

DIN EN 16274



ICS 71.100.60

Entwurf

Einsprüche bis 2020-04-21
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN 16274:2012-12

**Analyseverfahren für Allergene –
Quantifizierung einer erweiterten Liste von zu vermutenden Allergenen in
einspritzfertigen Duftstoffen mittels
Gaschromatographie/Massenspektrometrie;
Deutsche und Englische Fassung prEN 16274:2020**

Method for Analysis of Allergens –

Quantification of an extended list of 57 suspected allergens in ready to inject fragrance materials by gas chromatography mass spectrometry;
German and English version prEN 16274:2020

Méthodes d'analyse des allergènes –

Quantification des fragrances allergènes suspectées dans les produits de consommation –
Étape 1: Analyse par GC d'échantillons prêts à être injectés;
Version allemande et anglaise prEN 16274:2020

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2020-02-21 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, Saatwinkler Damm 42/43, 13627 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 137 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 16274:2020) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 347 „Analyseverfahren für Allergene“ erarbeitet, dessen Sekretariat von SNV (Schweiz) gehalten wird.

Das zuständige deutsche/nationale Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-07-01 AA „Kosmetische Mittel“ 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.

Änderungen

Gegenüber DIN EN 16274:2012-12 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) die Anzahl der gleichzeitig gemessenen Analyten wurde auf 57 erhöht;
- b) redaktionelle Überarbeitung.

Analyseverfahren für Allergene — Quantifizierung einer erweiterten Liste von zu vermutenden Allergenen in einspritzfertigen Duftstoffen mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie

Méthodes d'analyse des allergènes — Quantification des fragrances allergènes suspectées dans les produits de consommation — Étape 1: Analyse par GC d'échantillons prêts à être injectés

Method for Analysis of Allergens — Quantification of an extended list of 57 suspected allergens in ready to inject fragrance materials by gas chromatography mass spectrometry

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm

Dokument-Untertyp:

Dokument-Stage: CEN-Umfrage

Dokument-Sprache: D

STD Version 2.9p

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung	7
5 Reagenzien	8
5.1 Lösemittel	8
5.1.1 Methylpivalat	8
5.1.2 tert-Butylmethylether (MTBE)	8
5.2 Referenzproben (mutmaßliche Allergene)	8
5.2.1 α -Hexylzimtaldehyd (Hauptisomer in Vertofix®, angegeben in CAS-Nummer), CAS-Nr. [32388-55-9]	9
5.2.2 Acetyleugenol/Isoeugenylacetat, CAS-Nr. [93-29-8]	9
5.2.3 Amylsalicylat, Pentylsalicylat CAS-Nr. [2050-08-0]	9
5.2.4 α -Amylzimtaldehyd (Flosal®), CAS-Nr. [122-40-7, 78605-96-6]	9
5.2.5 α -Amyl-Zimtalkohol, CAS-Nr. [101-85-9, 184900-07-0]	9
5.2.6 Anethol, CAS-Nr. [104-46-1, 4180-23-8]	9
5.2.7 Anisalkohol, CAS-Nr. [105-13-5]	9
5.2.8 Benzaldehyd, CAS-Nr. [100-52-7]	9
5.2.9 Benzylalkohol, CAS-Nr. [100-51-6]	9
5.2.10 Benzylbenzoat, CAS-Nr. [120-51-4]	9
5.2.11 Benzylcinnamat, CAS-Nr. [103-41-3]	9
5.2.12 Benzylsalicylat, CAS-Nr. [118-58-1]	9
5.2.13 Campher, CAS-Nr. [76-22-2]	9
5.2.14 Carvon, CAS-Nr. [99-49-0]	9
5.2.15 β -Caryophyllen, CAS-Nr. [87-44-5]	9
5.2.16 Zimtaldehyd, CAS-Nr. [104-55-2, 14371-10-9]	9
5.2.17 Zimtalkohol, CAS-Nr. [104-54-1, 4407-36-7]	9
5.2.18 Citral, CAS-Nr. [5392-40-5]	9
5.2.19 Citronellol, CAS-Nr. [106-22-9]	10
5.2.20 Cumarin, CAS-Nr. [91-64-5]	10
5.2.21 β -Damascenon (Rosenketon-4), CAS-Nr. [23696-85-7]	10
5.2.22 α -Damascenon, CAS-Nr. [43052-87-5]	10
5.2.23 β -Damascenon (E), CAS-Nr. [23726-91-2]	10
5.2.24 δ -Damascenon (Rosenketon-3), CAS-Nr. [57378-68-4]	10
5.2.25 Dimethylbenzylcarbinylacetat (DMBCA), CAS-Nr. [151-05-3]	10
5.2.26 Ebanol, CAS-Nr. [67801-20-1]	10
5.2.27 Eugenol, CAS-Nr. [97-53-0]	10
5.2.28 Acetyleugenol, CAS-Nr. [93-28-7]	10
5.2.29 Farnesol, CAS-Nr. [4602-84-0]	10
5.2.30 Galaxolid (Hexamethylindanopyran), CAS-Nr. [1222-05-5]	10
5.2.31 Geraniol, CAS-Nr. [106-24-1]	10
5.2.32 Geranylacetat, CAS-Nr. [105-87-3]	10
5.2.33 Hexadecanolacton/Dihydroambrettolid, CAS-Nr. [109-29-5]	10

5.2.34	α -Hexylzimtaldehyd, CAS-Nr. [101-86-0, 165184-98-5]	10
5.2.35	Hydroxycitronellal, CAS-Nr. [107-75-5]	10
5.2.36	Tetramethylacetyloctahydronaphthalen (ISO E® Super)	10
5.2.37	Isoeugenol, CAS-Nr. [97-54-1]	11
5.2.38	α -Isomethylionon, CAS-Nr. [127-51-5]	11
5.2.39	2-(4-tert-Butylbenzyl)propionaldehyd (Lilial®), CAS-Nr. [80-54-6]	11
5.2.40	Limonen, CAS-Nr. [138-86-3]	11
5.2.41	Linalool, CAS-Nr. [78-70-6]	11
5.2.42	Linalylacetat, CAS-Nr. [115-95-7]	11
5.2.43	Hydroxyisohexyl-3-cyclohexencarboxaldehyd (Lyrall®), CAS-Nr. [31906-04-4]	11
5.2.44	3-Trimethylbenzolpropanol (Majantol®), CAS-Nr. [103694-68-4]	11
5.2.45	Menthol, CAS-Nr. [1490-04-6, 89-78-1]	11
5.2.46	Methylsalicylat, CAS-Nr. [119-36-8]	11
5.2.47	Methylheptincarbonat (Folione®), CAS-Nr. [111-12-6]	11
5.2.48	α -Pinen, CAS-Nr. [80-56-8]	11
5.2.49	β -Pinen, CAS-Nr. [127-91-3]	11
5.2.50	3-Propylidennaphthalid, CAS-Nr. [17369-59-4]	11
5.2.51	Salicylaldehyd, CAS-Nr. [90-02-8]	11
5.2.52	Santalol, CAS-Nr. [11031-45-1]	11
5.2.53	Sclareol, CAS-Nr. [515-03-7]	11
5.2.54	α -Terpinen, CAS-Nr. [99-86-5]	11
5.2.55	α -Terpineol, CAS-Nr. [98-55-5] für α -Terpineol; 5.2.55a für γ -Terpineol CAS-Nr. [586-81-2]; 5.2.55b für <i>cis</i> - β -Terpineol CAS-Nr. [138-87-4]; 5.2.55c für <i>trans</i> - β -Terpineol CAS-Nr. [7299-41-4]	12
5.2.56	Terpinolen, CAS-Nr. [586-62-9]	12
5.2.57	Vanillin, CAS-Nr. [121-33-5]	12
5.3	Interne Standards (ISTD)	12
5.3.1	1,4-Dibrombenzen (IS _A), CAS-Nr. [106-37-6], Reinheit ≥ 98 %	12
5.3.2	4,4'-Dibrombiphenyl (IS _B), v [92-86-4], Reinheit ≥ 98 %	12
6	Geräte	12
6.1	Gaschromatograph mit Flammenionisationsdetektor (GC-FID)	12
6.2	Gaschromatograph mit gekoppeltem Massenspektrometer (GC-MS)	12
6.2.1	Allgemeines	12
6.2.2	GC-MS-System	12
6.3	Kapillarsäulen für GC	13
6.4	Analysenwaage	13
7	Bedingungen für die Erfassung mit Massenspektrometern	13
7.1	Festlegung von Retentionszeiten und SIM-Fenster-Chromatograph	13
7.2	SIM-Fenster — Einstellung und Kriterien	14
7.3	Verifizierung des GC-MS-Scanmodus	14
8	Stamm- und Probenlösungen - Herstellung und Lagerung	14
8.1	Allgemeine Informationen	14
8.1.1	Wahl des Lösemittels	14
8.1.2	Sonstiges	15
8.2	Herstellung von Stammlösungen aus Referenzproben	15
8.3	Herstellung von Lösungen des internen Standards und Kalibrierlösungen	15
8.3.1	Allgemeines	15
8.3.2	Stammlösungen von internen Standards (entspricht 1 g/kg)	15
8.3.3	Konzentrationen von Kalibrierlösungen	16
8.3.4	Herstellen von Kalibrierlösungen	17
9	Probenanalyse	19
9.1	Allgemeines	19
9.2	Herstellung der Probe für die Analyse	19

9.3	Ablauf.....	19
9.3.1	Blindwertprobe.....	19
9.3.2	Kalibrierlösungen	19
9.3.3	Kontrolllösung.....	20
9.3.4	Proben	20
10	Datenvalidierung und -bearbeitung.....	21
10.1	Allgemeines	21
10.2	Untersuchung von Q-Werten.....	21
10.3	Relative Intensität charakteristischer Ionen in SIM.....	22
10.4	Relative Ionenintensität bei Anwendung von Scandaten	22
10.5	Schema zur Verifizierung der Daten und Angabe der Endkonzentration	22
10.6	Überprüfung des GC-MS-Scanmodus	22
10.7	Auswertung des Massenspektrums im SCAN-Modus.....	22
11	Untersuchungsbericht.....	23
12	Verweisungen:.....	23
Anhang A (informativ) Bestimmung der Reinheit von Kalibriermitteln und Referenzproben.....		24
A.1	Allgemeine Informationen.....	24
A.2	Vollständige Charakterisierung der flüchtigen Bestandteile.....	26
A.2.1	Identifizierung der einzelnen Bestandteile der Referenzproben mittels GC-MS.....	26
A.2.2	Berechnung des vorhergesagten RRF (RRF_{pred}).....	26
A.2.3	Berechnung der Menge an flüchtigen Bestandteilen in den einzelnen Referenzproben.....	27
A.3	Bestimmung der Reinheit (%) aus RRF oder FID-Fläche in %.....	28
Anhang B (informativ) GC-Kapillarsäulenparameter		31
Anhang C (informativ) SIM-Ionen für SIM- oder SIM-SCAN-Anwendungen		32
Anhang D (informativ) Beispiel für SIM-Fenster		40
Anhang E (informativ) Beispiel für Chromatogramme		44
Anhang F (normativ) Entscheidungsbaum zur Quantifizierung von mutmaßlichen Allergenen		46
Anhang G (informativ) Herstellung von Stammlösungen aus Referenzproben		47
G.1	Allgemeine Informationen.....	47
G.2	Reinheit der Referenzprobe	47
G.3	Stammlösungen.....	48
G.3.1	Getrennte Stammlösungen von Allergenen (10 g/kg)	48
Anhang H (informativ) Kalibrierverfahren und Ansatz.....		53
H.1	Auftragen der Kalibrierkurve	53
H.1.1	Asymmetrie des Peaks und Auswirkung auf die Kalibrierung.....	53
H.1.2	Auswahl des internen Standards.....	53
H.1.3	Auswahl des internen Standards.....	54
Anhang I (informativ) Quantifizierung der Allergene		55
I.1	Allgemeine Informationen.....	55
I.2	Bestimmung von C_0	56
I.3	Beurteilung der analytischen Messung.....	57
I.4	Untersuchung von Q-Werten.....	57
Anhang J (informativ) Als Zielanalyten ausgewählte mutmaßliche Allergene — Begründung		58
Anhang K (informativ) Andere allgemeine Informationen.....		65

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 16274:2020) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 347 „Analyseverfahren für Allergene“ erarbeitet, dessen Sekretariat von SNV gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN 16274:2012 ersetzen.

Dieses Dokument wurde im Rahmen eines Mandats erarbeitet, das die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelszone CEN erteilt haben, und unterstützt grundlegende Anforderungen der EU-Richtlinien.

Einleitung

Richtlinie 2003/15/EG zur Änderung der Richtlinie 76/768/EWG des Rates zur Angleichung der Rechtsvorschriften der Mitgliedstaaten über kosmetische Mittel regelt die Verpflichtung, Verbraucher über das Vorhandensein von 24 chemisch definierten Duftstoffen zu informieren, die als potenzielle Allergene in kosmetischen Mitteln identifiziert wurden. Nach der Veröffentlichung des Dokuments des Wissenschaftlichen Ausschusses „Verbrauchersicherheit“ (en: Scientific Committee on Consumer Safety, SCCS/1459/11) wurde vorgeschlagen, dieses Dokument auf 57 Duftstoffe auszudehnen, von denen einige in mehreren isomeren Formen oder als Gemische vorliegen. Dies erforderte die Entwicklung eines neuen Quantifizierungsverfahrens als Reaktion auf die Entwicklung von behördlichen Anforderungen.

Das neue Analysenverfahren wurde unter Anwendung der Gaschromatographie und Massenspektrometrie (GC-MS) entwickelt, um die 57 Duftstoffe und ihre relevanten Isomere in einspritzfertigen Ausgangsstoffen von Duftstoffen und Ölen sowie deren Verdünnungen nachzuweisen und zu quantifizieren.

Das Verfahren, das in diesem Dokument beschrieben wird, enthält keine Anforderungen an die Herstellung von Proben in Matrices, bei denen ein direktes Einspritzen in den GC nicht durchführbar ist.

Das vorliegende Dokument beschreibt ein analytisches Arbeitsverfahren, das auf den Entwicklungen der IFRA Analytical Working Group basiert. Das Analysenverfahren wurde auf der Grundlage eines Ringversuchs validiert, der von der CEN-Arbeitsgruppe unter Anwendung des Genauigkeitsprofilansatzes durchgeführt wurde.

1 Anwendungsbereich

Das vorliegende Verfahren ermöglicht die Identifizierung und Quantifizierung der als Allergene vermuteten flüchtigen Verbindungen, die in den in kosmetischen Mitteln verwendeten Duft- und Rohstoffen enthalten sind. Die Analyse wird mithilfe der Gaschromatographie und Massenspektrometrie (GC-MS) an Matrixproben durchgeführt, die „einspritzfertig“ und mit der Gaschromatographie kompatibel sind.

Die von diesem Verfahren erfassten Analyten basieren auf den Inhalten der in der Stellungnahme des SCCS 1459/11 (1) enthaltenen Tabelle 13.1 und Tabelle 13.2 und den von der Europäischen Kommission vorgeschlagenen aufgeführten Rechtsvorschriften. Die Begründung für die endgültige Auswahl der während des Verfahrens angewendeten Analyten ist in der in Anhang J enthaltenen Tabelle aufgeführt.

Das Verfahren wurde auf IFRA- und CEN-Ebene mit zwei Lösemitteln validiert, und zwar mit Methylpivalat und tert-Methylbutylether.

Viele der Allergene, die in der der EU-Kommission vorgelegten SCCS-Stellungnahme enthalten sind, bestehen aus mehreren Isomeren derselben Moleküle und/oder komplexen Gemischen.

In vielen Fällen kann diese Komplexität durch dieses Verfahren gelöst werden, es verbleibt jedoch eine Reihe von Zielanalyten, bei denen dies nicht der Fall ist.

Zusätzlich wird in der Stellungnahme des SCCS auch eine Reihe von CAS-Nummern dokumentiert, die sich auf dasselbe Ausgangsmolekül beziehen. Diese beziehen sich auf die optisch aktiven Formen der ähnlichen Grundstruktur. Bei diesem Verfahren werden die optisch aktiven Formen nicht berücksichtigt, da sie spezielle (und in einigen Fällen sehr unterschiedliche) GC-Phasen erfordern, damit die erforderliche Trennung erhalten wird.

2 Normative Verweisungen

Es gibt keine normativen Verweisungen in diesem Dokument.

3 Begriffe

Es werden keine Begriffe in diesem Dokument angegeben.

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

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

4 Kurzbeschreibung

Dieses Verfahren umfasst einen Kalibrierbereich von 2 ppm bis 240 ppm; dies erlaubt die Quantifizierung von mutmaßlichen Allergenen in verdünnten Matrices im Bereich von 20 ppm bis 2 400 ppm je Analyt; über die obere Konzentrationsstufe hinaus besteht die Empfehlung, dass die Probe weiter verdünnt werden sollte oder dass GC-FID (GC mit Flammenionisationsdetektion) vorzugsweise in Kombination mit internen Standard- und Responsefaktoren angewendet wird.

Die Matrixproben werden in insgesamt 4 Durchläufen mithilfe von GC-MS auf mutmaßliche Allergene analysiert, wobei 2 Analytensätze verwendet werden, die beide auf zwei getrennte Säulen unterschiedlicher Polarität injiziert werden. Wenn erforderlich, sollten die Matrixproben zuerst in einem geeigneten Lösemittel verdünnt werden.

Ihre Identifizierung und Quantifizierung wird durch die Betriebsart Einzelionendetektion (SIM; SIM-SCAN) über die relative Häufigkeit von 3 charakteristischen Fragment-Ionen erreicht. Die Berechnung und Verwendung des entsprechenden Q-Werts oder eines ähnlichen Datenauswertungsfaktors können angewendet werden; es wird ein „Entscheidungsbaum“ (siehe Anhang F) für die Endprüfung und Validierung der Daten durch einen geschulten und erfahrenen Analytiker beschrieben. Es wird eine zusätzliche vollständige SCAN-Analyse empfohlen, um das Vorhandensein des Allergens in Matrixproben zu bestätigen, wenn nur das SIM-Verfahren angewendet wurde.

Ihre Quantifizierung erfolgt in allen Modi durch Kalibrierung unter Anwendung von Standardlösungen und der internen Standards 1,4-Dibrombenzol und 4,4-Dibrombiphenyl. Der „Entscheidungsbaum“ wird zur Bestimmung der Endkonzentration unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Konzentrationswerte angewendet, die bei der Analyse in beiden Säulen erhalten wurden.

Dieses Verfahren wurde als eine Vorgehensweise verfasst, die in einem Arbeitslaboratorium (vom Typ QS und F&E) angewendet werden muss. Der Anwender muss ganz besonders auf die in den Anhängen enthaltenen Einzelheiten und auf die besonderen Bemerkungen („Anmerkungen“) im Text zur Anwendung dieser Vorgehensweise achten.

5 Reagenzien

5.1 Lösemittel

5.1.1 Methylpivalat

CAS [598-98-1]

Reinheit $\geq 99\%$

Eine Destillation zur Erzielung einer Reinheit von $> 99,9\%$ ist empfehlenswert, um Verunreinigungen zu beseitigen, die wahrscheinlich das Signal von Analyten, z. B. Terpenen, beeinträchtigen. Wenn eine handelsübliche Qualität verwendet wird, muss diese analysiert und bestätigt werden, damit keine Störsignale hervorgerufen werden.

5.1.2 tert-Butylmethylether (MTBE)

CAS [1634-04-4]

Reinheit $\geq 99\%$

Eine Destillation zur Erzielung einer Reinheit von $> 99,9\%$ ist empfehlenswert, um Verunreinigungen zu beseitigen, die wahrscheinlich das Signal von Analyten, z. B. Terpenen, beeinträchtigen. Wenn eine handelsübliche Qualität verwendet wird, muss diese analysiert und bestätigt werden, damit keine Störsignale hervorgerufen werden.

Alternative Lösemittel sind verfügbar. Wenn diese für dieses Verfahren verwendet werden, dann muss der Bearbeiter eine ausreichende Bewertung vornehmen, um nachzuweisen, dass das Lösemittel keine Bestandteile enthält, die die Analyten bei diesem Verfahren beeinträchtigen würden.

5.2 Referenzproben (mutmaßliche Allergene)

Zu Beginn sollte die Reinheit aller Standards durch GC-FID (Anhang A) bestimmt werden, wenn dies nicht vom Lieferanten zertifiziert wurde. Die genaue CAS-Nummer des Zielanalyten und die Begründung dafür sind in Anhang J angegeben.

5.2.1 α -Hexylzimtaldehyd (Hauptisomer in Vertofix®, angegeben in CAS-Nummer), CAS-Nr. [32388-55-9]

ANMERKUNG Hochvariable Zusammensetzung mit mindestens zwölf Bestandteilen mit einer Molmasse von 246 amu.

5.2.2 Acetyლეugenol/Isoeugenylacetat, CAS-Nr. [93-29-8]

5.2.3 Amylsalicylat, Pentylsalicylat CAS-Nr. [2050-08-0]

Dieses kann Isoamylsalicylat (CAS-Nr. [87-20-7]) enthalten, das nicht in dieser Untersuchung enthalten sein sollte.

5.2.4 α -Amylzimtaldehyd (Flosal®), CAS-Nr. [122-40-7, 78605-96-6]

ANMERKUNG Zwei mögliche Isomere (*E*, *Z*); nur das *E*-Isomer wird quantifiziert.

5.2.5 α -Amyl-Zimtalkohol, CAS-Nr. [101-85-9, 184900-07-0]

ANMERKUNG Zwei mögliche Isomere (*E*, *Z*); nur das *E*-Isomer wird quantifiziert.

5.2.6 Anethol, CAS-Nr. [104-46-1, 4180-23-8]

ANMERKUNG Zwei mögliche Isomere (*E*, *Z*); nur das *E*-Isomer wird quantifiziert.

5.2.7 Anisalkohol, CAS-Nr. [105-13-5]

5.2.8 Benzaldehyd, CAS-Nr. [100-52-7]

5.2.9 Benzylalkohol, CAS-Nr. [100-51-6]

5.2.10 Benzylbenzoat, CAS-Nr. [120-51-4]

5.2.11 Benzylcinnamat, CAS-Nr. [103-41-3]

ANMERKUNG Nur das *E*-Isomer wird quantifiziert.

5.2.12 Benzylsalicylat, CAS-Nr. [118-58-1]

5.2.13 Campher, CAS-Nr. [76-22-2]

5.2.14 Carvon, CAS-Nr. [99-49-0]

5.2.15 β -Caryophyllen, CAS-Nr. [87-44-5]

5.2.16 Zimtaldehyd, CAS-Nr. [104-55-2, 14371-10-9]

ANMERKUNG Zwei mögliche Isomere (*E*, *Z*), nur das *E*-Isomer wird quantifiziert.

5.2.17 Zimtalkohol, CAS-Nr. [104-54-1, 4407-36-7]

ANMERKUNG Zwei mögliche Isomere (*E*, *Z*), nur das *E*-Isomer wird quantifiziert.

5.2.18 Citral, CAS-Nr. [5392-40-5]

ANMERKUNG Sowohl Neral (*Z*-Isomer, CAS-Nr. [106-26-3]) als auch Geranial (*E*-Isomer, CAS-Nr. [141-27-5]) werden quantifiziert.

5.2.19 Citronellol, CAS-Nr. [106-22-9]

5.2.20 Cumarin, CAS-Nr. [91-64-5]

5.2.21 β -Damascenon (Rosenketon-4), CAS-Nr. [23696-85-7]

5.2.22 α -Damascenon, CAS-Nr. [43052-87-5]

ANMERKUNG Zwei mögliche Isomere (*E*, *Z*); nur das Hauptisomer *E* (92 % bis 99 %) wird quantifiziert.

5.2.23 β -Damascenon (*E*), CAS-Nr. [23726-91-2]

5.2.24 δ -Damascenon (Rosenketon-3), CAS-Nr. [57378-68-4]

ANMERKUNG 3 mögliche Isomere (trans/trans, cis/trans, trans/cis); nur das Hauptisomer (trans/trans, bis zu 90 %) wird quantifiziert.

5.2.25 Dimethylbenzylcarbinylnacetat (DMBCA), CAS-Nr. [151-05-3]

5.2.26 Ebanol, CAS-Nr. [67801-20-1]

ANMERKUNG Die zwei Isomere (*E*, *Z*) werden quantifiziert.

5.2.27 Eugenol, CAS-Nr. [97-53-0]

5.2.28 Acetyleugenol, CAS-Nr. [93-28-7]

5.2.29 Farnesol, CAS-Nr. [4602-84-0]

ANMERKUNG Vier mögliche Isomere: das (*E,E*)-Isomer ist (CAS-Nr. [106-28-5]) und das (*Z,E*)-Isomer ist (CAS-Nr. [3790-71-4]).

Empfehlung: Zur Quantifizierung anderer Isomere wird die Kalibrierkurve des *E,E*-Isomers angewendet.

5.2.30 Galaxolid (Hexamethylindanopyran), CAS-Nr. [1222-05-5]

ANMERKUNG Es werden nur die zwei Hauptisomere quantifiziert.

5.2.31 Geraniol, CAS-Nr. [106-24-1]

5.2.32 Geranylacetat, CAS-Nr. [105-87-3]

5.2.33 Hexadecanolacton/Dihydroambrettolid, CAS-Nr. [109-29-5]

5.2.34 α -Hexylzimtaldehyd, CAS-Nr. [101-86-0, 165184-98-5]

ANMERKUNG Mindestens zwei Isomere; nur das *E*-Isomer wird quantifiziert.

5.2.35 Hydroxycitronellal, CAS-Nr. [107-75-5]

5.2.36 Tetramethylacetyloctahydronaphthalen (ISO E® Super)

ANMERKUNG Dieses besteht aus mehreren Isomeren, einschließlich α (CAS-Nr. [68155-66-8]); dem Hauptisomer β (CAS-Nr. [54464-57-2]); γ (CAS-Nr. [68155-67-9]) und einem Nebenisomer (CAS-Nr. [54464-59-4]).

5.2.37 Isoeugenol, CAS-Nr. [97-54-1]

ANMERKUNG Zwei mögliche Isomere (*E,Z*); nur *E*-Isoeugenol wird quantifiziert.

5.2.38 α -Isomethylionon, CAS-Nr. [127-51-5]

ANMERKUNG Kann β -Isomethylionon (CAS-Nr. [79-89-0]), α -Methylionon (CAS-Nr. [7779-30-8]), β -Methylionon (CAS-Nr. [127-43-5]), Pseudo-Isomethylionon (CAS-Nr. [1117-41-5]) enthalten.

Andere Qualitäten dürfen andere Isomere enthalten, einschließlich des Hauptisomers. Diese Bestandteile sollten nicht untersucht werden.

5.2.39 2-(4-tert-Butylbenzyl)propionaldehyd (Lilial®), CAS-Nr. [80-54-6]

5.2.40 Limonen, CAS-Nr. [138-86-3]

5.2.41 Linalool, CAS-Nr. [78-70-6]

5.2.42 Linalylacetat, CAS-Nr. [115-95-7]

5.2.43 Hydroxyisohexyl-3-cyclohexencarboxaldehyd (Lyrall®), CAS-Nr. [31906-04-4]

ANMERKUNG Enthält Hydroxyisohexyl-4-cyclohexencarboxaldehyd (CAS-Nr. 51414-25-6) (bekannt als Lyrall, Nebenisomer), muss quantifiziert werden.

5.2.44 3-Trimethylbenzylpropanol (Majantol®), CAS-Nr. [103694-68-4]

5.2.45 Menthol, CAS-Nr. [1490-04-6, 89-78-1]

5.2.46 Methylsalicylat, CAS-Nr. [119-36-8]

5.2.47 Methylheptincarbonat (Folione®), CAS-Nr. [111-12-6]

5.2.48 α -Pinen, CAS-Nr. [80-56-8]

5.2.49 β -Pinen, CAS-Nr. [127-91-3]

5.2.50 3-Propylidennaphthalid, CAS-Nr. [17369-59-4]

Die zwei Isomere (*E,Z*) (*E*-Isomer: CAS-Nr. 56014-72-3 und *Z*-Isomer: CAS-Nr. 94704-89-9) werden quantifiziert (Isomerenverhältnis etwa 1 : 6).

5.2.51 Salicylaldehyd, CAS-Nr. [90-02-8]

5.2.52 Santalol, CAS-Nr. [11031-45-1]

ANMERKUNG Die zwei Isomere α -Santalol (CAS-Nr. [115-71-9]) und β -Santalol (CAS-Nr. [77-42-9]) werden quantifiziert.

5.2.53 Sclareol, CAS-Nr. [515-03-7]

5.2.54 α -Terpinen, CAS-Nr. [99-86-5]

5.2.55 α -Terpineol, CAS-Nr. [98-55-5] für α -Terpineol; 5.2.55a für γ -Terpineol CAS-Nr. [586-81-2]; 5.2.55b für *cis*- β -Terpineol CAS-Nr. [138-87-4]; 5.2.55c für *trans*- β -Terpineol CAS-Nr. [7299-41-4]

Empfehlung: Zur Quantifizierung anderer Isomere wird die Kalibrierkurve von α -Terpineol angewendet.

5.2.56 Terpinolen, CAS-Nr. [586-62-9]

5.2.57 Vanillin, CAS-Nr. [121-33-5]

5.3 Interne Standards (ISTD)

5.3.1 1,4-Dibrombenzen (IS_A), CAS-Nr. [106-37-6], Reinheit $\geq 98\%$.

5.3.2 4,4'-Dibrombiphenyl (IS_B), v [92-86-4], Reinheit $\geq 98\%$.

6 Geräte

6.1 Gaschromatograph mit Flammenionisationsdetektor (GC-FID)

Dieses Gerät wird nur zur Bestimmung der Reinheit von Referenzproben angewendet, die für Kalibrierzwecke, die ISTD vor der quantitativen Analyse, falls erforderlich, oder zur Quantifizierung von Analyten mit hoher Konzentration ($> 2,4\%$, wie sie z. B. in ätherischen Ölen enthalten sind) vorgesehen sind. Es ist empfehlenswert, die Reinheitsuntersuchung nach dem in Anhang A beschriebenen Verfahren durchzuführen.

Für die Messung von Analyten bei Konzentrationen $> 2,4\%$ steht ein GC-FID-Verfahren zur Verfügung [3]. Es muss beachtet werden, dass dieses Verfahren nicht alle in diesem Verfahren genannten Allergene implizit abdeckt: das in diesem Verfahren abgedeckte Prinzip kann jedoch auf alle in den vorgeschlagenen Rechtsvorschriften und in diesem Verfahren enthaltenen Analyten angewendet werden.

6.2 Gaschromatograph mit gekoppeltem Massenspektrometer (GC-MS)

6.2.1 Allgemeines

Dieses Gerät wird für die quantitative Analyse angewendet, um das Vorhandensein der mutmaßlichen Allergene festzustellen und deren Konzentration zu messen. Das System muss die folgenden Anforderungen erfüllen können:

6.2.2 GC-MS-System

- Ausgestattet mit einer elektronischen Steuerung von Trägergasdrücken und/oder -strömen.
- Es ist empfehlenswert, einen automatischen Probengeber anzuwenden, der mit einer Spritze ausgestattet ist, die eine Größe aufweist, die für die Injektion der Kalibrier- und Probenlösung geeignet ist.
- Der Glasinjektorliner muss inert sein und ein Innenvolumen aufweisen, das mit dem Ausdehnungsvolumen des Lösemittels zur Verdünnung kompatibel ist.
- Für die quantitative Analyse müssen zwei Kapillarsäulen unterschiedlicher Phasentypen verwendet werden.
- Die Einstellung des Massenspektrometers und der Luft- und Wasserstand sowie die Sauberkeit des Injektors sollten wöchentlich überprüft werden, um die Leistungsfähigkeit der Untersuchung aufrechtzuerhalten.

Die Empfindlichkeit des Massenspektrometers sollte auch durch Maximieren des Signal-Rausch-Verhältnisses optimiert werden. Eine Option könnte darin bestehen, die Spannung des Detektors (Kanalelektronenvervielfachers) entsprechend den Funktionen des Instruments und den Empfehlungen des Herstellers zu erhöhen.

6.3 Kapillarsäulen für GC

Während die Retentionszeiten und SIM-Fenster für die genannten Säulen festgelegt wurden, dienen diese nur zur Orientierung und der Anwender muss alle Retentionszeiten von Verbindungen und die zugehörigen SIM-Fenster für seine eigenen Installationen verifizieren.

ANMERKUNG Die Säulenlängen sind die für die Erstentwicklung und Validierung durch die AWG verwendeten. In der Praxis kann eine zusätzliche Trennung des Zielanalyten erreicht werden, indem zu einer längeren Säule (50 m oder 60 m) gewechselt wird. Wenn derartige Säulen verwendet werden, liegt es in der Verantwortung des Anwenders, die Leistung dieses Säulentyps/dieser Säulenlänge im Kontext dieses Verfahrens (Auflösung; SIM-Fenster; mögliche gemeinsame Elutionen) zu validieren und diese Länge für den (die) zu untersuchenden Analyten zu validieren (siehe Anhang B).

Tabelle 1 — Empfohlene GC-Säulenphase/-Typen und Analyseparameter

Phase ^a	Maße (Länge × Innendurchmesser × Dicke)	Empfohlenes Ofentemperatur- programm	Injektions- bedingungen	Trärgas	Bedingungen für die MS	Mittlere Auflösung $\bar{R}$
100 % Poly- dimethyl- siloxan	30 m × 0,25 mm × 0,25 µm	80 °C für 4 min, dann 15 °C/min bis 105 °C für 2 min, dann 4 °C/min bis 150 °C, dann 10 °C/min bis 280 °C — 5 min halten	Split-/Split- less-Injektor bei 250 °C — deaktivierter Liner — 1 µml mit Split 1 : 20 wird inji- ziert — Injektions- temperatur 250 °C (sowohl für die Kalibrie- rung als auch Proben)	Helium: konstanter Durchfluss bei 1,2 ml/min (Geschwin- digkeit etwa 40 cm/s)	Quellentem- peratur bei 250 °C — Quadrupol- temperatur bei 150 °C — Abtasten des Massen- bereichs (m/z) von 35 Da bis 350 Da — Ionisations- energie: 70 eV	SIM-Ver- fahren 1 1.43 SIM-Ver- fahren 2 1.40
50 % Phenyl- methyl- polysiloxan 50 % Poly- dimethyl- siloxan	30 m × 0,25 mm × 0,25 µm	80 °C für 1 min, dann 10 °C/min bis 135 °C für 2 min, dann 3 °C/min bis 170 °C für 1 min, dann 10 °C/min bis 280 °C — 5 min halten				SIM-Ver- fahren 1 1.40 SIM-Ver- fahren 2 1.42

6.4 Analysenwaage

Alle Referenzproben und internen Standards müssen auf einer Analysenwaage mit einer Ablesbarkeit von 0,000 1 g gewogen werden.

7 Bedingungen für die Erfassung mit Massenspektrometern

7.1 Festlegung von Retentionszeiten und SIM-Fenster-Chromatograph

Im SCAN-Modus wird eine der Standardlösungen (z. B. hohe bis mittlere Kalibrierkonzentrationen) injiziert, um die Retentionszeiten und geeigneten SIM-Fenster für jeden Analyten zu bestimmen.

Für jede Säule entwickelt der Anwender zwei SIM- oder SIM-SCAN-Verfahren (SIM1 und SIM2), um die 57 potenziell allergenen Stoffen in zwei Analytensätzen zu analysieren.

Typische SIM-Ionen (I1, I2 und I3) und deren zugehöriger interner Standard sind in Tabelle C.1, Tabelle C.2, Tabelle C.3 und Tabelle C.4 ausführlich aufgeführt, wie in Anhang C angegeben. In seltenen Fällen können sich die ausgewählten Ionen für ein bestimmtes Allergen auf einer polaren Säule von den ausgewählten Ionen für eine unpolare Säule unterscheiden.

7.2 SIM-Fenster — Einstellung und Kriterien

Die Auswahl des für die Quantifizierung jedes Analyten zuzuweisenden internen Standards ist auch in Anhang C, Tabelle C.1, Tabelle C.2, Tabelle C.3 und Tabelle C.4 aufgeführt.

Beispiele für SIM-Fenster für die beiden Analytensätze und die beiden Säulen sind in Anhang D, Tabelle D.1, Tabelle D.2, Tabelle D.3 und Tabelle D.4 angegeben.

Jedes SIM-Fenster sollte nicht mehr als 6 Ionen enthalten, wenn möglich. In den Bereichen des Chromatogramms, in denen die Elution der Analyten nahe beieinander liegt, dürfen die SIM-Fenster jedoch bis zu 9 oder mehr Ionen enthalten. Auf jeden Fall sollte die Verweilzeit so gewählt werden, dass sie mindestens 3 Abtastzyklen/s und/oder mindestens 10 bis 15 Abtastungen je chromatographischer Peak für eine genaue Integration aufweist.

Die Breite des SIM-Fensters muss auch die Peakform (einschließlich eines möglichen Peak-Tailings) und eine mögliche Elutionsverzögerung berücksichtigen, um eine weitere Peakintegration zu ermöglichen. Die gleiche Erfassungszeit muss für alle Ionen der Allergene im selben SIM-Fenster gelten.

7.3 Verifizierung des GC-MS-Scanmodus

Es ist ein vollständiger SCAN-Modus erforderlich, um das Vorhandensein von Peaks zu identifizieren, von denen angenommen wird, dass sie sich aus ihrem üblichen SIM-Fenster herausbewegt haben oder durch störende Peaks ausgeblendet wurden. (Siehe Anhang E).

Weitere Informationen siehe Anhang K.

8 Stamm- und Probenlösungen - Herstellung und Lagerung

8.1 Allgemeine Informationen

8.1.1 Wahl des Lösemittels

Methylpivalat und MTBE sind für die Herstellung von Stamm- und Kalibrierlösungen sowie zum Lösen von Proben vor der Analyse geeignet, da nachgewiesen wurde, dass sie die folgenden Anforderungen erfüllen:

- 1) Sie weisen eine Trägheit bezüglich Bestandteilen und Allergenen in Duftmatrices auf;
- 2) Sie weisen eine mittlere Flüchtigkeit auf, um die Stabilität und Konzentration der Lösung sicherzustellen;
- 3) Das Ausdehnungsvolumen ist mit dem Innenvolumen des Injektoreinsatzes kompatibel.

Empfehlung: Informationen bezüglich des Lösemittels siehe 5.1.

Bei Verwendung eines anderen Lösemittels muss der Anwender Voruntersuchungen durchführen, um insbesondere die Trägheit gegenüber den Analyten nachzuweisen und deren Reinheit zu bestimmen. Die Verwen-

dung von Lösemitteln mit Hydroxyl- oder Carbonylfunktionen (Ethanol, Methanol, Aceton, ...) ist nicht empfehlenswert, um einen Abbau oder eine Reaktion mit den Analyten (z. B. Acetalbildung) zu vermeiden.

8.1.2 Sonstiges

Das gleiche Lösemittel muss zur Herstellung der Kalibrierlösungen, der Blindwertprobe des Systems und zum Verdünnen von Proben verwendet werden.

8.2 Herstellung von Stammlösungen aus Referenzproben

Die Herstellung der Kalibrier-Stammlösungen und der nachfolgenden Kalibrierlösungen kann aus zwei Quellen erfolgen — aus den einzelnen Referenzmaterialien selbst (nach Bestimmung/Bestätigung der Reinheit) oder aus im Handel erhältlichen Kalibrierlösungen mit bekannten Konzentrationen der Bestandteile.

Die folgende Beschreibung umfasst die Herstellung der Kalibrierlösungen aus handelsüblichen Kalibrierlösungen mit bekannter Konzentration. Wenn der Anwender das Verfahren zur Herstellung dieser Lösungen aus einzelnen Referenzmaterialien befolgen möchte, ist das entsprechende Verfahren in Anhang G enthalten.

In der folgenden Beschreibung wird vorgeschlagen, bei der Herstellung der verschiedenen Lösungen nach einem Masse-Masse-Ansatz zu arbeiten. Es ist auch möglich, bei der Herstellung der verdünnten Lösungen Volumina zu verwenden, ohne die dass die Genauigkeit der Endergebnisse drastisch sinkt.

8.3 Herstellung von Lösungen des internen Standards und Kalibrierlösungen

8.3.1 Allgemeines

Alle nachfolgenden Erläuterungen beziehen sich auf eine Masse/Massestrategie. Im Falle von Masse/Volumen besteht der einzige Unterschied darin, dass der Analytiker das Lösemittel nicht wiegen, sondern bis zur Markierung im Kolben mit dem Lösemittel auffüllen muss. Bearbeiter können sich auf Anhang G beziehen, wenn keine extern erworbenen Lösungen verwendet werden.

8.3.2 Stammlösungen von internen Standards (entspricht 1 g/kg)

Es wird eine Stammlösung (S-ISTD) hergestellt, die 1 g 1,4-Dibrombenzen (5.3.1) und 1 g 4,4'-Dibrombiphenyl (5.3.2) enthält, die mit Methylpivalat oder MTBE auf 1 kg aufgefüllt wird. Diese Lösung kann wie folgt hergestellt werden:

- Es wird eine Lösung (S-ISTD) hergestellt, indem 0,1 g jeder Verbindung (5.3.1 und 5.3.2) in einen geeigneten Kolben genau eingewogen wird; es wird mit Methylpivalat oder MTBE auf 100 g aufgefüllt.
- Bei Masse/Masse-Konzentrationen werden die Masse jeder Verbindung und die Endmasse des verwendeten Lösemittels aufgezeichnet, um die Konzentration der fertigen Lösung jedes internen Standards zu bestimmen.
- Die Dichteunterschiede zwischen den Lösemitteln werden beachtet. Beispielsweise beträgt die relative Dichte für MTBE 0,7404, d. h. es werden nur 74 mg jedes Standards eingewogen und zusammen mit MTBE in einen 100-ml-Kolben eingebracht (das Volumen des zugegebenen MTBE beträgt 74 g).

8.3.3 Konzentrationen von Kalibrierlösungen

Um die chemischen Reaktionen zwischen Analyten und den Abbau dieser zu begrenzen, werden zwei getrennte Stammlösungen in dem Lösemittel zur Verdünnung hergestellt:

- eine Stammlösung enthält Alkohole und Terpene ohne Carbonylfunktion;
- die andere Lösung enthält die verbleibenden mutmaßlichen Allergene, insbesondere Aldehyde und Ketone.

Diese zwei Lösungen werden als A1 bzw. A2 bezeichnet.

Die Kalibrierlösungen werden aus diesen beiden Sätzen von „Stamm“-Lösungen, A1 und A2, hergestellt, die die Analyten in einer Nennkonzentration von 2 g/kg enthalten. Die endgültigen Kalibrierlösungen werden mit Methylpivalat oder MTBE durch Verdünnen dieser Lösungen (oder eines weiteren Derivats davon; A3 und A4) auf eine bekannte Masse erhalten.

ANMERKUNG Für handelsübliche Standards mit alternativen Konzentrationen müssen die verwendeten Verdünnungsvolumina möglicherweise angepasst werden, um die in Tabelle 2 angegebenen Endkonzentrationen zu erreichen.

Um zu vermeiden, dass für die niedrigeren Kalibrierkonzentrationen sehr kleine Volumina aus den Stammlösungen A1 und A2 abgegeben werden, können bei Bedarf zwei weitere Lösungen A3 und A4 nach den folgenden Schemata (Tabelle 2 und Tabelle 3) hergestellt werden.

Falls m/m -Konzentrationen angewendet werden, sind die Masse aller Standardlösungen sowie die Masse des Lösemittels aufzuzeichnen.

Tabelle 2 — Herstellungsmenge für Lösung A3

Ausgangslösung (2g/kg)	Volumen der Ausgangslösung	Endvolumen der verdünnten Lösung (A3)	Endkonzentration der Allergene (mg/kg)
A1	1 ml	10 ml	200

Tabelle 3 — Herstellungsmenge für Lösung A4

Ausgangslösung (2 g/kg)	Volumen der Ausgangslösung	Endvolumen der verdünnten Lösung (A4)	Endkonzentration der Allergene (mg/kg)
A2	1 ml	10 ml	200

Die Stabilität der Stoffe in den Stammlösungen, die entsprechend dem nachstehend beschriebenen Protokoll hergestellt wurden, wurde in einer Glasflasche bei Dunkelheit und in einem Gefriergerät bei einer Temperatur von weniger als -18°C untersucht. Unter diesen Bedingungen wurde für die beiden Stammlösungen A1 und A2 sowie für A3 und A4 eine Stabilitätsdauer von einem Monat ermittelt.

Es wird sichergestellt, dass sie entsprechend mit einem Stopfen versehen sind, um eine mögliche Verdunstung des Lösemittels auf ein Mindestmaß zu senken.

Wenn die Lagerbedingungen von den vorstehend beschriebenen abweichen, müssen Untersuchungen durchgeführt werden, um die Stabilität der Stoffe unter den neu festgelegten Bedingungen nachzuweisen.

8.3.4 Herstellen von Kalibrierlösungen

Die Kalibrierlösungen C1, C2, C3 werden hergestellt, indem die zwei Allergen-Ausgangslösungen A1 und A2 nach Zugabe des internen Standardlösung (S-ISTD) (8.3.1) entsprechend den folgenden Anweisungen und unter Bezugnahme auf das Verdünnungsschema in Tabelle 4, mit Methylpivalat oder MTBE auf 10 ml verdünnt werden. Die Masse der einzelnen vereinigten Lösungen muss aufgezeichnet werden.

Auf gleiche Weise werden die Kalibrierlösungen C4, C5, C6, C7 hergestellt, indem die Lösungen A3 und A4 (8.3.2) nach Zugabe der internen Standardlösung (S-ISTD) (8.3.1) entsprechend dem Verdünnungsschema in Tabelle 4 mit Methylpivalat auf 10 ml verdünnt werden. Die Masse der einzelnen vereinigten Lösungen muss aufgezeichnet werden.

Um die Kalibrierlösungen C1 bis C7 herzustellen, sollte der folgende Prozess angewendet werden:

- Für Lösung C1: 1,2 ml der Lösung A1 und 1,2 ml der Lösung A2 werden in einen 10-ml-Messkolben gegeben; die Massen A1 und A2 werden bei jedem Schritt aufgezeichnet.

1 ml der Lösung des internen Standards werden hinzugefügt, die Masse aufgezeichnet und mit Lösemittel bis zur 10-ml-Marke aufgefüllt.

Die Endmasse = $m_{A1} + m_{A2} + m_{ISTD} + m_{L\ddot{o}semittel}$ wird aufgezeichnet.

- Für Lösung C2: 0,6 ml der Lösung A1 und 0,6 ml der Lösung A2 werden in einen 10-ml-Messkolben gegeben; die Massen A1 und A2 werden bei jedem Schritt aufgezeichnet.

1 ml der Lösung des internen Standards wird hinzugefügt, die Masse aufgezeichnet und mit Lösemittel bis zur 10-ml-Marke aufgefüllt.

Die Endmasse = $m_{A1} + m_{A2} + m_{ISTD} + m_{L\ddot{o}semittel}$ wird aufgezeichnet.

- Für Lösung C3: 0,25 ml der Lösung A1 und 0,25 ml der Lösung A2 werden in einen 10-ml-Messkolben gegeben; die Massen A1 und A2 werden bei jedem Schritt aufgezeichnet.

1 ml der Lösung des internen Standards wird hinzugefügt, die Masse aufgezeichnet und mit Lösemittel bis zur 10-ml-Marke aufgefüllt.

Die Endmasse = $m_{A1} + m_{A2} + m_{ISTD} + m_{L\ddot{o}semittel}$ wird aufgezeichnet.

Für die Lösungen C4 bis C7 sollten die Lösungen A3 und A4 verwendet werden, um mögliche Fehler bei der Abgabe kleiner Massen von A1 und A2 zu vermeiden:

- Für Lösung C4: 1 ml der Lösung A3 und 1 ml der Lösung A4 werden in einen 10-ml-Messkolben gegeben; die Massen A3 und A4 werden bei jedem Schritt aufgezeichnet.

1 ml der Lösung des internen Standards wird hinzugefügt, die Masse aufgezeichnet und mit Lösemittel bis zur 10-ml-Marke aufgefüllt.

Die Endmasse = $m_{A3} + m_{A4} + m_{ISTD} + m_{L\ddot{o}semittel}$ wird aufgezeichnet.

- Für Lösung C5: 0,5 ml der Lösung A3 und 0,5 ml der Lösung A4 werden in einen 10-ml-Messkolben gegeben; die Massen A3 und A4 werden bei jedem Schritt aufgezeichnet.

1 ml der Lösung des internen Standards wird hinzugefügt, die Masse wird aufgezeichnet und mit Lösemittel bis zur 10-ml-Marke aufgefüllt.

Die Endmasse = $m_{A3} + m_{A4} + m_{ISTD} + m_{L\ddot{o}semittel}$ wird aufgezeichnet.

- Für Lösung C6: 0,25 ml der Lösung A3 und 0,25 ml der Lösung A4 werden in einen 10-ml-Messkolben gegeben; die Massen A3 und A4 werden bei jedem Schritt aufgezeichnet.

1 ml der Lösung des internen Standards wird hinzugefügt, die Masse aufgezeichnet und mit Lösemittel bis zur 10-ml-Marke aufgefüllt.

Die Endmasse = $m_{A3} + m_{A4} + m_{ISTD} + m_{L\ddot{o}semittel}$ wird aufgezeichnet.

- Für Lösung C7: 0,1 ml der Lösung A3 und 0,1 ml der Lösung A4 werden in einen 10-ml-Messkolben gegeben; die Massen A3 und A4 werden bei jedem Schritt aufgezeichnet.

1 ml der Lösung des internen Standards wird hinzugefügt, die Masse aufgezeichnet und mit Lösemittel bis zur 10-ml-Marke aufgefüllt.

Die Endmasse = $m_{A3} + m_{A4} + m_{ISTD} + m_{L\ddot{o}semittel}$ wird aufgezeichnet.

ANMERKUNG Die 7-Punkt-Kalibrierkurve wurde verwendet, um dieses Verfahren zu validieren. Es ist auch möglich, mit einer 6-Punkt-Kalibrierkurve zu arbeiten, wobei nur C1 (240 mg/kg), C2 (120 mg/kg), C3 (50 mg/kg), C4 (20 mg/kg), C5 (10 mg/kg), C7 (2 mg/kg) beibehalten werden.

Diese Anweisungen können zusammengefasst werden und sind in der folgenden Tabelle 4 enthalten.

Tabelle 4 — Individuelle Konzentrationen von Allergen-Kalibrierstandardlösungen

	Allergen-Konzentrationen (mg/kg)	Allergen-Volumen Lösung (ml)	Allergen-Volumen Lösung (ml)	Volumen der hinzugefügten Lösung des internen Standards (ml)	Konzentrationen der internen Standards (mg/kg)	Endvolumen der Kalibrierlösung (ml)
Verwendete Ausgangslösungen		A1 (2 g/kg)	A2 (2 g/kg)	(1 g/kg)		
C1	240	1,200	1,200	1,000	100	10
C2	120	0,600	0,600	1,000	100	10
C3	50	0,250	0,250	1,000	100	10
Sekundärlösungen		A3 (0,2 g/kg)	A4 (0,2 g/kg)	(1 g/kg)		
C4	20	1,000	1,000	1,000	100	10
C5	10	0,500	0,500	1,000	100	10
C6	5	0,250	0,250	1,000	100	10
C7	2	0,100	0,100	1,000	100	10

Allgemeine Anmerkungen und Informationen:

Wenn keine Daten zur Stabilität vorliegen, werden diese Lösungen frisch vorbereitet und nicht gelagert. Diese Kalibrierlösungen dürfen nach 48 h nicht mehr verwendet werden.

9 Probenanalyse

9.1 Allgemeines

Es wird empfohlen, vor der Analyse eine 10-fache Verdünnung der Probe durchzuführen, was bedeutet, dass genau 1 g Probe in einen 10-ml-Messkolben eingewogen wird. Wenn festgestellt wird, dass die Analytkonzentrationen außerhalb des Kalibrierbereichs liegen, dann kann eine andere Probe bis zum maximalen 240-Fachen verdünnt und erneut analysiert werden.

9.2 Herstellung der Probe für die Analyse

- Eine Probenmenge, w (üblicherweise 1 g) wird (auf das nächste Milligramm genau) in einen 10-ml-Messkolben eingewogen.
- 1,0 ml der internen Standardlösung (S-ISTD), 8.3.1, wird zugegeben und die Masse aufgezeichnet. Die Endkonzentration des hinzugefügten internen Standards sollte mit der in den Kalibrierlösungen verwendeten Konzentration übereinstimmen.
- Mit Methylpivalat (oder dem gleichen zur Verdünnung wie für die Herstellung der Kalibrierlösungen verwendeten Lösemittel) wird auf die 10-ml-Marke eingestellt.
- Die Endmasse (mDIL) dieser Lösung wird aufgezeichnet.

Ein aliquoter Anteil der vorbereiteten Probe wird homogenisiert und in ein GC-Glasfläschchen für die GC-MS-Analyse überführt.

9.3 Ablauf

9.3.1 Blindwertprobe

Wenn das GC-MS-System über einen längeren Zeitraum nicht benutzt wurde, kann sich Material im Injektionssystem ansammeln und Störungen während der Analyse verursachen. Es ist daher empfehlenswert, vor Beginn des Kalibrier-/Analysenablaufs einen ersten Blindwertprobendurchlauf mit Lösemittel durchzuführen, um den Einfluss von jeglichen Rückständen zu reinigen.

Vor Beginn der Analyse sollten angemessene Blindwerte erhalten werden. Bei der Blindwertanalyse sollte bei mehr als 75 % der niedrigen Kalibrierkonzentration kein Analyt nachgewiesen werden. Blindwertkorrekturen werden bei diesem Verfahren nicht angewendet. Während des Analysenablaufs wird eine Blindwertanalyse angewendet, um eine Verschleppung oder Verunreinigung des Systems festzustellen. Wenn bei diesen Proben Analytkonzentrationen von > 75 % der unteren Kalibrierkonzentration festgestellt werden, dann ist eine Wartung des Einlasssystems erforderlich und die Abfolge ab dem letzten bekannten „guten Blindwert“ muss wiederholt werden.

9.3.2 Kalibrierlösungen

Jede Kalibrierlösung (C1 bis C7) wird auf die beiden einzelnen GC-MS-Säulen entsprechend des SIM- oder SIM-SCAN-Verfahrens injiziert.

Für jedes Allergen wird jedes Ion in Tabelle C.1 und Tabelle C.2 (Anhang C) (z. B. I1) abwechselnd als Quantifizier-Ion verwendet, wobei die verbleibenden zwei Ionen in Tabelle C.3 und Tabelle C.4 (z. B. I2 und I3) als Qualifizier-Ionen verwendet werden.

Je Säulentyp und Ion muss eine Kalibrierung durchgeführt werden, wodurch sich sechs Kurven je Allergenbestandteil ergeben.

Die Kalibrierkurve wird erstellt, indem das Flächenverhältnis zwischen dem Analyten und dem internen Standard als Funktion ihres Konzentrationsverhältnisses aufgetragen wird. R^2 muss über 0,995 liegen und die Rückstände müssen auf beiden Seiten der Kurve verteilt sein.

Die empfohlene anzuwendende Kalibrierkurve ist:

Quadratischer Fit: Schnittpunkt durch den Nullpunkt

Zusätzlich darf eine Wichtung von $1/\text{Konzentration}$ des Kalibrierpunkts angewendet werden, obwohl dies wahlfrei ist.

Diese Einstellungen wurden durch die Anwendung des Verfahrens zum Prüfen von Gemischen während der Entwicklungsphase des Verfahrens erreicht.

Eine ausführlichere Erläuterung des Kalibrierverfahrens ist in Anhang H enthalten.

9.3.3 Kontrolllösung

Die Kalibrierkontrolllösung (z. B. 20 mg/kg oder 20 mg/l) wird verwendet, um sicherzustellen, dass während des Analysenablaufs keine Drift der Kalibrierung auftritt. Die Werte aus dieser Analyse sollten idealerweise nicht mehr als $\pm 20\%$ von der erwarteten Konzentration jedes Allergens bei dieser Lösungskonzentration abweichen oder innerhalb der vom Laboratorium festgelegten Leistungsbereiche liegen. Wenn sich herausstellt, dass die Ergebnisse außerhalb dieser Grenzwerte liegen, dann sollte der Kalibrierablauf erneut durchgeführt werden, eine neue Kalibrierung festgelegt und der vorherige Ablauf wiederholt werden.

Beim GC-MS-Analysenablauf müssen die verdünnten Proben, eine Kalibrierkontrolllösung oder die Blindprobe in jedes Glasfläschchen, das die Kalibrierlösungen enthält, mindestens einmal unter den angegebenen Analysenbedingungen (z. B. jeder Säulentyp, SIM-, SIM-SCAN-Verfahren) injiziert werden.

9.3.4 Proben

Die verdünnte Probe auf dem GC-MS wird unter den gleichen Bedingungen wie für die Kalibrierstandards und auf jeder der beiden Chromatographiesäulen unter Verwendung der entsprechenden Erfassungsverfahren (SIM; SIM-SCAN) injiziert.

Dies sollte innerhalb von 48 h nach der Herstellung der Proben erfolgen.

Nach der GC-MS-Analyse der Proben wird die Konzentration der gefundenen Analyten überprüft, die innerhalb des Kalibrierbereichs liegen muss.

Wenn festgestellt wird, dass die angegebene Konzentration für einen Analyten außerhalb des Kalibrierbereichs liegt, muss die Probe vor der anschließenden erneuten GC-MS-Analyse stärker verdünnt werden. Wenn dies der Fall ist, muss aus der Originalprobe eine frische Probe mit einem höheren Verdünnungsfaktor hergestellt werden, d. h. 1 g in 100 ml oder gleichwertig.

Es ist wichtig zu beachten, dass eine zu starke Verdünnung der Probe zu einer Unterscheidung von Bestandteilen mit höherer Molmasse beim Injektionsvorgang führen kann und daher zu verzerrten Ergebnissen führt. Wenn eine Probenverdünnung von mehr als dem 240-Fachen erforderlich ist, ist es empfehlenswert, die Analyse für diesen Bestandteil durch GC-FID durchzuführen.

ANMERKUNG Die Injektion kann nur einmal je Glasfläschchen erfolgen.

10 Datenvalidierung und -bearbeitung

10.1 Allgemeines

Es gibt drei Ansätze zur Datenvalidierung:

- Anwendung von Q-Werten, die von der Software einiger Anbieter im Rahmen des Analysenberichts erzeugt wurden,
- Anwendung von entsprechenden SIM-Daten zum Vergleichen der Ionenverhältnisse,
- Anwendung von Scandaten für vom Quantifizierungsprozess unabhängige Ionen-Verhältnisse.

Diese drei Ansätze basieren alle auf der Bestimmung des Flächenverhältnisses der Ionen und widmen sich der Identifizierung und Bestätigung von Verbindungen. Der Q-Wert und die SIM-Daten stammen aus Messungen der Peakfläche, während die Scandaten direkte Ionenhäufigkeiten liefern, aus denen die Verhältnisse berechnet werden.

Anhang I enthält Informationen zur Quantifizierung.

10.2 Untersuchung von Q-Werten

Die mit SIM aufgezeichneten Ergebnisse der GC-MS-Analyse können zunächst durch Überwachung des Q-Wertes ausgewertet werden (siehe Anhang F). Dies ergibt eine Beurteilung der Gültigkeit des angegebenen Wertes durch Vergleichen der relativen Flächenverhältnisse für jedes der drei für diesen Bestandteil überwachten Ionen.

Die Berechnung des Q-Faktors ist für einige Gerätehersteller eine Standardberechnung, kann jedoch auch für Systeme berechnet werden, die nicht über diese Fähigkeit verfügen.

Der Q-Wert wird wie folgt aus der Peakfläche der 3 verschiedenen Ionen I1, I2 und I3 berechnet:

$$Q = 100 - \frac{\sum_{i=1}^n (100 \times |r_i - r_i'|) (\ln[100r_i + 1])^2}{21.3 \times \sum_{i=1}^n r_i}$$

Dabei ist

n die Anzahl der Qualifier-Ionen für jeden Analyten,

r_i das Referenz-Flächenverhältnis, und

r_i' das experimentelle Flächenverhältnis.

Die Identität des mutmaßlichen Allergens wird bestätigt, wenn mindestens einer der 6 Q-Werte größer oder gleich 90 ist.

Wenn der Q-Wert null beträgt, sollte die diesem Wert entsprechende Konzentration nicht verwendet werden.

Es ist empfehlenswert, das Referenz-Flächenverhältnis aus der Injektion einer Standardlösung bei einer Konzentration im mittleren Bereich der Kalibrierkurve zu bestimmen.

10.3 Relative Intensität charakteristischer Ionen in SIM

Alternativ darf die positive Identifizierung eines Allergens durch Berücksichtigung der relativen Häufigkeit seiner charakteristischen Ionen aus SIM-Flächendaten validiert werden.

Die Anwesenheit des Analyten wird bestätigt, wenn durch die Häufigkeit der drei Ionen auf einer der beiden Kapillarsäulen die in Tabelle 5 angegebenen Kriterien erfüllt sind. Untersuchung von Q-Werten.

ANMERKUNG Tabelle 5 gilt möglicherweise nicht für SIM-Daten, da das ausgewählte Quantifizier-Ion möglicherweise nicht der Basispeak im Spektrum des Bestandteils ist und die Fläche des Basispeaks bei Anwendung von SIM unter diesen Umständen unbekannt ist.

10.4 Relative Ionenintensität bei Anwendung von Scandaten

Um ein Allergen zu identifizieren, werden die relativen Häufigkeiten der Ionen in der Probe mit denen aus einer Standardlösung verglichen, die beide im Full-Scan-Modus erzeugt wurden. Die maximal zulässigen Toleranzen für die relativen Ionenintensitäten (angegeben als prozentualer Anteil der Intensität des am häufigsten vorkommenden Ions, d. h. des Basispeaks) sind nachstehend in Tabelle 5 angegeben.

Tabelle 5 — Maximal zulässige Toleranzen für die relativen Ionenintensitäten (angegeben als prozentualer Anteil der Intensität des am häufigsten vorkommenden Ions, d. h. des Basispeaks)

Relative Intensität	Schwellenwerte
> 50 %	±10 %
> 20 % bis 50 %	±15 %
> 10 % bis 20 %	±20 %
±10 %	±50 %

10.5 Schema zur Verifizierung der Daten und Angabe der Endkonzentration

Die Auswahl der angegebenen Endkonzentration sollte entsprechend den Anforderungen des Entscheidungsbaums in Anhang F erfolgen. Diese Schritte müssen zur Validierung eines positiven Ergebnisses durchgeführt werden, indem eine strukturierte Auswertung der Daten aus allen verwendeten Quellen durchgeführt werden darf.

10.6 Überprüfung des GC-MS-Scanmodus

Eine vollständige Überprüfung des GC-MS-Scanmodus ist erforderlich, um das Vorhandensein von Peaks zu klären, von denen angenommen wird, dass sie sich aus ihrem üblichen SIM-Fenster herausbewegt haben oder von störenden Peaks verborgen wurden.

10.7 Auswertung des Massenspektrums im SCAN-Modus

Bei fragwürdigen Ergebnissen werden die Ergebnisse bestätigt oder widerlegt, indem Chromatogramme von Proben und Analyt-Massenspektren nach zusätzlicher Probenanalyse im Voll-Scan-Modus untersucht werden. Dieser Ansatz könnte nur für relativ hohe Konzentrationen von Allergenen in Betracht gezogen werden, da der SCAN-Modus üblicherweise weniger empfindlich ist als der SIM-Modus.

11 Untersuchungsbericht

Der Prüfbericht muss mindestens die folgenden Angaben enthalten:

- alle für die Identifizierung der Probe notwendigen Angaben,
- eine Verweisung auf dieses Dokument,
- Datum und Art der Probenahme (sofern bekannt),
- Datum des Eingangs der Laboratoriumsprobe,
- Datum der Prüfung,
- die Ergebnisse und die Einheiten, in denen die Ergebnisse angegeben wurden,
- alle besonderen Einzelheiten, die während der Prüfung festgestellt wurden,
- sämtliche nicht im Verfahren festgelegte oder als wahlfrei angesehene Arbeitsschritte, die möglicherweise die Ergebnisse beeinflusst haben.

12 Verweisungen:

- [1] „Opinion on Fragrance Allergens in cosmetics products“, SCCS 1459/11
- [2] „Methods for analysis of allergens — Quantification of suspected fragrance allergens in consumer products — Step 1: GC analysis of ready-to-inject sample“, NF EN 16274, October 2012
- [3] „IOFI recommended practice for the use of predicted relative-response factors for the rapid quantification of volatile flavouring compounds by GC-FID“ T. Cachet, H. Brevard, A. Chaintreau, T. Smith, Flavour Fragr. J. 2016, 31
- [4] „ENTSCHEIDUNG DER KOMMISSION vom 12. August 2002 zur Umsetzung der Richtlinie 96/23/EG des Rates betreffend die Durchführung von Analysemethoden und die Auswertung von Ergebnissen“ (Bekannt gegeben unter Aktenzeichen K(2002) 3044); Abschnitt 2.3.3.2 Massenspektrometrischer Nachweis; L.221.16, 2002“
- [5] „Application of gas-liquid chromatography to essential oils: XXII Determination of the 16 alleged skin sensitizers in essential oils“ M.J. Milchard, R. Clery, L. Gates, F. Judge, N. Moss, D. A. Moyler, A. Sherlock, B. Starr, J. Webb, E.J. Newman., Perfumer and Flavorist, 2012, 37, 48-52.

Anhang A (informativ)

Bestimmung der Reinheit von Kalibriermitteln und Referenzproben

A.1 Allgemeine Informationen

Die Anwendung von GC-FID (Flame Ionisation Detection) wird für die Bestimmung der Reinheit einer einzelnen Referenzverbindung für die Kalibrierung empfohlen, wenn kein zertifiziertes Material verfügbar ist.

Die Kalibrierlösungen A1 und A2 können entweder von handelsüblichen Standardlösungen abgeleitet werden (in diesem Fall könnte dieser Vorgang vermieden und die Reinheiten und Massen aus den Lieferanteninformationen übernommen werden) oder indem die Standards in der eigenen Einrichtung des Anwenders hergestellt werden; in diesem Fall sollte dieser Vorgang angewendet werden, um die Reinheit der Bestandteile abzuschätzen. Zusätzlich sollte angemerkt werden, dass Materialien mit höherer Reinheit auch durch alternative Techniken erhalten werden können, einschließlich (aber nicht beschränkt auf):

- Säulenchromatographie
- Destillation
- Fraktionierung
- usw.

Die mittels GC-FID gemessene relative Peakfläche (angegeben als Fläche in %) eines flüchtigen Moleküls wird üblicherweise angewendet, um dessen Reinheit in einem Gemisch zu bestimmen. Dieser Ansatz ist genau, wenn die zwei folgenden Bedingungen erfüllt sind:

- a) Das Gemisch besteht nur aus flüchtigen Bestandteilen, die durch GC nachgewiesen werden können,
- b) Die relativen Responsefaktoren (RRF) jedes Bestandteils in dem Gemisch, falls sie voneinander verschieden sind, werden angewendet, um die Menge jedes Analyten aus seinem chromatographischen Signal abzuleiten.

Entsprechend kann die Reinheit jeder für die quantitative Analyse verwendeten Referenzprobe nur nach Verifizierung des Fehlens nichtflüchtiger Bestandteile in der Probe bestimmt werden. Wenn mehr als 90 % der Verbindungen flüchtige Bestandteile sind, kann die Standardreinheit wie folgt abgeschätzt werden:

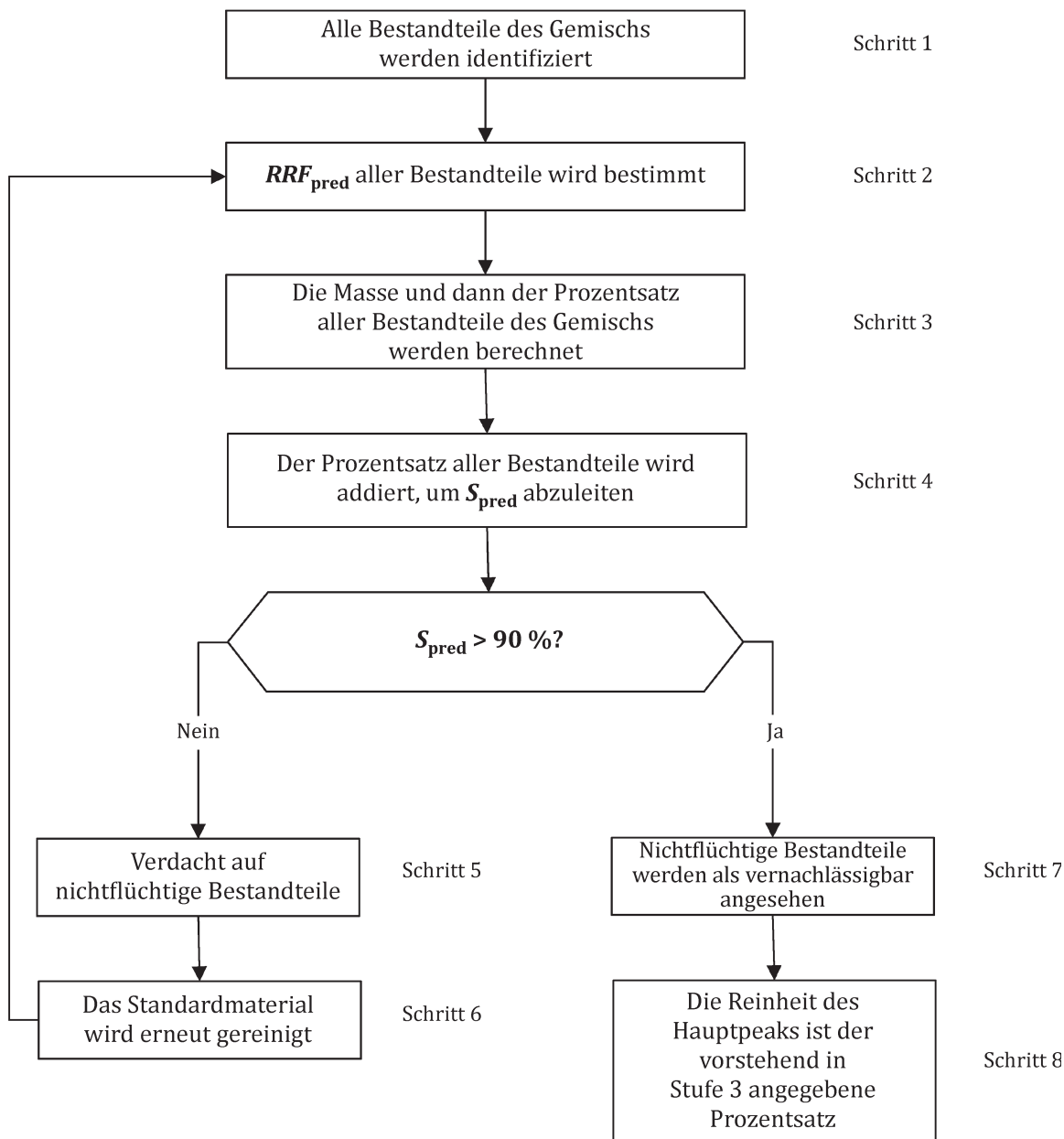
- c) Wenn alle Verbindungen die gleiche Summenformel aufweisen, wird ihre Reinheit durch Angabe ihrer jeweiligen FID-Fläche in % angegeben (unter vollständiger Einbeziehung aller nachgewiesenen Peaks).
- d) Wenn die Verbindungen unterschiedliche Summenformeln aufweisen, kann ihre Reinheit basierend auf dem Unterschied zwischen dem theoretischen und beobachteten RRF geschätzt werden.

Die verschiedenen Schritte bei dieser Bewertung sind folgende:

- e) Die Charakterisierung aller flüchtigen Bestandteile durch GC-MS (A.2. Vollständige Charakterisierung der flüchtigen Bestandteile),
- f) die Abschätzung des prozentualen Anteils flüchtiger Verbindungen im Vergleich zu nichtflüchtigen Verbindungen unter Verwendung von RRF-Werten,
- g) Die Abschätzung der Allergenreinheit durch:

- 1) Messung der einzelnen FID-Flächen in % mittels GC-FID, wenn alle Verbindungen die gleiche Formel haben.
- 2) Vergleich der vorhergesagten und berechneten RRF-Werte, wenn die Verbindungen nicht die gleiche Formel haben.

Das allgemeine Verfahren wird in den folgenden Teilen genau beschrieben und können wie folgt zusammengefasst werden:



ANMERKUNG Statt den Prozentsatz in Schritt 3 zu berechnen, können alle Massen addiert werden. Wenn diese Summe geringer als 90 % der Gesamtmenge ist, dann besteht ein Verdacht auf nichtflüchtige Bestandteile in der Probe.

Bild A.1 — Allgemeines Verfahren bei Verunreinigungen mit abweichender Summenformel

A.2 Vollständige Charakterisierung der flüchtigen Bestandteile

A.2.1 Identifizierung der einzelnen Bestandteile der Referenzproben mittels GC-MS

In die GC-MS wird eine Lösung mit einem Massenanteil von 0,5 % einer einzelnen Referenzprobe zur Verdünnung in das Lösemittel eingebracht.

Die Identität jedes Moleküls wird mittels Massenspektraldaten, Retentionsindex (RI), wissenschaftlicher Literatur, Analysezertifikaten von Lieferanten usw. bestätigt – Schritt 1 des allgemeinen Verfahrens.

- I) Die verschiedenen Isomere, die von Interesse sind, werden identifiziert
- II) Alle anderen im Gemisch vorhandenen Bestandteile werden bestimmt, um deren genaue Summenformel und die Anzahl der Benzolringe zu erhalten (da RRF direkt mit der empirischen Formel einer Verbindung zusammenhängt), um verwandte Bestandteile (oder Verunreinigungen) derselben Formel von denen einer anderen Formel zu unterscheiden).

A.2.2 Berechnung des vorhergesagten RRF (RRF_{pred})

Für jeden in A.2.1 Identifizierung der einzelnen Bestandteile der Referenzproben mittels GC-MS identifizierten flüchtigen Bestandteil wird der vorhergesagte RRF-Wert entsprechend der folgenden Gleichung (Schritt 2 des allgemeinen Verfahrens) berechnet.

Für jedes Molekül i wird der vorhergesagte RRF mit der folgenden Gleichung [5] berechnet:

- a) $RRF_{i\ pred} = \frac{MW_i}{(MRF \times MW_{IS})}$
- b) $MRF = -0.071 + 8.57 \times 0.0001 \times \Delta H_{comb} + 0.127 \times n_{Benz}$
- c) $\Delta H_{comb} = 11.06 + (103,57 \times n_C) + (21.85 \times n_H) - (48.18 \times n_O) + (7.46 \times n_N) + (74.67 \times n_S) - (23.57 \times n_F) - (27.44 \times n_{Cl}) - (11.9 \times n_{Br}) - (2.04 \times n_I)$

Dabei ist/sind

MW_i der Mittelwert des Analyten i ;

MW_{IS} der Mittelwert des internen Standards (Methylheptincarbonat);

MRF der molare Responsefaktor;

ΔH_{comb} die Verbrennungsenthalpie;

n_{Benz} die Anzahl der Benzolringe;

$n_C, n_H, n_O, n_N, n_S, n_F, n_{Cl}, n_{Br}, n_I$ die Anzahl der Kohlenstoff-, Wasserstoff-, Sauerstoff-, Stickstoff-, Schwefel-, Fluor-, Chlor-, Brom- und Iod-Atome.

ANMERKUNG Dieses Verfahren ermöglicht die Berechnung des vorhergesagten RRF unter Verwendung von Methyl-octanoat als internen Standard. Wenn ein anderer interner Standard verwendet wird, kann der vorhergesagte RRF durch den RRF des neuen Standards im Vergleich zu Methyl-octanoat korrigiert werden.

Dieses Modell der RRF-Vorhersage ist für jedes GC/FID-System mit einem Split-/Splitless-Standardinjektor anwendbar, der bei 250 °C gehalten wird und mit einem Schlauchliner mit einem Splitverhältnis zwischen 1 : 50 und 1 : 100 ausgestattet ist. Cup-Splitter-Liner und PTV-Injektoren sollten für diesen Ansatz nicht

verwendet werden, insbesondere nicht für weniger flüchtige Verbindungen. Die FID-Temperatur sollte mit 40 ml/min Wasserstoff, 450 ml/min Luft und auf 30 ml/min aufgefülltem Stickstoff auf 250 °C eingestellt werden. Es dürfen polare, unpolare, gebundene unpolare oder halbpolare Säulen verwendet werden.

Es muss beachtet werden, dass sich eine Änderung der Injektortemperatur, des Splitverhältnisses und der Detektortemperatur nicht für die RRF-Vorhersage eignet, insbesondere nicht für hochsiedende Verbindungen [6].

Auch polare Säulenphasen wie Polyethylenglykol sind geeignet, aber auch der RRF von hochsiedenden Verbindungen darf modifiziert werden.

ANMERKUNG Bei unbekannten Verbindungen im Gemisch:

- kann der vorhergesagte RRF einer sehr ähnlichen Verbindung verwendet werden.

Ein RRF gleich eins kann als eine endgültige Lösung verwendet werden, wenn kein Hinweis auf eine Identifizierung gefunden wird.

A.2.3 Berechnung der Menge an flüchtigen Bestandteilen in den einzelnen Referenzproben

- Die GC-FID-Arbeitslösung, die die einzelne Referenzprobe und IS (Methyloctanoat, > 99 % Reinheit) enthält, wird mit einem Massenanteil von 0,5 % in das Lösemittel zur Verdünnung injiziert.
- Für jedes Molekül i , das in der Referenzprobe nachgewiesen wurde, wird die Masse in der Probe mithilfe der folgenden Gleichung (Schritt 3 des allgemeinen Verfahrens) abgeschätzt:

$$\text{Masse } i = RRF_{pred\ i} \times \frac{\text{Bereich } i \times \text{Masse } IS}{\text{Bereich } IS}$$

Dabei ist

- | | |
|----------------------|--|
| $RRF_{pred\ i}$ | der wie in A.2.2 berechnete vorhergesagte RRF, |
| $\text{Masse } IS$ | die Masse des internen Standards, der vor der Injektion an der Probenvorbereitung beteiligt ist, |
| $\text{Bereich } I$ | die FID-Fläche von Verbindung I, |
| $\text{Bereich } IS$ | der Bereich des internen Standards. |

- Mithilfe der folgenden Gleichung wird die Menge von flüchtigen Bestandteilen abgeschätzt:

$$\% \text{ von flüchtigen Bestandteilen} = \frac{\sum_{i=1}^n \text{Masse } i}{\text{Masse der Referenzprobe}}$$

Dabei ist

- | | |
|----------------------------------|---|
| n | die Gesamtzahl der Bestandteile i , |
| $\text{Masse } i$ | die aus dem vorhergesagten RRF berechnete Masse, |
| $\text{Masse der Referenzprobe}$ | die Masse der Referenzprobe, die vor der Injektion an der Probenvorbereitung beteiligt ist. |

Wenn der prozentuale Anteil der flüchtigen Bestandteile $\geq 90\%$ ist: Der Anteil an nichtflüchtigen Verbindungen in der Referenzprobe ist vernachlässigbar, d. h. alle Bestandteile der Referenzprobe können durch GC-FID nachgewiesen werden (Schritte 7 bis 8 des allgemeinen Verfahrens).

Wenn der prozentuale Anteil der flüchtigen Bestandteile $< 90\%$ ist: Nichtflüchtige Verbindungen sind in der Referenzprobe vorhanden, können jedoch nicht durch GC nachgewiesen werden. Dementsprechend sind Reinheitsberechnungen basierend auf der FID-Fläche in % ungeeignet. In diesem Fall ist es empfehlenswert, die Referenzprobe erneut zu reinigen, um nichtflüchtige Bestandteile zu entfernen, und die Analyse erneut durchzuführen (Schritte 5 bis 6 des allgemeinen Verfahrens).

A.3 Bestimmung der Reinheit (%) aus RRF oder FID-Fläche in %

In Abhängigkeit von der Art der flüchtigen Bestandteile in der Referenzprobe kann die Reinheit direkt unter Verwendung von FID-Flächen in % oder durch Vergleich des vorhergesagten und experimentellen RRF bestimmt werden (Schritt 8 des allgemeinen Verfahrens).

Einzelheiten werden im Folgenden zur Verfügung und im folgenden Entscheidungsbaum für die Reinheit schematisch dargestellt.

1. Fall: Alle Bestandteile des Gemisches haben die gleiche Formel wie in A.2.1. Identifizierung der einzelnen Bestandteile der Referenzproben mittels GC-MS.

In diesem Fall kann das folgende vereinfachte Verfahren angewendet werden (Bild 2):

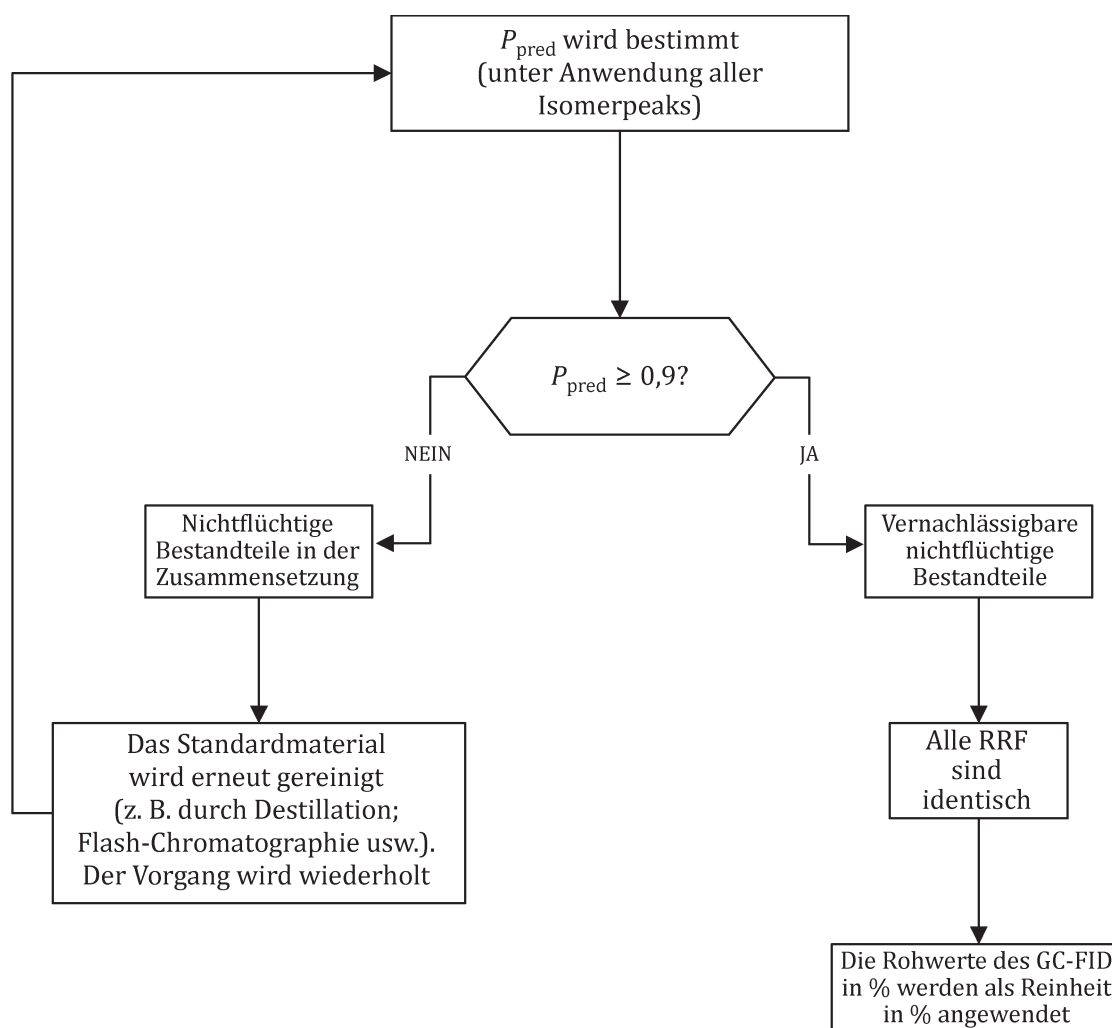


Bild 2 — Vereinfachtes Verfahren, wenn alle Verunreinigungen dieselbe Summenformel haben

Die Reinheit des interessierenden Moleküls wird anhand der FID-Fläche in % berechnet.

Alle FID-Peaks mit Ausnahme des internen Standards, falls vorhanden, und der vom Lösemittel stammenden Peaks werden integriert und die Reinheit der Allergene wie folgt berechnet:

$$S_{pred}(\%) = 100 \times FID\ Bereich_i / FID\ Bereich_{tot}$$

Dabei ist/sind

S_{pred} die mutmaßliche Standardreinheit,

$FID\ Bereich\ i$ und $FID\ Bereich\ tot$ jeweils die Allergen-Peakfläche und die Summe aller in GC-FID gemessenen Peakflächen.

ANMERKUNG $S_{pred}\%$ kann auch wie im zweiten Fall festgelegt berechnet werden, beide Berechnungsverfahren führen zum selben Ergebnis.

2. Fall: Alle Bestandteile des Gemisches haben nicht die gleiche Formel wie in A.2.1.

In diesem Fall haben nicht alle Bestandteile den gleichen RRF. Ihre relative Menge im Gemisch muss daher nach Korrektur der einzelnen experimentellen RRF (RRF_{exp}) mit einzelnen vorhergesagten RRF_{pred} berechnet werden.

- Aus der in A.2.3 injizierten GC-FID-Arbeitslösung. Die Berechnung der Menge an flüchtigen Bestandteilen in den einzelnen Referenzproben für jedes mutmaßliche Allergen i ; die Berechnung von $RRF_{i\ exp}$ erfolgt nach folgender Gleichung:

$$RRF_{i\ exp} = (C_i \times Bereich_{IS}) / (C_{IS} \times Bereich_i)$$

Dabei ist/sind

C_i und C_{IS} die jeweilige Konzentration des Allergens und des internen Standards in der Arbeitslösung,

$Bereich_{IS}$ und $Bereich_i$ die jeweilige während GC-FID gemessene Peakfläche des internen Standards und der Allergene.

Die Konzentrationen können in diesem Fall durch die Massen ersetzt werden.

ANMERKUNG Die Anzahl der Lösungen, die erforderlich sind, um alle Allergene abzudecken, richtet sich nach der Auflösung, die auf den verwendeten Analysensäulen erzielt werden kann. Im Idealfall sollte es bei diesen Arbeitslösungen bei der Bestimmung des RRF keine gemeinsame Elution zwischen den Allergenen geben. Die Anzahl der analysierten Lösungen liegt in der Verantwortung des Anwenders.

- Für ein mutmaßliches Allergenmolekül i wird die Reinheit des mutmaßlichen RRF-Allergens wie folgt berechnet:

$$S_{pred}(\%) = 100 \times RRF_{i\ pred} / RRF_{i\ exp}$$

Dabei ist

S_{pred} die mutmaßliche Standardreinheit,

RRF_{pred} der vorhergesagte RRF,

RRF_{exp} der experimentelle RRF.

Verweisungen — Anhang A

[5] „Quantification in Gas Chromatography: Prediction of Flame Ionization Detector Response factors from Combustion Enthalpies and Molecular Structure“, de Saint Laumer et al, Anal. Chem. 2010, 82, 6457-6462

[6] „Quantitation in gas chromatography: usual practices and performances of a response factor database“, Cicchetti et al. Flavour Fragr. J. 2008; 23: 450–459).

Anhang B (informativ)

GC-Kapillarsäulenparameter

Alternative Phasentypen und Säulenlängen zu den vorgeschlagenen dürfen für dieses Verfahren verwendet werden; es liegt jedoch in der Verantwortung des Anwenders, die Trennfähigkeit und Eignung für die Verwendung der ausgewählten Säule in dieser Anwendung zu validieren, bevor Daten erzeugt werden. Dieses Verfahren und dessen Leistungsfähigkeit basieren auf den vorstehend angegebenen Säulentypen und -bedingungen.

*Um die Trennwirkung der Säulen zu bewerten, werden die Auflösung $\bar{R}$ aller benachbarten Peaks und die mittlere Auflösung wie folgt berechnet:

$$\bar{R} = 1.18 \left[\prod_{i=n}^{i=n-1} \left(\frac{t_{R,i+1} - t_{R,i}}{w_{h,i} + w_{h,i+1}} \right) \right]^{\frac{1}{n-1}}$$

Dabei ist

$t_{R,i}$ die Retentionszeit des i -ten Peaks,

$w_{h,i}$ die halbe Peakbreite des i -ten Peaks,

n die Anzahl der Peaks im Chromatogramm.

Die Trennwirkung einer bestimmten Chromatographiesäule wird als geeignet angesehen, wenn die Auflösung R größer als 1 ($R > 1$) und/oder die mittlere Auflösung größer als 1,3 ($> 1,3$) ist.

Anhang C (informativ)

SIM-Ionen für SIM- oder SIM-SCAN-Anwendungen

Tabelle C.1 — SIM-Ionen (m/z) mutmaßlicher Allergene, aufgeführt in der Elutionsreihenfolge auf einer 100 %-PDMS-Säule, entsprechende zur Quantifizierung angewendete SIM-Verfahren (1 oder 2) und angewendeter interner Standard (ISA oder ISB)

Abschnitt in diesem Dokument	100 %-PDMS-Säule					Interner Standard
	Identifizierung	SIM-Verfahren	I1 (uma)	I2 (uma)	I3 (uma)	
5.2.8	Benzaldehyd	1	106	105	51	IS _A
5.2.48	α-Pinen	2	93	92	91	
5.2.49	β-Pinen	2	93	92	91	
5.3.2.9	Benzylalkohol	1	79	107	108	
5.2.54	α-Terpinen	2	136	79	121	
5.2.51	Salicylaldehyd	1	122	121	65	
5.2.40	Limonen	2	68	93	67	
5.2.56	Terpinolen	2	93	136	121	
5.2.41	Linalool	2	93	71	80	
5.2.13	Campher	1	95	81	108	
5.2.55b	cis-β-Terpineol	2	71	93	136	
5.2.55c	trans-β-Terpineol	2	71	93	136	
5.2.45	Menthol	1	71	81	95	
5.3.1	1,4-Dibrombenzen (IS _A)	1&2	236	238	234	
5.2.46	Methylsalicylat	2	120	152	92	
5.2.47	Methylheptincarboxat (Folione®)	1	123	111	95	
5.2.55	α-Terpineol	2	59	121	93	
5.2.55.a	γ-Terpineol	2	121	93	136	
5.2.19	Citronellol	1	69	81	95	
5.2.14	Carvon	2	82	54	108	
5.2.18B	Neral	1	69	119	84	
5.2.16	Zimtaldehyd	1	131	103	132	
5.2.31	Geraniol	2	69	93	123	
5.2.42	Linalylacetat	2	93	80	121	
5.2.18A	Geranial	1	84	83	152	
5.2.7	Anisalkohol	2	138	137	109	

Abschnitt in diesem Dokument	100 %-PDMS-Säule					Interner Standard
	Identifizierung	SIM-Verfahren	I1 (uma)	I2 (uma)	I3 (uma)	
5.2.35	Hydroxycitronellal	1	59	71	95	
5.2.6	trans-Anethol	2	147	117	148	
5.2.17	Zimtalkohol	1	92	78	115	
5.2.25	DMBCA (Dimethylbenzylcarbinyllacetat)	2	132	117	91	
5.2.27	Eugenol	2	164	149	103	
5.2.57	Vanillin	2	151	152	81	
5.2.24	δ-Damascenon	1	69	123	192	
5.2.21	β-Damascenon	1	69	175	190	
5.2.32	Geranylacetat	2	93	68	136	
5.2.22	α-Damascenon	1	69	123	192	
5.2.20	Cumarin	2	118	146	89	
5.2.44	Majantol® (3-Trimethylbenzolpropanol)	2	106	91	105	
5.2.23	β-Damascenon	1	177	123	192	
5.2.15	β-Caryophyllen	2	93	91	133	IS _B
5.2.37	Isoeugenol	2	164	149	131	
5.2.26A	Ebanol 1	1	108	149	164	
5.2.26B	Ebanol 2	1	108	149	164	
5.2.38	α-Isomethylionon	1	135	150	206	
5.2.28	Eugenolacetat	1	164	149	131	
5.2.39	2-(4-tert-Butylbenzyl)propionaldehyd (Lilial)	2	189	147	204	
5.2.50A	Propylidenphthalid (Hauptisomer)	2	159	174	104	
5.2.3	Amylsalicylat	1	120	138	208	
5.2.50B	Propylidenphthalid (Nebenisomer)	2	159	174	104	
5.2.2	Acetyleugenol/Isoeugenylacetat	1	164	131	149	
5.2.4	α-Amylzimtaldehyd (Flosal®)	2	129	201	202	
5.2.43A	Lyrall® (Hauptisomer)	2	136	192	177	
5.2.43B	Lyrall® (Nebenisomer)	2	136	192	177	
5.2.36B	Iso E® Super, Hauptisomer β	1	191	121	109	
5.2.36A	Iso E® Super, α-Isomer	1	191	121	109	
5.2.29C	(Z,Z)-Farnesol	2	69	81	93	
5.2.5	α-Amyl-Zimtalkohol	1	133	204	115	
5.2.52A	α-Santalol	2	93	94	122	
5.2.36C	Iso E® Super, γ-Isomer	1	191	135	121	

Abschnitt in diesem Dokument	100 %-PDMS-Säule					Interner Standard
	Identifizierung	SIM-Verfahren	I1 (uma)	I2 (uma)	I3 (uma)	
5.2.29B und D	(Z,E)-Farnesol/(E,Z)-Farnesol	2	69	81	93	
5.2.52B	β-Santalol	2	93	94	122	
5.2.29A	(E,E)-Farnesol	2	69	81	93	
5.2.34	α-Hexylzimtaldehyd	1	129	216	215	
5.2.10	Benzylbenzoat	1	105	212	194	
5.2.1	α-Hexylzimtaldehyd (Vertofix®; Hauptisomer)	2	161	231	246	
5.2.12	Benzylsalicylat	1	91	228	65	
5.2.30AB	Galaxolid 1+2	1	243	213	258	
5.2.33	Hexadecanolacton/Dihydroambrettolid	1	83	97	111	
5.3.2	4,4'-Dibrombiphenyl (IS _B)	1&2	312	314	310	
5.2.11	Benzylcinnamat	2	131	192	193	
5.2.53	Sclareol	2	95	177	109	

Tabelle C.2 — SIM-Ionen (m/z) von Allergenen, aufgeführt in der Elutionsreihenfolge auf einer 50 %-Phenylmethylpolysiloxan-50 %-Phenylmethylpolysiloxan-Säule, entsprechend zur Quantifizierung angewendete SIM-Verfahren (1 oder 2) und angewendeter interner Standard (ISA oder ISB)

Abschnitt in diesem Dokument	50 %-Phenylmethylpolysiloxan-50 %-Phenylmethylpolysiloxan-Säule					Interner Standard
	Identifizierung	SIM-Verfahren	I1 (uma)	I2 (uma)	I3 (uma)	
5.2.48	α-Pinen	1	93	92	91	IS _A
5.2.49	β-Pinen	1	93	92	91	
5.2.54	α-Terpinen	2	136	79	121	
5.2.40	Limonen	2	68	93	67	
5.2.8	Benzaldehyd	1	106	105	51	
5.2.56	Terpinolen	2	93	136	121	
5.2.41	Linalool	2	93	71	80	
5.2.9	Benzylalkohol	1	79	108	107	
5.2.51	Salicylaldehyd	1	122	121	65	
5.2.55b	cis-β-Terpineol	2	71	93	136	
5.2.55c	trans-β-Terpineol	2	71	93	136	
5.2.45	Menthol	2	71	95	81	
5.2.13	Campher	2	95	108	81	

Abschnitt in diesem Dokument	50 %-Phenylmethylpolysiloxan-50 %-Phenylmethylpolysiloxan-Säule					Interner Standard
	Identifizierung	SIM-Verfahren	I1 (uma)	I2 (uma)	I3 (uma)	
5.2.55	α -Terpineol	1	59	121	93	
5.2.55.a	γ -Terpineol	1	121	93	136	
5.2.19	Citronellol	2	69	81	95	
5.2.42	Linalylacetat	1	93	80	121	
5.2.47	Methylheptincarbonat (Folione®)	1	123	95	66	
5.2.31	Geraniol	2	69	93	123	
5.2.46	Methylsalicylat	2	120	152	121	
5.2.18B	Neral	1	69	94	109	
5.3.1	1,4-Dibrombenzen (ISA)	1 & 2	236	238	234	
5.2.18A	Geranial	1	84	83	152	
5.2.14	Carvon	2	82	54	108	
5.2.35	Hydroxycitronellal	2	59	71	95	
5.2.6	trans-Anethol	1	147	117	148	
5.2.25	DMBCA-Acetat (Dimethylbenzylcarbinylnacetat)	1	132	117	91	
5.2.15	β -Caryophyllen	2	93	91	133	
5.2.32	Geranylacetat	1	93	68	136	
5.2.24	δ -Damasconon	2	69	192	123	
5.2.16	Zimtaldehyd	1	131	103	132	
5.2.7	Anisalkohol	2	138	137	109	
5.2.26A	Ebanol 1	1	108	149	164	
5.2.22	α -Damascon	2	123	177	192	
5.2.17	Zimtalkohol	1	92	115	78	
5.2.21	β -Damasconon	2	69	175	190	
5.2.26B	Ebanol 2	1	108	149	164	
5.2.27	Eugenol	1	164	149	103	
5.2.23	β -Damasconon	2	177	192	123	
5.2.44	Majantol® (3-Trimethylbenzolpropanol)	1	106	91	105	
5.2.38	α -Isomethylionon	2	135	206	150	
5.2.37	Isoeugenol	1	164	149	131	
5.2.57	Vanillin	2	151	152	81	IS _B
5.2.39	2-(4-tert-Butylbenzyl)propionaldehyd (Lilial)	1	189	147	204	
5.2.3	Amylsalicylat	2	120	138	208	
5.2.20	Cumarin	1	118	146	89	

Abschnitt in diesem Dokument	50 %-Phenylmethylpolysiloxan-50 %-Phenylmethylpolysiloxan-Säule					Interner Standard
	Identifizierung	SIM-Verfahren	I1 (uma)	I2 (uma)	I3 (uma)	
5.2.28	Eugenolacetat	2	164	149	131	
5.2.36B	Iso E® Super; Hauptisomer β	1	191	121	109	
5.2.36A	Iso E® Super, α-Isomer	1	191	121	109	
5.2.29C	(Z,Z)- Farnesol	2	69	81	93	
5.2.52A	α-Santalol	2	93	94	122	
5.2.29B	(Z,E)-Farnesol	2	69	81	93	
5.2.29D	(E,Z)-Farnesol	2	69	81	93	
5.2.36C	Iso E® Super, γ-Isomer	1	191	135	150	
5.2.50A	3-Propylidenphthalid (Nebenisomer)	2	159	174	104	
5.2.4	α-Amylzimtaldehyd (Flosal®)	1	129	201	202	
5.2.29A	(E,E)-Farnesol	2	69	81	93	
5.2.2	Acetyleugenol/Isoeugenylacetat	1	164	131	149	
5.2.43B	Hydroxyisohexyl-3-cyclohexencarboxaldehyd/Lyral® (Nebenisomer),	2	136	192	177	
5.2.52B	β-Santalol	1	93	94	122	
5.2.43A	Hydroxyisohexyl-3-cyclohexencarboxaldehyd/Lyral® (Hauptisomer)	2	136	192	177	
5.2.5	α-Amyl-Zimtalkohol	2	133	204	115	
5.2.50B	3-Propylidenphthalid (Nebenisomer)	1	159	174	104	
5.2.1	α-Hexylzimtaldehyd (Vertofix®; Hauptisomer)	1	161	231	246	
5.2.34	α-Hexylzimtaldehyd	2	129	216	215	
5.2.30A	Galaxolid 1	1	243	213	258	
5.2.30B	Galaxolid 2	1	243	213	258	
5.2.10	Benzylbenzoat	2	105	212	194	
5.2.33	Hexadecanolacton/Dihydroambrettolid	1	83	97	111	
5.2.12	Benzylsalicylat	2	91	228	65	
5.3.2	4,4'-Dibrombiphenyl (ISB)	1 & 2	312	314	310	
5.2.53	Sclareol	1	95	177	109	
5.2.11	Benzylcinnamat	1	131	192	193	

Tabelle C.3 — Alternative SIM-Ionen (m/z) von Allergenen, aufgeführt in der Elutionsreihenfolge auf einer 100 %-PDMS- oder 00 %-PDMS-Säule, entsprechende zur Quantifizierung angewendete SIM-Verfahren (1 oder 2) und interner Standard (ISA oder ISB)

Abschnitt in diesem Dokument	100 %-PDMS-Säule					Interner Standard
	Identifizierung	SIM-Ver- fahren	I1 (uma)	I2 (uma)	I3 (uma)	
5.2.8	Benzaldehyd	1	106	105	51	IS _A
5.2.48	α-Pinen	2	93	92	91	
5.2.49	β-Pinen	2	93	92	91	
5.2.9	Benzylalkohol	1	108	107	79	
5.2.54	α-Terpinen	2	136	79	121	
5.2.51	Salicylaldehyd	1	122	121	104	
5.2.40	Limonen	2	68	93	67	
5.2.56	Terpinolen	2	136	121	91	
5.2.41	Linalool	2	71	121	55	
5.2.13	Campher	1	95	108	81	
5.2.55B	cis-β-Terpineol	2	71	93	136	
5.2.55C	trans-β-Terpineol	2	71	93	136	
5.2.45	Menthol	1	71	95	81	
5.3.1	1,4-Dibrombenzen (IS _A)	1 & 2	236	238	234	
5.2.46	Methylsalicylat	2	152	120	92	
5.2.47	Methylheptincarbonat (Folione®)	1	123	95	139	
5.2.55A	α-Terpineol	2	121	59	93	
5.2.19	Citronellol	1	69	81	95	
5.2.14	Carvon	2	82	93	108	
5.2.18B	Neral	1	84	94	137	
5.2.16	Zimtaldehyd	1	131	132	103	
5.2.31	Geraniol	2	69	93	123	
5.2.42	Linalylacetat	2	93	80	121	
5.2.18A	Geranial	1	84	94	152	
5.2.7	Anisalkohol	2	138	137	109	
5.2.35	Hydroxycitronellal	1	71	96	139	
5.2.6	trans-Anethol	2	148	147	117	
5.2.17	Zimtalkohol	1	134	92	91	
5.2.25	DMBCA (Dimethylbenzylcarbinylnylacetat)	2	132	117	91	
5.2.27	Eugenol	2	164	149	103	
5.2.57	Vanillin	2	151	152	123	
5.2.24	δ-Damascenon	1	69	192	123	

Abschnitt in diesem Dokument	100 %-PDMS-Säule					Interner Standard
	Identifizierung	SIM-Ver- fahren	I1 (uma)	I2 (uma)	I3 (uma)	
5.2.21	β-Damascenon	1	190	175	105	IS _B
5.2.32	Geranylacetat	2	136	93	121	
5.2.22	α-Damascenon	1	69	192	123	
5.2.20	Cumarin	2	118	146	90	
5.2.44	Majantol® (3-Trimethylbenzolpropanol)	2	106	91	105	
5.2.23	β-Damascenon	1	177	192	123	
5.2.15	β-Caryophyllen	2	<u>133</u>	<u>91</u>	<u>93</u>	
5.2.37	Isoeugenol	2	164	149	131	
5.2.26A	Ebanol 1	1	164	108	121	
5.2.26B	Ebanol 2	1	164	108	121	
5.2.38	α-Isomethylionon	1	135	206	150	
5.2.28	Eugenolacetat	1	164	131	206	
5.2.39	2-(4-tert-Butylbenzyl)propionaldehyd (Lilial)	2	189	147	204	
5.2.50A	Propylidenphthalid (Hauptisomer)	2	159	174	104	
5.2.3	Amylsalicylat	1	138	208	121	
5.2.50B	Propylidenphthalid (Nebenisomer)	2	159	174	104	
5.2.2	Acetyleneugenol/Isoeugenylacetat	1	164	131	149	
5.2.4	α-Amylzimtaldehyd (Flosal®)	2	129	201	202	
5.2.43A	Lyrall® (Hauptisomer)	2	136	192	177	
5.2.43B	Lyrall® (Nebenisomer)	2	136	192	177	
5.2.36B	Iso E® Super; Hauptisomer β	1	191	119	121	
5.2.36A	Iso E® Super, α-Isomer	1	191	121	109	
5.2.5	α-Amyl-Zimtalkohol	1	133	115	129	
5.2.52A	α-Santalol	2	93	122	107	
5.2.36C	Iso E® Super, γ-Isomer	1	191	135	150	
5.2.29B	(Z,E)-Farnesol	2	69	93	136	
5.2.52B	β-Santalol	2	94	122	107	
5.2.29A	(E,E)-Farnesol	2	69	81	93	
5.2.34	α-Hexylzimtaldehyd	1	129	216	215	
5.2.10	Benzylbenzoat	1	105	212	194	
5.2.1	α-Hexylzimtaldehyd (Vertofix®; Hauptisomer)	2	161	231	246	
5.2.12	Benzylsalicylat	1	91	228	65	
5.2.30AB	Galaxolid 1+2	1	243	213	258	

	100 %-PDMS-Säule					
Abschnitt in diesem Dokument	Identifizierung	SIM-Ver- fahren	I1 (uma)	I2 (uma)	I3 (uma)	Interner Standard
5.2.33	Hexadecanolacton/Dihydroambrettolid	1	83	97	236	
5.3.2	4,4'-Dibrombiphenyl (IS _B)	1 & 2	312	314	310	
5.2.11	Benzylcinnamat	2	131	192	193	
5.2.53	Sclareol	2	177	191	290	
Diese sollten vor der Verwendung im Verfahren vom Bearbeiter validiert werden.						
Alle Zielbestandteile, bei denen ein SIM-Ion oder mehrere der SIM-Ionen gegenüber Tabelle C.1 und Tabelle C.2 geän- dert wurden, sind rot geschrieben.						

Anhang D (informativ)

Beispiel für SIM-Fenster

Tabelle D.1 — Beispiel für Fenster für das SIM1-Verfahren auf einer 100% PDMS-Säule

SIM-Ionen aus der Tabelle

(Merkmale und Ofentemperatur siehe 6.3, Tabelle 1)

VERFAHREN: 100% PDMS -SIM1				AUFGEZEICHNETE IONEN							
Start-zeit-punkt (ms)	Verweil-zeit (ms)	Name	Zyklus/s	1	2	3	4	5	6	7	8
0	50	Benzaldehyd (3.2.8)	5.8	106	105	51					
4.8	50	Benzylalkohol (3.2.9)	3.1		79	108	107				
	50	Salicylaldehyd (3.2.51)		122				121	65		
7.1	50	Campher (3.2.13)	5.8	81	95	108					
8.0	50	Menthol (3.2.45)	3.1	71	81	95					
	50	Folione® (3.2.47)				95	111	123			
	50	1,4-Dibrombenzen - IS _B (3.3.1)							236	234	238
9.5	50	Citronellol (3.2.19)	3.7	69	81	95					
	50	Neral (3.2.18B)		69			84	119			
10.2	50	Zimtaldehyd (3.2.16)	3.1			103	131	132			
	50	Geranial (3.2.18A)		83	84				152		
11	50	Hydroxycitronellal (3.2.35)	3.1	59	71			95			
	50	Zimtalkohol (3.2.16)				78	92		115		
13.5	50	δ-Damascon (3.2.24),	3.1	69	123				192		
	50	β-Damascenon (3.2.21)		69		175		190			
	50	α-Damascon (3.2.22)		69	123				192		
	50	β-Damascon (3.2.24)			123		177		192		
15.5	50	Ebanole (3.2.26)	5.8	108	149	164					
16.9	50	α-Isomethylionon (3.2.38)	3.1		135		150		206		
	50	Eugenolacetat (3.2.28)		164		131		149			
18.5	50	Amylsalicylat (3.2.3)	5.8	120	138	208					
20	50	Acetyleugenol (3.2.2)	5.8	164	131	149					
21	44	isoE®, β-Isomer (3.2.36B)	3	109		121			191		
	44	isoE®, α-Isomer (3.2.36A)		109		121			191		
	44	isoE®, γ-Isomer (3.2.36C)				121		135	191		
	44	α-Amyl-Zimtalkohol (3.2.5)			115		133			204	
22.6	50	α-Hexylzimtaldehyd (3.2.34)	3.1		129			215	216		
	50	Benzylbenzoat (3.2.10)		105		194	212				
23.6	50	Benzylsalicylat (3.2.12)	3.1	65	91		228				
	50	Galaxolid (3.2.30)				213		243	258		
25	50	Hexadecanolacton (3.2.33)	3.1	83	97	111					
	50	4,4'-Dibrombiphenyl-IS _B (3.3.2)					312	310	314		