 3 + 7, Volumenteile

30 ml n-Hexan (5.2.4) werden mit 70 ml Toluen (5.2.8) gründlich gemischt. Die Lösung wird bei Raumtemperatur in einer dicht verschlossenen Flasche aufbewahrt.

5.2.11 Konzentrierte H₂SO₄

5.2.12 Interner Standard (PCB 209)

5.2.12.1 PCB 209-Stammlösung 1, 100 µg/ml

10 mg ($\pm 0,01$ mg) PCB 209 (5.2.12) werden in eine 100-ml-Medizinflasche aus Braunglas eingewogen und es wird Isooctan (5.2.7) hinzugefügt, um eine Konzentration von 100 µg/ml zu erhalten. Die Lösung wird in einem Kühlschrank bei 4 °C (± 3 °C) aufbewahrt. Die Lösung ist unter diesen Bedingungen mindestens fünf Jahre haltbar, wenn das Gewicht sorgfältig kontrolliert wird. Alternativ wird eine handelsübliche Standardlösung von 100 µg/ml verwendet.

5.2.12.2 PCB 209-Stammlösung 2, 10,0 µg/ml

10,0 ml PCB 209-Stammlösung 1 (5.2.12.1) werden mit Hexan (5.2.4) auf 100,0 ml verdünnt. Die Lösung wird in einem Kühlschrank bei 4 °C (± 3 °C) aufbewahrt. Die Lösung ist unter diesen Bedingungen mindestens fünf Jahre haltbar, wenn das Gewicht sorgfältig kontrolliert wird.

5.2.12.3 PCB 209-Arbeitslösung, Konzentration 1 000 ng/ml

10,0 ml PCB 209-Stammlösung 2 (5.2.12.2) werden mit Hexan (5.2.4) auf 100,0 ml verdünnt. Die Lösung wird in einem Kühlschrank bei 4 °C (± 3 °C) aufbewahrt. Die Lösung ist unter diesen Bedingungen mindestens fünf Jahre haltbar, wenn das Gewicht sorgfältig kontrolliert wird.

5.3 Interne Standards (mit ^{13}C massenmarkierte PCB)

5.3.1 Interne Standards (mit ^{13}C massenmarkierte PCB), 1 000 ng/ml

$^{13}\text{C}_{12}$ PCB 28 (2,4,4'-Trichlorbiphenyl, $^{13}\text{C}_{12}$); CAS-Nummer: 208263-76-7;

$^{13}\text{C}_{12}$ PCB 52 (2,2',5,5'-Tetrachlorbiphenyl, $^{13}\text{C}_{12}$); CAS-Nummer: 208263-80-3;

$^{13}\text{C}_{12}$ PCB 101 (2,2',4,5,5'-Pentachlorbiphenyl, $^{13}\text{C}_{12}$); CAS-Nummer: 104130-39-4;

$^{13}\text{C}_{12}$ PCB 138 (2,2',3',4,4',5-Hexachlorbiphenyl, $^{13}\text{C}_{12}$); CAS-Nummer: 208263-66-5;

$^{13}\text{C}_{12}$ PCB 153 (2,2',4,4',5,5'-Hexachlorbiphenyl, $^{13}\text{C}_{12}$); CAS-Nummer: 185376-58-3;

$^{13}\text{C}_{12}$ PCB 180 (2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorbiphenyl, $^{13}\text{C}_{12}$); CAS-Nummer: nicht verfügbar.

Alternativ wird ein zertifiziertes Gemisch mit einer Konzentration von 1 000 ng/ml verwendet.

5.3.2 Interne Standards (mit ^{13}C massenmarkierte PCB), 100 ng/ml

1,0 ml Interner Standard (mit ^{13}C massenmarkierte PCB) (5.3.1) wird mit Hexan (5.2.4) auf 10,0 ml verdünnt. Die Lösung wird in einem Kühlschrank bei 4 °C (± 3 °C) aufbewahrt. Die Lösung ist unter diesen Bedingungen mindestens fünf Jahre haltbar, wenn das Gewicht sorgfältig kontrolliert wird.

5.4 Standard-Stammlösung der PCB-Kongenere

5.4.1 Standard-Stammlösung der PCB-Kongenere, 10 µg/ml

PCB 28 (2,4,4'-Trichlorbiphenyl); CAS-Nummer: 7012-37-5;

PCB 52 (2,2',5,5'-Tetrachlorbiphenyl); CAS-Nummer: 35693-99-3;

PCB 101 (2,2',4,5,5'-Pentachlorbiphenyl); CAS-Nummer: 37680-73-2;

PCB 138 (2,2',3',4,4',5-Hexachlorbiphenyl); CAS-Nummer: 35065-28-2;

PCB 153 (2,2',4,4',5,5'-Hexachlorbiphenyl); CAS-Nummer: 35065-27-1;

PCB 180 (2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorbiphenyl); CAS-Nummer: 35065-29-3.

Alternativ wird ein zertifiziertes Gemisch mit einer Konzentration von 10 µg/ml verwendet.

5.4.2 Arbeits-Standardlösung der PCB-Kongenere, 2,0 µg/ml

2,0 ml Standard-Stammlösung der PCB-Kongenere (5.4.1) werden mit Hexan (5.2.4) auf 10,0 ml verdünnt. Die Lösung wird in einem Kühlschrank bei 4 °C (± 3 °C) aufbewahrt. Die Lösung ist unter diesen Bedingungen mindestens fünf Jahre haltbar, wenn das Gewicht sorgfältig kontrolliert wird.

5.4.3 Arbeits-Standardlösung der PCB-Kongenere, 0,2 µg/ml

1,0 ml Standard-Stammlösung der PCB-Kongenere (5.4.2) wird mit Hexan (5.2.4) auf 10,0 ml verdünnt. Die Lösung wird in einem Kühlschrank bei 4 °C (± 3 °C) aufbewahrt. Die Lösung ist unter diesen Bedingungen mindestens fünf Jahre haltbar, wenn das Gewicht sorgfältig kontrolliert wird.

5.5 Referenzstandards der OC-Pestizide, wie folgt:

Jeder mit einem Reinheitsgrad von mindestens 99 %.

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-imethanonaphthalin;
CAS-Nummer: 309-00-2.

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-di-methanonaphthalin; CAS-Nummer: 60-57-1.

Chlordan, α -Isomer

1,2,4,5,6,7,8-Octachlor-2,3,3a,4,7,7a-hexahydro-4,7-ethano-1H-inden; α -Isomer; CAS-Nummer: 5103-71-9.

Chlordan, β -Isomer

1,2,4,5,6,7,8-Octachlor-2,3,3a,4,7,7a-hexahydro-4,7-ethano-1H-inden; β -Isomer; CAS-Nummer: 5103-74-2.

Oxychlordan

4,7-Methanoindan, 1,2,4,5,6,7,8-Octachlor-2,3-epoxy-3a,4,7,7a-tetrahydro-, exo, endo-; CAS-Nummer: 27304-13-8.

op'-DDT

1,1,1-Trichlor-2-(2-chlorphenyl)-2-(4-chlorphenyl)ethan; CAS-Nummer: 789-02-6;

pp'-DDT

1,1,1-Trichlor-2,2-bis(4-chlorphenyl)ethan; CAS-Nummer: 50-29-3.

pp'-TDE

(pp'-DDD) 1,1-Dichlor-2,2-bis(4-chlorphenyl)ethan; CAS-Nummer: 72-54-8.

pp'-DDE

1,1-Dichlor-2,2-bis(4-chlorphenyl)ethylen; CAS-Nummer: 72-55-9.

Endosulfan, α -Stereoisomer

6,9-Methano-2,4,3-benzodioxathiepin, 6,7,8,9,10,10-Hexachlor-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-, 3-oxid, (3 α ,5 α β , 6 α ,9 α ,9 α β); CAS-Nummer: 959-98-8.

Endosulfan, β -Stereoisomer

6,9-Methano-2,4,3-benzodioxathiepin, 6,7,8,9,10,10-Hexachlor-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-, 3-oxid, (3 α ,5 α α ,6 β , 9 β ,9 α); CAS-Nummer: 33213-65-9.

Endosulfan-Sulfat

6,9-Methano-2,4,3-benzodioxathiepin, 6,7,8,9,10,10-Hexachlor-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-, 3,3-dioxid;
CAS-Nummer: 1031-07-8.

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-di-methanonaphthalin; CAS-Nummer: 72-20-8.

Delta-Ketoendrin

2,5,7-Metheno-3H-cyclopenta[a]pentalen-3-on,3b,4,5,6,6a-hexachlordecahydro-, 2 α , 3a β ,3b β ,4 β ,5 β , 6a β ,7 α 7a β ,8R*; CAS-Nummer 53494-70-5.

Heptachlor

1,4,5,6,7,8,8-Heptachlor-3a,4,7,7a-tetrahydro-4,7-methanoinden; CAS-Nummer: 76-44-8.

β -Heptachlorepoxyd

1,4,5,6,7,8,8-Heptachlor-3a,4,7,7a-tetrahydro-4,7-methanoinden(exo); CAS-Nummer: 1024-57-3.

HCB

Hexachlorbenzol; CAS-Nummer: 118-74-1.

α -HCH (α -BHC)

α -1,2,3,4,5,6-Hexachlorcyclohexan; CAS-Nummer: 319-84-6.

β -HCH (β -BHC)

β -1,2,3,4,5,6-Hexachlorcyclohexan; CAS-Nummer: 319-85-7.

γ -HCH (γ -BHC; Lindan)

γ -1,2,3,4,5,6-Hexachlorcyclohexan; CAS-Nummer: 58-89-9.

Nonachlor, cis

CAS-Nummer: 5103-73-1.

Nonachlor, trans

CAS-Nummer: 39765-80-5.

Photoheptachlor

CAS-Nummer: 33442-83-0.

Alternativ wird ein zertifiziertes Gemisch mit einer Konzentration von 10 $\mu\text{g/ml}$ verwendet.

5.5.1 Pestizid-Stammlösung 1, 100 µg/ml

10 mg ($\pm 0,01$ mg) von jedem einzelnen Pestizid (5.5) werden in gesonderte 100-ml-Medizinflaschen aus Braunglas eingewogen und Isooctan (5.2.7) wird hinzugefügt, um eine Konzentration von 100 µg/ml zu erhalten. Die Lösungen werden in einem Kühlschrank bei 4 °C (± 3 °C) aufbewahrt. Die Lösungen sind unter diesen Bedingungen mindestens fünf Jahre haltbar, wenn das Gewicht sorgfältig kontrolliert wird. Alternativ wird eine handelsübliche Standardlösung von 100 µg/ml verwendet.

ANMERKUNG β -HCH wird in 10 ml Toluol (5.2.8) aufgelöst, um die vollständige Lösbarkeit zu erreichen, und es wird weiter mit Isooctan (5.2.7) verdünnt, um eine Konzentration von 100 µg/ml zu erhalten.

5.5.2 Pestizid-Stammlösung 2, 2,5 µg/ml

2,5 ml von jeder einzelnen Pestizid-Stammlösung 1 (5.5.1) werden in einen 100-ml-Messkolben pipettiert und mit Hexan (5.2.4) auf 100,0 ml verdünnt. Die Lösung wird in einem Kühlschrank bei 4 °C (± 3 °C) aufbewahrt. Die Lösung ist unter diesen Bedingungen mindestens fünf Jahre haltbar, wenn das Gewicht sorgfältig kontrolliert wird.

5.5.3 Pestizid-Arbeitslösung, 0,5 µg/ml

2,0 ml Pestizid-Stammlösung 2 (5.5.2) werden in einen 10,0-ml-Messkolben pipettiert und mit Hexan (5.2.4) auf 10,0 ml verdünnt. Die Lösung wird in einem Kühlschrank bei 4 °C (± 3 °C) aufbewahrt. Die Lösung ist unter diesen Bedingungen mindestens fünf Jahre haltbar, wenn das Gewicht sorgfältig kontrolliert wird.

5.6 Kalibrierlösungen

Die Kalibrierlösungen werden nach Tabelle 2 in einem Endvolumen von 1,0 ml eines Alkanolsemmittels (5.2.6 oder 5.2.7) hergestellt und bei 4 °C (± 3 °C) aufbewahrt.

Tabelle 2 — Kalibriergemische

Niveau	PCB 0,2 µg/ml (5.4.3)		OCP 0,5 µg/ml (5.5.3)		OCP 5,0 µg/ml (5.5.2)		¹³ C ₁₂ -PCB- Gemisch 100 ng/ml (5.3.2)		PCB 209 1 000 ng/ml (5.2.12.3)		Löse- mittel
	µl	ng/ml	µl	ng/ml	µl	ng/ml	µl	ng/ml	µl	ng/ml	
1	0	0	0	0	0	nicht an- wend- bar	100	10	50	50	850
2	5	1	20	10	0	nicht an- wend- bar	100	10	50	50	825
3	10	2	50	25	0	nicht an- wend- bar	100	10	50	50	790
4	25	5	250	125	0	nicht an- wend- bar	100	10	50	50	575

Niveau	PCB 0,2 µg/ml (5.4.3)		OCP 0,5 µg/ml (5.5.3)		OCP 5,0 µg/ml (5.5.2)		¹³ C ₁₂ -PCB- Gemisch 100 ng/ml (5.3.2)		PCB 209 1 000 ng/ml (5.2.12.3)		Löse- mittel µl
	µl	ng/ml	µl	ng/ml	µl	ng/ml	µl	ng/ml	µl	ng/ml	
5	100	20	0	nicht an- wend- bar	100	500	100	10	50	50	650
6	250	50	0	nicht an- wend- bar	250	1 250	100	10	50	50	350

5.7 Glasfläschchen, 100 ml, mit PTFE-beschichteten Schraubverschlüssen

5.8 Glaswolle

Für mindestens 24 h auf 160 °C bis 200 °C erhitzt.

5.9 Natriumsulfat, wasserfrei

Für mindestens 24 h auf 160 °C bis 200 °C erhitzt.

5.10 Heliumgas, Reinheitsgrad 5,0 oder höher

5.11 Stickstoffgas, Reinheitsgrad 5,0 oder höher

5.12 GC-Probenfläschchen, 2 ml

5.13 Messglasverdampfungsröhrchen, 50 ml

5.14 Chromatographierohre, Glas oder PTFE

Chromatographierohr mit Lösemittelsammelbehälter.

5.15 Autosampler-Fläschchen, mit Einspritzteil zur begrenzten Volumenaufgabe

5.16 Glasröhrchen, etwa 50 ml

5.17 Glasröhrchen, etwa 4 ml

5.18 Natriumsulfat, wasserfrei

6 Geräte

6.1 Allgemeines

Übliche Laborglasgeräte und -ausrüstung und insbesondere Folgendes:

Alle nachstehend aufgeführten technischen Beschreibungen sind Beispiele für mögliche Systemaufbauten und -parameter, die größtmäßig oder anderweitig an die Ausrüstung des Anwenders anzupassen sind.

6.2 Analysenwaage, Fehlergrenze 0,01 mg

6.3 Analysenwaage, Fehlergrenze 10 mg

6.4 Mechanisches Schüttelgerät

6.5 GPC-Probenreinigungssystem

Das GPC-System (6.5) wird unter den empfohlenen Betriebsbedingungen abgeglichen und die Leistung der GPC-Säule wird, wie in dem EPA-Verfahren 3640 [1] beschrieben, überprüft.

WARNUNG — Falls die Wiederfindungsrate von β -HCH und γ -Chlordan in der GPC-Kontrolle mit einer Standardlösung zu niedrig ist, muss mit dem Sammeln der OC-Pestizid-/PCB-Fraktion früher begonnen werden. Falls die Wiederfindungsrate von HCB zu gering ist, muss die Endzeit der OC-Pestizid-/PCB-Fraktion nach hinten verlegt werden.

6.5.1 HPLC-Pumpe

Die HPLC-Pumpe muss zur Aufrechterhaltung eines Durchflusses von 1,0 ml/min des unter 5.2.3 angegebenen Lösemittelgemisches geeignet sein.

6.5.2 Automatisches Injektionssystem

Das automatische Injektionssystem muss zur Durchführung einer Reihe von automatischen Injektionen mit einem Volumen von 500 μ l aus einem 2-ml-GC-Samplerfläschchen (5.15) geeignet sein.

6.5.3 GPC-Säule

Die GPC-Säule muss zur Durchführung einer Trennung, wie in den Kriterien des EPA-Verfahrens 3640 [1] festgelegt, geeignet sein.

BEISPIEL Eine Säule mit einer Länge von 45 cm und einem Innendurchmesser von 10 mm, die mit der stationären Phase Bio Beads SX-3 gepackt ist, kann für diesen Zweck verwendet werden. In diesem Beispiel eluiert die OCP/PCB enthaltende Fraktion zwischen 16 min bis 26 min. Andere GPC-Säulen mit unterschiedlichen Abmessungen und stationären Phasen können gleichwertig sein, die Leistung sollte jedoch vor der Verwendung geprüft werden.

6.5.4 Fraktionssammler

6.6 Verdampfungssystem, ausgerüstet mit 50-ml-Messglasröhrchen und Stickstoffgas

6.7 Verdampfungsblock, ausgerüstet mit Heizgerät und Stickstoffgas

Der Verdampfungsblock muss 4-ml-Gasröhrchen (5.17) aufnehmen können.

6.8 Gaschromatograph-Massenspektrometer (einzelner Quadrupol)

6.8.1 Allgemeines

Der Gaschromatograph muss zur Arbeit mit Kapillarsäulen geeignet sein. Die Verwendung einer Kapillarsäule, beschichtet mit einer stationären Phase von mittlerer Polarität (Maße 30 m $\times$ 0,25 mm, Schichtdicke 0,25 μ m) wird empfohlen. Der Säulen-Volumenstrom wird bei 1,3 ml/min konstant gehalten.

Das Temperaturprogramm beginnt bei einer Anfangstemperatur von 80 °C, die 3 min gehalten wird. Danach wird die Temperatur mit 5 °C/min auf eine Endtemperatur von 280 °C erhöht, die 10 min gehalten wird. Schließlich wird die GC auf 80 °C abgekühlt.

6.8.2 Massenspektrometer — SIM-Arbeitsweise

Das Massenspektrometer muss für den Nachweis im Vollerfassungsmodus (en: full scan mode) oder für den Einzelionennachweis (en: selected ion monitoring, SIM) geeignet sein und sollte nach den Herstellerangaben eingestellt werden.

Die ausgewählten Massenfragmente sind in Tabelle 3 (PCB) und Tabelle 4 (OCP) dargestellt. Mindestens ein Quantifier-Ion (Target-[Ziel]-Ion) und zwei Qualifier-Ionen (Bestätigungsionen) sind zu messen. Abhängig von der Retentionszeit der Verbindungen werden SIM-Fenster zusammengesetzt, vorzugsweise mit weniger als 20 Fragmenten. Die Auswahl anderer Quantifier- oder Qualifier-Massen ist erlaubt, aber die Eignung zur Identifizierung und Quantifizierung sollte nachgewiesen werden.

Tabelle 3 — Ausgewählte Ionen für PCB

Verbindung	Fragment [m/z] Quantifier	Fragment [m/z] Qualifier 1	Fragment [m/z] Qualifier 2
PCB 28	256	258	186
PCB 52	292	290	220
PCB 101	326	324	254
PCB 153	360	358	290
PCB 138	360	358	290
PCB 180	394	396	324
¹³ C ₁₂ -PCB 28	268	270	
¹³ C ₁₂ -PCB 52	304	302	
¹³ C ₁₂ -PCB 101	338	336	
¹³ C ₁₂ -PCB 153	372	370	
¹³ C ₁₂ -PCB 138	372	370	
¹³ C ₁₂ -PCB 180	406	408	
PCB 209	498	500	

Tabelle 4 — Ausgewählte Ionen für OC-Pestizide

Verbindung	Fragment [m/z] Quantifier	Fragment [m/z] Qualifier 1	Fragment [m/z] Qualifier 2
Aldrin	263	265	293
Dieldrin	263	277	237
α-Chlordan (cis)	373	375	237
γ-Chlordan (trans)	373	375	237
Oxychlordan	387	389	185

Verbindung	Fragment [m/z] Quantifier	Fragment [m/z] Qualifier 1	Fragment [m/z] Qualifier 2
o,p'-DDT	235	237	165
p,p'-DDT	235	237	165
p,p'-TDE	235	237	165
p,p'-DDE	246	248	318
α -Endosulfan	339	341	272
β -Endosulfan	339	341	272
Endosulfan-Sulfat	387	389	272
Endrin	263	265	281
Endrin-Keton	317	319	281
Heptachlor	272	274	237
Heptachlorepoxyd	353	355	263
HCB	284	286	249
α -HCH	181	183	219
β -HCH	181	183	219
γ -HCH	181	183	219
cis-Nonachlor	409	407	237
trans-Nonachlor	409	407	237
Photoheptachlor	337	339	266

6.9 Gaschromatograph-Massenspektrometer (Dreifach-Quadrupol)

6.9.1 Allgemeines

Der Gaschromatograph muss zur Arbeit mit Kapillarsäulen geeignet sein. Die Verwendung einer Kapillarsäule, beschichtet mit einer stationären Phase von mittlerer Polarität (Maße 30 m $\times$ 0,25 mm, Schichtdicke 0,25 μ m) wird empfohlen. Der Säulen-Volumenstrom wird bei 1,3 ml/min konstant gehalten.

Das Temperaturprogramm beginnt bei einer Anfangstemperatur von 80 °C, die 3 min gehalten wird. Danach wird die Temperatur mit 5 °C/min auf eine Endtemperatur von 280 °C erhöht, die 10 min gehalten wird. Schließlich wird die GC auf 80 °C abgekühlt.

6.9.2 Massenspektrometer

Das Massenspektrometer muss für eine Mehrfachreaktionsmessung (en: Multiple Reaction Monitoring, MRM) geeignet sein und sollte nach den Herstellerangaben eingestellt werden.

6.9.2.1 Betrieb im MRM-Modus

Die ausgewählten Massenfragmente sind in Tabelle 5 und Tabelle 6 dargestellt. Mindestens ein Quantifier-Übergang und zwei Qualifier-Übergänge müssen gemessen werden. Abhängig von der Retentionszeit der

Verbindungen werden MRM-Fenster zusammengesetzt. Kollisionsenergie sollte für das verwendete Gerät optimiert werden, die angegebenen Werte sind Richtwerte.

Tabelle 5 — MRM-Übergänge für PCB

Verbindung	Quantifier-Übergang [m/z]	Qualifier-Übergang [m/z]	Verweilzeit (msec)	Kollisionsenergie (V)
PCB 28	256 → 186	258 → 186	75	25
PCB 52	290 → 220	292 → 222	75	25
PCB 101	324 → 254	326 → 256	75	25
PCB 153	360 → 290	358 → 288	75	25
PCB 138	360 → 290	358 → 288	75	25
PCB 180	394 → 324	396 → 326	75	25
¹³ C ₁₂ -PCB 28	268 → 198	270 → 198	75	25
¹³ C ₁₂ -PCB 52	302 → 232	304 → 234	75	25
¹³ C ₁₂ -PCB 101	336 → 266	338 → 268	75	25
¹³ C ₁₂ -PCB 153	372 → 302	370 → 300	75	25
¹³ C ₁₂ -PCB 138	372 → 302	370 → 300	75	25
¹³ C ₁₂ -PCB 180	406 → 336	408 → 338	75	25
PCB 209	498 → 428		25	25

Tabelle 6 — MRM-Übergänge für OC-Pestizide

Verbindung	Quantifier-Übergang [m/z]	Qualifier-Übergang [m/z]	Verweilzeit (msec)	Kollisionsenergie (V)
Aldrin	263 → 228	263 → 193	75	20
Dieldrin	263 → 193	263 → 228	75	35
α-Chlordan (cis)	373 → 266	373 → 301	75	28
γ-Chlordan (trans)	373 → 266	373 → 301	75	28
Oxychlordan	185 → 121	185 → 149	75	15
o,p'-DDT	235 → 165	235 → 199	75	30
p,p'-DDT	235 → 165	235 → 199	75	30
p,p'-TDE	235 → 165	235 → 199	75	30
p,p'-DDE	246 → 176	318 → 248	75	28
α-Endosulfan	241 → 206	195 → 160	75	15
β-Endosulfan	195 → 159	241 → 206	75	10
Endosulfan-Sulfat	272 → 237	274 → 239	75	14

Verbindung	Quantifizier- Übergang [m/z]	Qualifizier- Übergang [m/z]	Verweilzeit (msec)	Kollisions- energie (V)
Endrin	281 → 245	263 → 193	75	11
Endrin-Keton	317 → 101	317 → 245	75	20
Heptachlor	272 → 237	274 → 239	75	18
Heptachlorepoxid	353 → 263	353 → 289	75	12
HCB	284 → 249	249 → 214	75	16
α-HCH	181 → 145	219 → 183	75	17
β-HCH	181 → 145	219 → 183	75	17
γ-HCH	181 → 145	219 → 183	75	17
cis-Nonachlor	407 → 300	407 → 263	75	25
trans-Nonachlor	373 → 266	373 → 301	75	25
Photoheptachlor	339 → 266	301 → 266	75	25

6.9.2.2 Betrieb im Vollerfassungsmodus

Der Massenbereich wird von 50 u bis 550 u mit drei Scans je Sekunde gescannt. Die Scanrate darf schwanken, jedoch muss sie mindestens zehn Scans je Peak aufweisen.

7 Probenahme

Die Probe sollte tatsächlich repräsentativ sein und darf nicht beschädigt oder während des Transports oder der Lagerung verändert worden sein. Die Probenahme ist kein Bestandteil des in diesem Dokument festgelegten Verfahrens. Ein empfohlenes Probenahmeverfahren ist in EN ISO 6497 [2] angegeben.

8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe

Die Untersuchungsprobe ist nach EN ISO 6498 herzustellen. Trockene oder feuchtigkeitsarme Produkte, z. B. Getreide und Getreideprodukte, Mischfutter und Heu, sollten sorgfältig gemahlen werden, sodass sie vollständig durch ein Sieb mit 1 mm Maschenweite hindurchgehen. Es wird gründlich durchgemischt.

9 Durchführung

9.1 Allgemeines

In jeder der Reihen werden die folgenden Proben analysiert:

- 1) verfahrensbezogene Blindprobe;
- 2) Blindwertprobe des Futtermittels ($n = 1$) und/oder Blindwertprobe des Öls ($n = 1$);
- 3) Blindwertprobe des angereicherten Futtermittels ($n = 2$) und/oder Blindwertprobe des angereicherten Öls ($n = 2$);
- 4) alle Proben.

ANMERKUNG Jede Blindwertprobe, deren Blindwert in einem vorhergehenden Durchlauf untersucht wurde, kann für die Qualitätskontrolle verwendet werden.

9.2 Prüfmengen von Futtermittel- und von Ölproben

9.2.1 Prüfmenge des Futtermittels

9.2.1.1 OCP und ndl-PCB (Verfahren 1)

8,0 g ($\pm 0,10$ g) der vorbereiteten Untersuchungsprobe werden in ein 100-ml-Glasfläschchen eingewogen. Die Probe wird mit 160 μl $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB-Arbeitslösungs-Gemisch (5.3.2) angereichert (2 ng/g Futter). Die Untersuchungsprobe und das $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB-Lösungs-Gemisch werden gemischt und für mindestens eine Stunde stengelassen.

9.2.1.2 ndl-PCB (Verfahren 2)

40,0 g ($\pm 0,10$ g) der vorbereiteten Untersuchungsprobe werden in ein 100-ml-Glasfläschchen eingewogen. Die Probe wird mit 160 μl $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB-Arbeitslösungs-Gemisch (5.3.2) angereichert (0,4 ng/g Futtermittel). Die Untersuchungsprobe und das $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB-Lösungs-Gemisch werden gemischt und für mindestens eine Stunde stengelassen.

Falls der Fettgehalt höher als 10 % Massenanteil ist, muss der Anteil der Probe entsprechend verringert werden.

9.2.2 Prüfmenge von 1 g Öl

9.2.2.1 OCP und ndl-PCB (Verfahren 1)

1,0 g ($\pm 0,10$ g) der Ölprobe wird in ein 50-ml-Glasröhrchen (5.16) eingewogen. Die Probe wird mit 200 μl $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB-Arbeitslösungs-Gemisch (5.3.2) angereichert (20 ng/g Öl). 3,8 ml Ethylacetat/Cyclohexan-Gemisch (1 : 1 Volumenteile) (5.2.3) werden hinzugefügt und 5 Minuten im Vortexmixer gemischt.

9.2.2.2 ndl-PCB (Verfahren 2)

5,0 g ($\pm 0,10$ g) der Ölprobe werden in ein 50-ml-Glasröhrchen (5.16) eingewogen. Die Probe wird mit 200 μl $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB-Arbeitslösungs-Gemisch (5.3.2) angereichert (4 ng/g Öl). 19,8 ml Hexan (5.2.4) werden hinzugefügt und 5 Minuten im Vortexmixer gemischt. 20 ml konzentrierte H_2SO_4 werden zugegeben und das Röhrchen wird für mindestens eine Stunde in ein Ultraschallbad gegeben. Nach Trennung der Phasen wird die obere Schicht entnommen. Die verbleibende H_2SO_4 -Phase wird mit weiteren 5 ml Hexan extrahiert. Die Hexan-Phasen werden gesammelt und auf ein Endvolumen von $< 1,0$ ml eingedampft (40 °C, N_2). Mit Cyclohexan/Ethylacetat (5.2.3) wird das Volumen auf 5,0 ml aufgefüllt.

9.3 Extraktion der Futtermittel-Prüfmenge

9.3.1 Organochlorpestizide und ndl-PCB (Verfahren 1)

Zur Prüfmenge der Probe werden 50 ml Ethylacetat (5.2) hinzugefügt, worauf das Fläschchen mit einem PTFE-beschichteten Schraubdeckel verschlossen und mittels des mechanischen Schüttelgerätes (6.4) mindestens 18 h geschüttelt wird. Der Extrakt wird über wasserfreiem Natriumsulfat (5.18) (etwa 10 g in einem Glastrichter mit etwas Glaswolle [5.8]) filtriert. 25 ml Filtrat werden abgemessen, in ein Messröhrchen (5.16) gegeben und auf ein Endvolumen von $< 1,0$ ml eingedampft (40 °C, N_2). Mit Cyclohexan/Ethylacetat (5.2.3) wird das Volumen auf 2,0 ml aufgefüllt.

9.3.2 ndl-PCB (Verfahren 2)

Zur Prüfmenge der Probe werden 250 ml Ethylacetat (5.2) hinzugefügt, worauf das Fläschchen mit einem PTFE-beschichteten Schraubdeckel verschlossen und mittels des mechanischen Schüttelgerätes (6.4) mindestens 18 h geschüttelt wird. Der Extrakt wird über wasserfreiem Natriumsulfat (5.18) (etwa 10 g in einem Glastrichter mit etwas Glaswolle [5.8]) filtriert. 125 ml Filtrat werden abgemessen, in ein Messröhrchen (5.16) gegeben und auf ein Endvolumen von < 1,0 ml eingedampft (40 °C, N₂). 50 ml Hexan und 10 ml konzentrierte H₂SO₄ werden hinzugegeben und das Röhrchen wird für mindestens eine Stunde in ein Ultraschallbad gegeben. Nach Trennung der Phasen wird die obere Schicht entnommen. Die verbleibende H₂SO₄-Phase wird mit weiteren 25 ml Hexan extrahiert. Die Hexan-Phasen werden gesammelt und auf ein Endvolumen von < 1,0 ml eingedampft (40 °C, N₂). Mit Cyclohexan/Ethylacetat (5.2.3) wird das Volumen auf 2,0 ml aufgefüllt.

9.4 Reinigung

9.4.1 Gelpermeationschromatographie-Reinigung

9.4.2 Vorbereitung des GPC-Systems

Das GPC-System wird unter den empfohlenen Betriebsbedingungen (6.5) abgeglichen und die Leistung der GPC-Säule wird, wie in dem EPA-Verfahren 3640 [1] beschrieben, überprüft.

9.4.3 Reinigung

0,5 ml ($\equiv$ 1 g oder 5 g Futter bzw. 0,1 g oder 0,5 g Öl) der vorbereiteten Proben (9.2.2 oder 9.3) werden in das GPC-System injiziert. Die eluierte Fraktion, die die zu analysierenden Verbindungen enthält, wird direkt in 50-ml-Verdampfungsröhrchen (5.16) gesammelt. Die gesammelten GPC-Fraktionen werden in einem Verdampfungssystem (40 °C, N₂, [6.6]) auf ein Volumen von etwa 0,5 ml eingengt. Der Extrakt wird in ein 4-ml-Glasröhrchen (5.17) überführt. Das Verdampfungsröhrchen wird mit 1 ml Hexan (5.2.4) gespült und das Lösemittel mit der ersten Fraktion in dem 4-ml-Glasröhrchen vereint.

9.4.4 Säulenchromatographie mit teilweise desaktiviertem Siliciumoxid

Das Chromatographieröhr (5.14) wird folgendermaßen gepackt: Glaswollepfropfen (5.8), 4,0 g desaktiviertes Silicagel (5.2.9), Schicht aus 5 mm bis 10 mm Natriumsulfat (5.18), Glaswollepfropfen (5.8). Vor der Verwendung wird die Säule mit 10 ml n-Hexan (5.2.4) gespült und das Eluat verworfen. Sobald das Hexan auf das obere Ende des Silicagels abgelaufen ist, wird die von der Verdampfung der Probelösung (9.4.3) abgeleitete n-Hexanlösung auf die vorgewaschene Silicagel-Säule pipettiert. Es wird 6-mal mit 3 ml Eluent (n-Hexan/Toluen) (5.2.10) eluiert. Das Eluat wird gesammelt und in einem Verdampfungssystem (40 °C, N₂, [6.6]) auf ein Volumen von etwa 0,5 ml eingengt. Der Extrakt wird in ein 4-ml-Glasröhrchen (5.17) überführt und 10 µl Decan (5.2.5) werden hinzugefügt. Das Verdampfungsröhrchen (5.17) wird mit 2 ml Hexan (5.2.4) gespült und das Lösemittel mit der ersten Fraktion in dem 4-ml-Glasröhrchen (5.17) vereint. Das Lösemittel wird vorsichtig in einem Verdampfungsblock (40 °C, N₂, [6.6]) verdampft, bis nur das Decan zurückbleibt. 10 µl PCB 209-Arbeitslösung (5.2.12.3) und 180 µl Hexan (5.2.4) werden zu dem Rückstand hinzugefügt und es wird gründlich gemischt. Zum Abschluss wird der Extrakt mit einem Einspritzteil zur begrenzten Volumenaufgabe (5.15) in das Autosampler-Fläschchen überführt. Geringe Wiederfindungsraten können sich bei Endosulfan (alpha, beta) und/oder Dieldrin aus einer ungenügenden Elution ergeben. Wenn das so ist, muss die Anzahl der Elutionszyklen erhöht werden.

ANMERKUNG Die Endkonzentration beträgt 5 g oder 25 g Futter je ml bzw. 0,5 g oder 2,5 g Öl je ml. Falls erforderlich, kann die endgültige Lösung mit Hexan (5.2.4) verdünnt werden, um innerhalb des Kalibrierungsbereichs zu liegen, oder bei Bedarf weiter eingengt werden.

9.5 Gaschromatographie

9.5.1 Vorbereitung des Systems

Das Gaschromatographiesystem wird entsprechend den empfohlenen Betriebsbedingungen (6.8) abgeglichen. Das MS-System wird eingestellt und kalibriert.

9.5.2 Prüfung der Geräteeinstellungen

Das Kalibrierniveau 5 (5.6) wird injiziert und die Peakform und die Retentionszeit der zu analysierenden Verbindungen werden geprüft. Wenn erforderlich, wird das SIM- oder MRM-Fenster für die Start- und Endzeit im MS-Menü des Gerätesystems modifiziert.

9.5.3 Prüfung der Empfindlichkeit des Systems

Das Kalibrierniveau 2 (5.6) wird injiziert. Alle zu analysierenden Bestandteile sollten mit einem Signal/Rausch-Abstand (s/n) von sechs oder höher nachweisbar sein. Falls nicht, muss eine geeignete Maßnahme getroffen werden, zum Beispiel durch Reinigung der Ionenquelle (wenn eine verunreinigte Ionenquelle vorhanden ist) oder durch Wiedereinstellen des MSD oder durch Austausch der Analysensäule (schlechte Peakform).

9.5.4 Bestimmung

Ein ausreichendes Aliquot (z. B. 2 µl) der Kalibrierstandardlösungen (5.6, 1 bis 6) und ein gleiches Volumen der Probenextrakte werden mit einem splitlosen Injektor injiziert. Die einzelnen Pestizid-/PCB-Peaks werden auf der Grundlage der Retentionszeit und des Ionenverhältnisses identifiziert.

Die Trennung einiger PCB-Kongenere kann problematisch sein. Es ist sicherzustellen, dass PCB 28 nicht von PCB 31, PCB 52 nicht von PCB 69 und PCB 138 nicht von PCB 163 und 164 gestört wird.

Die Menge der Pestizide/PCB wird durch Vergleich der Größe der Probenpeaks mit denen einer bekannten Menge der entsprechenden Pestizid-/PCB-Peaks in den Kalibrierlösungen (5.6, 1 bis 6) bestimmt. Die Kalibrierung basiert auf dem Verfahren mit Internem Standard.

10 Berechnung und Angabe der Ergebnisse

10.1 Allgemeines

Die Berechnungen werden mit der Messwerterfassungssoftware berechnet. Die Einstellungen sind wie folgt:

Bevor alle Daten bearbeitet werden, werden die Retentionszeiten aller zu analysierenden Verbindungen geprüft und, falls erforderlich, in dem Bearbeitungsverfahren modifiziert. Es wird eine Fünf-Punkt-Kalibrierung mit Internem Standard verwendet, wobei der Achsenschnittpunkt durch den Nullpunkt geführt wird, wenn kein Signal von der Blindwertprobe vorhanden ist. Der Korrelationskoeffizient r^2 wird berechnet. Nach der Bearbeitung der Daten wird jedes Ergebnis manuell auf eine korrekte Integration geprüft.

Die Internen Standards der mit ^{13}C massenmarkierten PCB (5.3.1) müssen dem nativen (nicht markierten) Analogon (5.4.1) zum Zwecke der Identifizierung und Quantifizierung zugeordnet werden. Die OCP (5.5) müssen dem nächstgelegenen eluierten Internen Standard der mit ^{13}C massenmarkierten PCB zugeordnet werden.

10.2 Kalibrierkriterien

Kriterium für den Korrelationskoeffizienten: $> 0,995$. Die Ergebnisse sollten innerhalb der Kalibrierkurve liegen. Falls ein Ergebnis die Konzentrationsgrenzwerte der Kalibrierkurve überschreitet, sollte die Probe verdünnt und neu analysiert werden, bis das Ergebnis innerhalb der Kalibrierkurve liegt.

10.3 Identifizierung und Bestätigung

Die zu analysierenden Verbindungen werden durch die Retentionszeit und das Massenverhältnis (SIM) oder Massenspektrum (vollständiger Scan) identifiziert. Die relativen Intensitäten der nachgewiesenen Ionen, angegeben als Prozentanteil der Intensität des stärksten Ions, müssen mit denen des Kalibrierstandards, entweder von den Kalibrierstandardlösungen oder von den aufgewerteten Proben, bei vergleichbaren Konzentrationen übereinstimmen, gemessen unter den gleichen Bedingungen innerhalb der in Tabelle 7 aufgeführten Grenzwerte.

Tabelle 7 — Relative Intensitäten

Relative Intensität (% vom Grundpeak)	Grenzwerte
$> 50 \%$	$\pm 10 \%$
$> 20 \%$ bis 50%	$\pm 15 \%$
$> 10 \%$ bis 20%	$\pm 20 \%$
$< 10 \%$	$\pm 50 \%$

Die annehmbare Mindestretentionszeit des untersuchten OCP oder PCB ist zweimal die Retentionszeit, entsprechend dem Totvolumen der Säule. Das Verhältnis der chromatographischen Retentionszeit des Analyten zu der des Internen Standards ($^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 28, 52, 101, 138, 153 oder 180), die relative Retentionszeit, muss mit dem der Kalibrierlösung mit einer Grenzwertabweichung von $\pm 0,25 \%$ übereinstimmen.

10.4 Berechnung

Für alle Kalibrierniveaus je zu analysierender Verbindung wird der relative Responsefaktor (RRF) berechnet.

Bei den Pestiziden und den PCB erfolgt das mit Bezug auf $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 28, 52, 101, 138, 153 oder 180.

Für $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 28, 52, 101, 138, 153 oder 180 erfolgt das mit Bezug auf PCB 209.

Für zu analysierende Verbindungen:

$$RRF_{(n)} = \frac{A_x \cdot Q_{is}}{Q_x \cdot A_{is}} \quad (1)$$

Für Interne Standards:

$$RRF_{(m)} = \frac{A_{is} \cdot Q_{rs}}{Q_{is} \cdot A_{rs}} \quad (2)$$

Dabei ist:

$RRF_{(n)}$ der relative Responsefaktor;

- A_x die Fläche des Quantifizier-Ions der zu analysierenden Verbindung;
- A_{is} die Fläche des Quantifizier-Ions des verwendeten Internen Standards ($^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 28, 52, 101, 138, 153 oder 180 ng/ml);
- A_{rs} die Fläche des Quantifizier-Ions von PCB 209;
- Q_{is} die Menge des Internen Standards $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 28, 52, 101, 138, 153 oder 180, ng/ml;
- Q_{rs} die Menge des PCB 209, ng/ml;
- Q_x die Menge der zu analysierenden Verbindung, ng/ml.

Somit wird der durchschnittliche relative Responsefaktor wie folgt berechnet:

$$\overline{RRF}_{(n)} = \frac{1}{5} \times \sum_{i=2}^6 RRF_i(n) \quad (3)$$

Dabei ist:

$\overline{RRF}_{(n)}$ der durchschnittliche relative Responsefaktor;

n die zu analysierende Verbindung;

i das Kalibrierniveau (2 bis 6).

ANMERKUNG Niveau 1 ist die Blindprobe.

Somit wird der durchschnittliche relative Responsefaktor für den Internen Standard ($^{13}\text{C}_{12}$ -PCB-Gemisch) wie folgt berechnet:

$$\overline{RRF}_{(m)} = \frac{1}{5} \times \sum_{i=2}^6 RRF_i(m) \quad (4)$$

Dabei ist:

$\overline{RRF}_{(m)}$ der durchschnittliche relative Responsefaktor für den Internen Standard ($^{13}\text{C}_{12}$ -PCB-Gemisch):

m der Interne Standard ($^{13}\text{C}_{12}$ PCB 28, 52, 101, 138, 153 oder 180 ng/ml);

i das Kalibrierniveau (2 bis 6).

ANMERKUNG Niveau 1 ist die Blindprobe.

Berechnung der Konzentration der zu analysierenden Verbindung.

Die Konzentration der zu analysierenden Verbindung wird wie folgt berechnet:

$$C_x = \frac{A_x \times Q_{is}}{A_{is} \times W \times \overline{RRF}_{(n)}} \quad (5)$$

Dabei ist:

- C_x die Konzentration der zu analysierenden Verbindung, ng/g;
- A_x die Fläche des Quantifier-Ions der zu analysierenden Verbindung in dem Probenextrakt;
- A_{is} die Fläche des Quantifier-Ions des verwendeten Internen Standards ($^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 28, 52, 101, 138, 153 oder 180) in dem Probenextrakt;
- Q_{is} die Menge des Internen Standards $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 28, 52, 101, 138, 153 oder 180, ng/ml;
- W die Masse des injizierten Probemengenäquivalents, g/ml.

10.5 Wiederfindungsrate

Die Wiederfindungsrate des verwendeten Internen Standards ($^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 28, 52, 101, 138, 153 oder 180) wird wie folgt berechnet:

$$\text{Prozentuale Wiederfindungsrate (\%)} = \frac{A_{is} \times Q_{rs}}{Q_{is} \times A_{rs} \times \overline{RRF}_{(m)}} \times 100 \quad (6)$$

Dabei ist:

- A_{is} die Fläche des Quantifier-Ions des verwendeten Internen Standards ($^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 28, 52, 101, 138, 153 oder 180) in der Probe;
- A_{rs} die Fläche des Quantifier-Ions des PCB 209 in der Probe;
- Q_{is} die Menge des Internen Standards $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 28, 52, 101, 138, 153 oder 180, ng/ml;
- Q_{rs} die Menge des PCB 209, ng/ml.

Die gesammelten Daten ermöglichen die Überprüfung einer Reihe von Werten der Wiederfindungsrate:

- Die Injektionseffizienz kann aus der Fläche für PCB 209 in dem Probenextrakt im Vergleich zu der durchschnittlichen Fläche der Kalibrierniveaus berechnet werden. Die Injektionseffizienz sollte zwischen 60 % und 150 % liegen.
- Die prozentuale Wiederfindungsrate für die Internen Standards ($^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 28, 52, 101, 138, 153 oder 180) in einer Probe kann wie folgt berechnet werden:
 - die relative Fläche des $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 28, 52, 101, 138, 153 oder 180 wird durch Bestimmung des Verhältnisses zwischen den Flächen des $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 28, 52, 101, 138, 153, oder 180 und PCB 209 von der zu analysierenden Probe berechnet;
 - dann wird das Verhältnis für $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 28, 52, 101, 138, 153 oder 180 und PCB 209 in einem Lösemittelstandard berechnet;

- zum Schluss wird das berechnete PCB-Verhältnis in der Probe durch das PCB-Verhältnis im Lösemittelstandard geteilt und mit 100 % multipliziert.

ANMERKUNG 1 Während des Verdampfens können die leichter flüchtigen Verbindungen verloren gehen, was leicht an dem Profil erkennbar ist und das zu einer geringeren Wiederfindungsrate für die leichteren und möglicherweise leichter flüchtigen Verbindungen und zu einer höheren Wiederfindungsrate für die schwereren und weniger flüchtigen Verbindungen führt.

- Die prozentuale Wiederfindungsrate für die natürlichen PCB und Pestizide (Richtigkeit) kann durch den Vergleich des für die angereicherte Blindwertprobe berechneten Wertes mit dem theoretischen Wert (angereicherte Menge) berechnet werden. Die Richtigkeit sollte zwischen 80 % und 110 % für PCB und zwischen 70 % und 120 % für Pestizide betragen (siehe Entscheidung 2002/657/EG [3]).

ANMERKUNG 2 Leistungskriterien für Verfahren zur Bestimmung von ndl-PCB sind in der Verordnung (EG) Nr. 152/2009 der Kommission, Kapitel III, festgelegt.

11 Präzision

11.1 Ringversuch

Einzelheiten eines Ringversuchs zur Präzision des Verfahrens sind in [4] zusammengefasst. Die aus diesem Ringversuch abgeleiteten Werte sind möglicherweise nicht auf andere Konzentrationsbereiche und/oder Matrices als die angegebenen anwendbar.

11.2 Wiederholpräzision und Präzision innerhalb der teilnehmenden Laboratorien

Die absolute Differenz zwischen zwei einzelnen Untersuchungsergebnissen, die an identischem Untersuchungsmaterial durch denselben Bearbeiter mit derselben Geräteausstattung in kürzest möglichem Zeitabstand gewonnen wurde, wird in nicht mehr als 5 % der Fälle die Wiederholgrenze r überschreiten. Diese Grenzwerte können Anhang B entnommen werden.

11.3 Vergleichpräzision und Präzision zwischen den teilnehmenden Laboratorien

Die absolute Differenz zwischen zwei einzelnen Untersuchungsergebnissen, die an identischem Untersuchungsmaterial in zwei verschiedenen Laboratorien gewonnen wurde, wird in nicht mehr als 5 % der Fälle die Vergleichsgrenze R überschreiten. Diese Grenzwerte können Anhang B entnommen werden.

12 Untersuchungsbericht

Der Untersuchungsbericht muss mindestens folgende Daten enthalten:

- a) die zur Identifizierung der Probe notwendigen Informationen;
- b) Verweisung auf diese Europäische Norm;
- c) das Datum des Probeneinganges;
- d) die Untersuchungsergebnisse und die Einheiten, in denen sie ausgedrückt wurden; gegebenenfalls sind die Wiederfindungsraten zusammen mit den Untersuchungsergebnissen anzugeben und es ist anzugeben, ob die Untersuchungsergebnisse mit diesen Wiederfindungsraten korrigiert wurden.

13 Wichtige Überlegungen zu diesem Verfahren

13.1 Alternative Extraktionstechniken

Es ist möglich, alternative Extraktionstechniken (z. B. beschleunigte Lösemittelextraktion [en: accelerated solvent extraction, ASE]) und Extraktionslösemittel (z. B. wie in [5] beschrieben) anzuwenden. Die Eignung muss nachgewiesen werden.

13.2 Andere Mengen an Siliciumoxid

Es ist möglich, andere Mengen an Siliciumoxid mit anderem Desaktivierungszustand sowie andere Elutionsmittel zu verwenden, wie in [5] beschrieben. Die Eignung muss nachgewiesen werden.

13.3 Anderer Reinigungsschritt

Es ist möglich, einen anderen Reinigungsschritt anstelle von GPC anzuwenden. Die Eignung muss nachgewiesen werden.

13.4 Anderer Interner Standard

Es ist möglich, einen anderen Internen Standard für die OCP-Bestimmung zu verwenden. Die Eignung muss nachgewiesen werden. Für die PCB-Bestimmung ist die Verwendung von mit ^{13}C markierten Internen Standards obligatorisch.

13.5 Optimale GC-MS/MS-Einstellungen

Optimale GC-MS/MS-Einstellungen können zwischen verschiedenen Systemen variieren. Es ist möglich, verschiedene Einstellungen anzuwenden. Die Eignung muss nachgewiesen werden.

Anhang A (informativ)

Beschreibung des PTV-Injektionssystems (falls dieses zur Verfügung steht)

A.1 Probenvorbereitungsverfahren

Die Probenvorbereitung ist ähnlich der in Abschnitt 9 dieses Dokuments beschriebenen Vorbereitung. Der Unterschied liegt in dem zu injizierenden Endvolumen. Anstelle der in einen splitlosen Injektor injizierten 2 µl ist das nachstehend angeführte Beispiel für 50 µl LV PTV (PTV-Injektor mit Temperaturprogramm und mit großem Volumen). Um die gleiche Empfindlichkeit im Vergleich zu der splitlosen Injektion zu erreichen, kann ein 25-mal größeres Endvolumen verwendet werden (bei einer splitlosen Injektion würden 5 ml statt 200 µl verwendet werden). Eine höhere Empfindlichkeit kann durch Verdampfung von mehr Lösemittel erreicht werden.

A.2 Bedingungen der PTV-Injektion bei Anwendung der 50-µl-Injektion (Extrakte sind in Hexan/Decan gelöst (95/5, [5.2.5]))

Anfangstemperatur (Grundlinie):	80 °C
Modus:	PTV Large Volume
Geteilter Gasstrom:	100 ml/min
Splitlose Zeit:	2 min
Temperatur des Lösemittelventils:	150 °C
Druckstoß:	150 kPa
Druckstoßdauer:	1 min
Verdampfungsphase:	eingeschaltet
Reinigungsphase:	eingeschaltet
Staudruck:	ausgeschaltet
Rückfluss:	ausgeschaltet
Injektionsdauer:	0,2 min (abhängig von der Injektionsgeschwindigkeit; in diesem Beispiel 5 µl/s)
Lüftungsdurchfluss:	50 ml/min
Verdampfungsrate:	10 °C/s
Verdampfungstemperatur:	80 °C
Verdampfungsdauer:	0,8 min

Transferrate:	10 °C/s
Transfertemperatur:	280 °C
Transferdauer:	30 min
Reinigungsrate:	10 °C/s
Reinigungstemperatur:	340 °C
Reinigungszeit:	2 min (dieser Arbeitsgang ist vorzusehen, nachdem die zu analysierenden Verbindungen an der Säule eluiert wurden)
Reinigungsdurchfluss:	100 ml/min

Anhang B (informativ)

Ringversuch

Die folgenden Daten wurden in einem Ringversuch [4] nach AOAC-Richtlinien [6] und ISO-Leitlinien [7], [8] für Ringversuchverfahren zur Validierung der Merkmale eines Analyseverfahrens ermittelt. Nicht konforme Ergebnisse wurden vor der statistischen Auswertung ausgeschlossen. Ausreißerwerte nach Cochran und Grubs wurden entfernt. Die funktionellen Beziehungen zwischen der Wiederholpräzisions-/Vergleichspräzisions-Standardabweichung und dem gemessenen Wert wurden wie in ISO 5725-2 [8] beschrieben berechnet. HorRat-Werte wurden berechnet.

Bei einer Reihe von Organochlorpestiziden wurde eine relativ hohe Anzahl von Laboratorien als nichtkonform ausgeschlossen, da die Ergebnisse signifikant höher ($> 300\%$ des angereicherten Wertes für die beiden Futtermittelproben und das Pflanzenöl; $> 400\%$ für die Fischmatrices) oder niedriger ($< 30\%$ des angereicherten Wertes) waren als der angereicherte Wert. Diese Ergebnisse wurden fast ausschließlich von 5 Laboratorien geliefert, bei denen 32% bis 41% der Ergebnisse zu hoch oder zu niedrig waren. Bei vier anderen Laboratorien lagen nur 2% bis 4% der Ergebnisse außerhalb des oben genannten Bereichs, während es beim letzten Laboratorium 8% waren. Durch den Ausschluss dieser Ergebnisse lag die Anzahl der Laboratorien, die in die statistische Auswertung einbezogen wurden, in vielen Fällen unter 8. CEN TC327/WG1 bewertete diese Ergebnisse und kam überein, dass, wenn mindestens fünf Laboratorien nach Ausschluss nichtkonformer Laboratorien und Ausreißer übrig bleiben, das Verfahren für diese spezifische Analyt/Matrix-Kombination als vollständig validiert gilt.

Das Verfahren wurde vollständig für alle ndl-PCB, Aldrin, Dieldrin, Endrin, cis-Chlordan (außer Fischöl), trans-Chlordan, p,p'-DDT (außer Pflanzenöl), o,p'-DDT, p,p'-TDE, pp'-DDE, alpha-Endosulfan, beta-Endosulfan, Endosulfan-Sulfat (außer Schweinefutter und Pflanzenöl), Heptachlor, Heptachlorepoxyd, HCB (außer Fischöl), alpha-HCH, beta-HCH und Gamma-HCH (außer Fischöl) validiert. Das Verfahren wurde für Oxychlordan nicht vollständig validiert.

Die Eignung der Norm konnte für die neu hinzugefügten Organochlorpestizide (Endrin-Keton, cis- und trans-Nonachlor und Photoheptachlor) nicht bewertet werden, vor allem weil nur fünf von zehn Laboratorien Ergebnisse eingereicht hatten und einige Laboratorien nicht konform waren.

Das Schweinefutter, Hühnerfutter, Pflanzenöl, Fischöl und Fischmehl wurden durch Anreicherung der Probe mit den Zielanalyten hergestellt. Die angereicherten Konzentrationen betrugen $0,8\text{ ng/g}$ bis 35 ng/g für einzelne PCB und 5 ng/g bis 355 ng/g für einzelne OCP. Fischöl und Pflanzenöl wurden auf das höchste Niveau angereichert. Die Anreicherungs-niveaus wurden in Bezug auf die in der Richtlinie 2002/32/EG festgelegten Höchstwerte gewählt. Vor der Hauptstudie wurde ein Vorversuch mit kontaminierten Materialien organisiert, um das Leistungsvermögen der Laboratorien zu prüfen, die Interesse an einer Teilnahme an diesem Ringversuch bekundet hatten. Weitere Einzelheiten finden sich an anderer Stelle [4].

Tabelle B.1 — Aldrin — Zusammenfassung der Ergebnisse des Ringversuchs

Materialname	Hühner- futter	Schweine- futter	Pflanzenöl	Fischöl	Fischmehl
Analyt	Aldrin	Aldrin	Aldrin	Aldrin	Aldrin
Jahr des Ringversuchs	2016	2016	2016	2016	2016
Anzahl der Laboratorien	10	10	10	10	10
Anzahl der Proben	2	2	2	2	2
Anzahl der Laboratorien, die als nicht konform angesehen wurden	4	3	4	4	3
Anzahl der Ausreißer (Laboratorien)	0	0	0	0	1
Anzahl der angenommenen Ergebnisse	12	14	12	12	12
Mittelwert, $\bar{x}$, µg/kg	9,6	10,6	31,9	34,4	27,8
Standardabweichung der Wiederholpräzision s_r , µg/kg	1,8	1,8	4,5	4,5	1,7
Relative Standardabweichung der Wiederholpräzision, RSD_r , %	19,1	16,6	14,1	13,2	6,2
Wiederholgrenze r [$r = 2,8 \times s_r$], µg/kg	5,1	4,9	12,6	12,7	4,9
Standardabweichung der Vergleichpräzision s_R , µg/kg	3,3	3,1	10,4	11,3	8,7
Relative Standardabweichung der Vergleichpräzision, RSD_R , %	34,7	29,0	32,5	32,8	31,2
Vergleichgrenze R [$R = 2,8 \times s_R$], µg/kg	9,3	8,6	29,1	31,6	24,3
HorRat-Wert	1,08	0,91	1,21	1,23	1,14

Tabelle B.2 — Dieldrin — Zusammenfassung der Ergebnisse des Ringversuchs

Materialname	Hühner- futter	Schweine- futter	Pflanzenöl	Fischöl	Fischmehl
Analyt	Dieldrin	Dieldrin	Dieldrin	Dieldrin	Dieldrin
Jahr des Ringversuchs	2016	2016	2016	2016	2016
Anzahl der Laboratorien	8	8	10	10	10
Anzahl der Proben	2	2	2	2	2
Anzahl der Laboratorien, die als nicht konform angesehen wurden	1	1	3	2	2
Anzahl der Ausreißer (Laboratorien)	1	1	0	1	1