

DIN EN 17517

ICS 65.120

Einsprüche bis 2020-07-15

Entwurf

**Futtermittel: Probenahme- und Untersuchungsverfahren –
Bestimmung von mineralölgesättigten Kohlenwasserstoffen (MOSH) und
mineralölaromatischen Kohlenwasserstoffen (MOAH) mit Online-Analyse
durch HPLC-GC-FID;
Deutsche und Englische Fassung prEN 17517:2020**

Animal feeding stuffs: Methods of sampling and analysis –
Determination of mineral oil saturated hydrocarbons (MOSH) and mineral oil aromatic
hydrocarbons (MOAH) with on-line HPLC-GC-FID analysis;
German and English version prEN 17517:2020

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2020-05-15 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 oder 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 85 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17517:2020) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 327 „Futtermittel — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“, dessen Sekretariat von NEN (die Niederlande) gehalten wird, erarbeitet.

Das zuständige deutsche Gremium 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 siehe DIN ISO 5725-2

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN ISO 5725-2, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens*

Futtermittel: Probenahme- und Untersuchungsverfahren — Bestimmung von mineralölgesättigten Kohlenwasserstoffen (MOSH) und mineralölaromatischen Kohlenwasserstoffen (MOAH) mit Online-Analyse durch HPLC-GC-FID

Animal feeding stuffs: Methods of sampling and analysis — Determination of mineral oil saturated hydrocarbons (MOSH) and mineral oil aromatic hydrocarbons (MOAH) with on-line HPLC-GC-FID analysis

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokument-Stage: CEN-Umfrage
Dokument-Sprache: D

STD Version 2.10b

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Einführung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Kurzbeschreibung	7
5 Reagenzien	8
6 Geräte	10
7 Probenahme	12
8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	12
9 Vorbereitung der Analysenprobe	12
9.1 Fettgewinnung aus der Futterprobe	12
9.1.1 Die Gewinnung von fetthaltigem Material für Proben mit einem Fettgehalt unter 30 %	12
9.1.2 Gewinnung von fetthaltigem Material für eine Probe mit einem Fettgehalt über 30 %	12
9.2 Verfahren für Fette und Fettextrakte	12
9.2.1 Verfahren für flüssige und feste Fette	12
9.2.2 Verfahren für gewonnene Fette	13
9.3 Blindprobe	13
10 Flüssigchromatographie und Gaschromatographie	13
10.1 Einstellungen für die Flüssigchromatographie	13
10.2 Arbeitsbedingungen für die HPLC	14
10.3 HPLC-GC-Interface	15
10.4 Einstellungen für die Gaschromatographie	16
10.5 Arbeitsbedingungen für die GC	16
10.6 Lösemitteldampfausgang	16
10.7 Peakidentifizierung	16
10.8 Leistungsfähigkeit des HPLC-GC-Systems	17
10.9 Quantitative Bestimmung der aus Mineralöl stammenden Kohlenwasserstoffe	18
11 Präzision	19
11.1 Ringversuch	19
11.2 Wiederholpräzision	19
11.3 Vergleichpräzision	19
12 Prüfbericht	19
Anhang A (informativ) Beispiele für Chromatogramme	20
Anhang B (informativ) Präzisionsdaten	26
Anhang C (informativ) Bestimmung von gesättigten Kohlenwasserstoffen aus Mineralöl – alternatives manuelles Verfahren für die Online-HPLC-GC-FID-Analyse	29
C.1 Allgemeines	29
C.2 Kurzbeschreibung	29
C.3 Reagenzien	29

C.4	Geräte.....	31
C.5	Probenahme	32
C.6	Vorbereitung der Untersuchungsprobe.....	32
C.7	Durchführung	32
C.7.1	Fettgewinnung aus der Futterprobe	32
C.7.1.1	Allgemeines.....	32
C.7.1.2	Die Gewinnung von fetthaltigem Material für Tierfutter (Fettgehalt unter 15 %).....	33
C.7.1.3	Gewinnung von fetthaltigem Material für Ölsaaten (Fettgehalt über 30 %).....	33
C.7.1.4	Gewinnung von fetthaltigem Material für Ölsaaten (Fettgehalt zwischen 15 % und 30 %).....	33
C.7.1.5	Verdampfung des Lösemittels.....	33
C.7.2	Vorbereitung der Chromatographiesäule	33
C.7.2.1	Vorbereitung des mit AgNO₃ imprägnierten Kieselgels.....	33
C.7.2.2	Säulenpackung.....	34
C.7.3	Isolierung des Kohlenwasserstoffanteils vom Fettextrakt (oder der Ölprobe).....	34
C.7.3.1	Vorbereitung der Ölprobe.....	34
C.7.3.2	Eluierung der Kohlenwasserstofffraktion.....	34
C.7.4	Gaschromatographie.....	34
C.7.4.1	Einstellungen für die Gaschromatographie	34
C.7.4.2	Arbeitsbedingungen für die Gaschromatographie-Analyse	35
C.7.4.3	Peakidentifizierung	35
C.7.4.4	Leistungsfähigkeit des Gaschromatographiesystems.....	35
C.7.5	Verfahrensbezogene Blindprobe.....	36
C.7.6	Quantitative Bestimmung	36
C.8	Bestimmung der Kohlenwasserstoffe, die einem mineralischen Ursprung zugeschrieben werden.....	39
C.9	Präzisionsdaten	39
	Literaturverzeichnis.....	42

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17517:2020) 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 wurde im Rahmen eines Normungsauftrages erarbeitet, den die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelsassoziation CEN erteilt haben.

Einführung

WARNUNG — Das in diesem Dokument beschriebene Verfahren beinhaltet die Verwendung von Reagenzien, die eine Gefahr für die Gesundheit darstellen. Die Norm erhebt nicht den Anspruch, alle damit verbundenen Sicherheitsprobleme anzusprechen. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieses Dokuments, vor der Anwendung dieser Norm geeignete Maßnahmen für den Gesundheitsschutz und die Sicherheit des Personals zu ergreifen und sicherzustellen, dass behördliche und gesetzliche Anforderungen eingehalten werden.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Verfahren zur Bestimmung von gesättigten und aromatischen Kohlenwasserstoffen (von C10 bis C50) in Futter fest. Das Verfahren wurde im Ringversuch mit Online-HPLC-GC-FID validiert – siehe [1], [2] und [3]. Dieses Verfahren ist nicht für die Anwendung auf andere Matrices vorgesehen.

Das Verfahren kann zur Bestimmung von gesättigten Mineralöl-Kohlenwasserstoffen (MOSH) und/oder aromatischen Mineralöl-Kohlenwasserstoffen (MOAH) verwendet werden.

Das Verfahren ist anwendbar für Futtermittel, insbesondere Pflanzenöle und andere fettreiche Futtermittel, Mischfuttermittel und Vormischungen. Es ist nicht anwendbar auf Zusatzstoffe oder Deodestillate.

Das Verfahren wurde in einem Ringversuch sowohl an natürlich kontaminierten als auch an angereicherten Proben (Vormischung, Sojabohnenmehl, Sonnenblumenkerne, Hühnerfutter, Schweinefutter, Pflanzenöl) in Bereichen von 3 mg/kg bis 286 mg/kg für MOSH und von 1 mg/kg bis 16 mg/kg für MOAH getestet.

Nach den Ringversuchsergebnissen hat sich das Verfahren bei Massenkonzentrationen an MOSH und MOAH von jeweils über 10 mg/kg als geeignet erwiesen. Das Verfahren wurde jedoch während der gemeinsamen Studie für die Probe einer Vormischung wegen zu geringer MOSH- und MOAH-Konzentrationen nicht vollständig validiert. Außerdem wurde das Verfahren während der gemeinsamen Studie für die Sonnenblumenkern-Probe wegen einer zu geringen MOAH-Konzentration nicht vollständig validiert.

ANMERKUNG Die Schlussfolgerungen in Bezug auf MOAH basieren auf 4 Analyt-/Matrix-Kombinationen, während nach dem IUPAC-Protokoll [4] davon ausgegangen wird, dass dies mindestens 5 sind.

Wenn Störungen durch natürliche Quellen vermutet werden, kann die fossile Herkunft der MOSH- und MOAH-Fraktion durch Untersuchung des chromatographischen Profils mit GC-MS verifiziert werden.

Für die Bestimmung von MOSH und MOAH in essbaren Fetten und Ölen steht auch eine andere Norm zur Verfügung: EN 16995. Weitere Informationen siehe [5].

In Anhang C wird ein manuelles Alternativverfahren zur Online-HPLC-GC-FID-Analyse vorgeschlagen, das als Screening-Verfahren verwendet werden kann.

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:

— ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>

— IEC Electropedia: verfügbar unter <http://www.electropedia.org/>

3.1

gesättigte Mineralöl-Kohlenwasserstoffe

MOSH

(en: mineral oil saturated hydrocarbons)

paraffinische (offenkettige, üblicherweise verzweigte) und naphthenische (ringförmige, alkylierte) Kohlenwasserstoffe

3.2

aromatische Mineralöl-Kohlenwasserstoffe

MOAH

(en: mineral oil aromatic hydrocarbons)

aromatische überwiegend alkylierte Kohlenwasserstoffe

3.3

nicht aufgetrennte komplexe Mischung

UCM

(en: unresolved complex mixture)

komplexe Mischung von gesättigten oder aromatischen Kohlenwasserstoffen wie verzweigte Paraffine, alkylierte Naphthene und alkylierte Aromaten, die mittels Gaschromatographie nicht aufgetrennt werden können

4 Kurzbeschreibung

Das fetthaltige Material wird unter Verwendung organischer Lösemittel aus dem Bedarfsgegenstand extrahiert. Nach der Konzentration eines Teils des Lösemittels wird das Extrakt einem Epoxidierungsschritt unterzogen. Die MOSH- und MOAH-Fractionen werden mit einem HPLC-GC-FID-System isoliert und aufgetrennt. Die MOSH- und MOAH-Fractionen werden auf einer Kieselgelsäule mit einem *n*-Hexan/Dichlormethan-Gradienten getrennt und jeweils als 450-µl-Fractionen mit einem Y-Interface [6] in den GC transferiert, während die Triglyceride auf der HPLC-Säule zurückgehalten werden. Lösemitteldämpfe werden über einen Lösemitteldampfausgang, der sich zwischen der unbelegten Vorsäule und der GC-Trennsäule befindet, abgeführt. Flüchtige Substanzen werden unter Anwendung einer teilweise gleichzeitigen Eluentenverdampfung durch „solvent trapping“ erfasst. Schwerflüchtige Substanzen werden über die gesamte Länge der gefluteten unbelegten Vorsäule verteilt und mittels „Retention-Gap-Technik“ [2] refokussiert.

Die dem Mineralöl entsprechende Peakfläche wird nach Abzug der aufsitzenden Peaks durch *n*-Alkane (natürlich vorkommende Kohlenwasserstoffe), Terpene, Squalen und dessen Isomerisierungsprodukte, Sterine und Olefine mit Carotinoidstruktur bestimmt. MOSH und MOAH werden über einen internen Standard quantifiziert, der vor der Untersuchung hinzugefügt wird. Verifizierungsstandards werden hinzugefügt, um die korrekte HPLC-Fraktionierung und die GC-Transferbedingungen zu überwachen.

Epoxidierung ist als Aufreinigungsschritt zur quantitativen Bestimmung von MOAH erforderlich. Dieser Aufreinigungsschritt ermöglicht das Entfernen von Olefinen wie Squalen (z. B. Olivenöl, Palmöl), die in der MOAH-Fraktion eluieren und bei der quantitativen Bestimmung stören. Durch Epoxidierung werden auch bestimmte Olefine entfernt, die mit der MOSH-Fraktion koeluieren, daher darf die Epoxidierung auch als Aufreinigungsschritt für die MOSH-Fraktion verwendet werden. Obwohl der Epoxidierungsschritt nicht vollständig quantitativ ist und das Ausmaß von der Probe abhängen kann, ist dies der beste Kompromiss zur Entfernung von Olefinen. Je nach Probe kann durch diese Reaktion auch ein Teil der MOAH epoxidiert oder ein Teil der störenden Olefine unvollständig abgetrennt werden.

5 Reagenzien

WARNUNG — Das in diesem Dokument beschriebene Verfahren beinhaltet die Verwendung von Reagenzien, die eine Gefahr für die Gesundheit darstellen. Die Norm erhebt nicht den Anspruch, alle damit verbundenen Sicherheitsprobleme anzusprechen. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieses Dokuments, vor der Anwendung dieser Norm geeignete Maßnahmen für den Gesundheitsschutz und die Sicherheit des Personals zu ergreifen und sicherzustellen, dass behördliche und gesetzliche Anforderungen eingehalten werden.

Sofern nicht anders angegeben, werden ausschließlich Reagenzien von anerkannter Analysequalität verwendet.

5.1 Entmineralisiertes Wasser, in einer Glasflasche gelagert

5.2 *n*-Hexan, für organische Spurenanalytik, für Pestizidrückstandsanalytik

Die Reinheit von *n*-Hexan kann überprüft werden, indem 30 ml *n*-Hexan mit 25 µl der internen Standardlösung (5.16) und 2 Tropfen Keeper (5.27) versetzt und im Rotationsverdampfer eingeeengt werden. Der Rückstand wird in 0,2 ml *n*-Hexan gelöst, und 50 µl von dieser Lösung werden mit Online-HPLC-GC-FID (6.10) untersucht. Während der Verdampfung ist darauf zu achten, dass der Rückstand nicht bis zur Trockne eingedampft wird, damit keine flüchtigen Kohlenwasserstoffe verloren gehen. Die Signalintensität für den eingedampften Rückstand sollte ein Zehntel der bei der Bestimmungsgrenze erhaltenen Signalintensität nicht überschreiten.

5.3 Toluol

5.4 1,1,2-Trichlorethan

5.5 Perylen (Per), Reinheit $\geq 99 \%$

5.6 α -Cholestan (Cho), Reinheit $\geq 97 \%$

5.7 *n*-Undecan (*n*-C11), Reinheit $\geq 98 \%$

5.8 *n*-Tridecan (*n*-C13), Reinheit $\geq 97 \%$

5.9 Tri-tert-butylbenzol (TBB)

5.10 Bicyclohexyl (CyCy), Reinheit $\geq 99 \%$

5.11 1-Methylnaphthalin (1-MN), Reinheit $\geq 95 \%$

5.12 2-Methylnaphthalin (2-MN), Reinheit $\geq 97 \%$

5.13 Pentylbenzol (5-PB), Reinheit $\geq 96 \%$

5.14 Stammlösungen, mit einer Massenkonzentration von $\rho = 10 \text{ mg/ml}$

Zur Herstellung einzelner Stammlösungen werden jeweils 100 mg *n*-C11 (5.7), *n*-C13 (5.8), TBB (5.9), CyCy (5.10), 1-MN (5.11), 2-MN (5.12) und 5-PB (5.13) auf 1 mg in einen 10-ml-Messkolben eingewogen und bis zur Marke mit 1,1,2-Trichlorethan (5.4) oder Toluol (5.3) aufgefüllt. Die Lösungen werden bei Raumtemperatur aufbewahrt. Wenn sich bei der Lagerung Kristalle bilden, werden diese durch Erwärmung der Lösung wieder vollständig aufgelöst.

5.15 Interne Standardlösung 1 (ISTD1))

12 mg Per (5.5) und Cho (5.6) werden auf 0,5 mg in einen 20-ml-Messkolben (6.21) eingewogen und mit 600 µl jeder Stammlösung (5.14) versetzt, mit Ausnahme von *n*-C13, von der 300 µl hinzugefügt werden. Der Messkolben wird mit 1,1,2-Trichlorethan (5.4) oder Toluol (5.3) bis auf 20 ml aufgefüllt. Die sich daraus ergebenden Massenkonzentrationen sind für *n*-C13: $\rho = 150 \mu\text{g/ml}$, für *n*-C11, TBB, CyCy, 1-MN, 2-MN und 5-PB: $\rho = 300 \mu\text{g/ml}$ und für Per, Cho: $\rho = 600 \mu\text{g/ml}$.

ANMERKUNG 1 Die Mischung aus diesem Dokument ist erhältlich.¹

5.16 Interne Standardlösung 2 (ISTD2)

Die ISTD1-Lösung wird um den Faktor 10 verdünnt, z. B. wird 1 ml mit *n*-Hexan (5.2) auf 10 ml aufgefüllt. Die sich daraus ergebenden Massenkonzentrationen sind für *n*-C13: $\rho = 15 \mu\text{g/ml}$, für *n*-C11, TBB, CyCy, 1-MN, 2-MN und 5-PB: $\rho = 30 \mu\text{g/ml}$ und für Per, Cho: $\rho = 60 \mu\text{g/ml}$.

5.17 Chlorperbenzoesäure (CPBA), Reinheit 70 % bis 75%

5.18 CPBA-Lösung, $\rho = 0,2 \text{ g/ml}$ in reinem Ethanol

Zum Beispiel 5 g CPBA (5.17) in 25 ml reinem Ethanol (5.22). Die Lösung kann bis zu einer Woche verwendet werden.

5.19 Trägergas für die Gaschromatographie, vorzugsweise Wasserstoff, Reinheit $\geq 99,995 \%$

5.20 Hilfgase für den Flammenionisationsdetektor, Wasserstoff, Luft und Stickstoff, geeignet für Gaschromatographie

5.21 Alkan-Standardgemisch C10 bis C40, Lösung gleicher Konzentration in einem apolaren Lösemittel, $\rho = 1 \mu\text{g/ml}$

5.22 Ethanol, rein

ANMERKUNG 2 Die Reinheit des Ethanols kann durch Zugabe von 25 µl interner Standardlösung (5.16) zu 50 ml Ethanol und 2 Tropfen Keeper (5.27) und anschließend Einengen im Rotationsverdampfer überprüft werden. Der Rückstand wird in 0,2 ml *n*-Hexan gelöst, und 50 µl von der Lösung werden mit Online-HPLC-GC-FID (6.10) untersucht.

5.23 *n*-Pentacontan (C50), Reinheit $\geq 98 \%$

5.24 *n*-Pentacontan(C50)-Lösung in Toluol, ρ etwa $10 \mu\text{g/ml}$

2 mg C50 (5.23) werden in einen 20-ml-Messkolben (6.21) eingewogen und bis zur Marke mit Toluol (5.3) aufgefüllt. 1 ml dieser Lösung wird erneut in einem 10-ml-Messkolben (6.21) mit Toluol bis zur Marke aufgefüllt. Die Lösungen werden bei Raumtemperatur aufbewahrt.

ANMERKUNG 3 Pentacontan ist in Toluol bei Raumtemperatur nur eingeschränkt löslich. Allerdings muss die Konzentration der Lösung von Pentacontan nicht präzise sein, da sie nur zur Anzeige des Integrationsbereiches des Mineralölpeaks verwendet wird.

1 Restek Corp., Cat.# 31070 ist ein Beispiel eines geeigneten handelsüblichen Produkts. Diese Angabe dient lediglich zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN.

ANMERKUNG 4 Es ist auch möglich, handelsübliche *n*-Alkan-Gemische von C12 bis C60, die *n*-Pentacontan enthalten, zu verwenden.²

5.25 Natriumcarbonat Lösung, $\rho = 0,1$ g/ml in Wasser (5.1)

5.26 Dichlormethan (DCM), für organische Spurenanalytik, Reinheit ≥ 99 %

Die Reinheit von DCM kann überprüft werden, indem 50 ml DCM mit 25 μ l der internen Standardlösung (5.16) und 2 Tropfen Keeper (5.27) versetzt und im Rotationsverdampfer eingeeengt werden. Der Rückstand wird in 0,2 ml *n*-Hexan gelöst, und 50 μ l von dieser Lösung werden mit Online-HPLC-GC-FID (6.10) untersucht. Während der Verdampfungsstufe ist darauf zu achten, dass der Rückstand nicht bis zur Trockne eingedampft wird, um den Verlust von flüchtigen Kohlenwasserstoffen zu vermeiden. Die Signalintensität für den eingedampften Rückstand sollte ein Fünftel der bei der Bestimmungsgrenze erhaltenen Signalintensität nicht überschreiten.

5.27 Keeper-Lösemittel

Der Keeper ist ein Lösemittel, das gar nicht oder während der Verdampfung nur in geringerem Maß verdampft, z. B. Bis(2-ethylhexyl)maleat. Ein Keeper wird verwendet, um den Verlust von flüchtigen Verbindungen zu verhindern.

6 Geräte

WICHTIG — Die für die Bestimmung verwendeten Glasgeräte müssen vor Gebrauch gründlich gereinigt und mit *n*-Hexan (5.2) gespült werden, so dass sie frei von Verunreinigungen sind.

Übliche Laborgeräte und insbesondere die folgenden. Glasgeräte müssen vor Gebrauch gründlich gereinigt und mit *n*-Hexan (5.2) gespült oder in einem Ofen ausgeheizt werden, so dass sie frei von Verunreinigungen sind.

6.1 Mühle mit Rotor aus nichtrostendem Stahl, zum Zerkleinern auf mindestens 1 mm

6.2 Magnetrührwerk

6.3 Magnetrührstäbe

6.4 Analysenwaage, ablesbar auf 0,000 1 g

6.5 Rundkolben, 250 ml Nennvolumen

6.6 Glasfläschchen mit Schraubkappen, Nennvolumen 15 ml und 40 ml

6.7 Zentrifuge mit Zentrifugenröhrchen

6.8 Automatischer Verdampfer (optional)³

6.9 Probengefäße aus Glas, Nennvolumen 2 ml

2 ASTM D5442 C12-C60 Qualitative Retention Time Mix ist beispielsweise erhältlich bei Supelco Cat.# 500623. Dies ist ein Beispiel eines geeigneten handelsüblichen Produkts. Diese Angabe dient lediglich zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN.

3 MicroDancer, IR-Dancer (z. B. Zinser) oder Syncore Analyst (Büchi) sind Beispiele für geeignete handelsübliche Produkte. Diese Angaben dienen nur der Information der Anwender dieses Dokuments und stellen keine Anerkennung dieser Produkte durch CEN dar.

6.10 Hochleistungs-Flüssigkeitschromatograph, gekoppelt mit einem Gaschromatographen und Flammenionisationsdetektor (HPLC-GC-FID)

6.11 Datenerfassungssystem, mit der Möglichkeit der manuellen Integration

6.12 LC-Säule, 5 µm [(250 × 2) mm Innendurchmesser (en: inner diameter, i. d.)] oder gleichwertig

Die Kieselgel-Säule muss eine Kapazität haben, um 20 mg Fett aufnehmen zu können. ⁴

6.13 Unbelegte Vorsäule, 10 m × 0,53 mm oder gleichwertig⁵

6.14 Kapillarsäule 1, geeignet für Temperaturen bis 350 °C

Die Säule sollte folgende Eigenschaften haben: 100 % Dimethylpolysiloxan oder 95 % Dimethyl-/ 5 % Phenylmethylpolysiloxan, stationäre Phase, Länge 15 m, Innendurchmesser 0,32 mm oder 0,25 mm und Filmdicke 0,10 µm bis 0,15 µm oder gleichwertig.

6.15 Kapillarsäule 2, vom Transferventil zum ersten Y-Stück, Quarzglas (en: fused silica, FS) Methyl-Silikon deaktiviert (Länge 1 m, Außendurchmesser (en: outside diameter, o.d.) 0,27 mm, Innendurchmesser (i.d.) 0,1 mm)

6.16 Kapillarsäule 3, für Trägergas Wasserstoff, FS-Methyl-Silikon (Länge 1 m, o.d. 360 µm, i.d. 25 µm)

6.17 Kapillarsäule 4, für Lösemitteldampfausgang, FS Methyl-Silikon (Länge 1 m, o.d. 0,68 mm, i.d. 0,53 mm)

Die in 6.15, 6.16 und 6.17 angegebenen Säulen haben sich für die Untersuchung als geeignet erwiesen. Diese Säulen können jedoch in Übereinstimmung mit den Eigenschaften des HPLC-GC-Geräts und den Untersuchungsbedingungen angepasst werden.

6.18 Restriktionskapillarsäule, Transferventil und Lösemitteldampfausgang, FS unbelegt (Länge 1 m, o.d. 360 µm, i.d. 50 µm)

6.19 Mikrospritze, Kapazität 5 µl bis 100 µl, geeignet zur Injektion in der Flüssigchromatographie

6.20 Pasteurpipette, Glas

Die Verwendung von Pasteurpipetten aus Kunststoff und von Polyethylenfolie sind zu vermeiden.

6.21 Messkolben, verschiedene Größen

4 LiChrospher Si 60 ist ein Beispiel eines geeigneten handelsüblichen Produkts. Diese Angabe dient lediglich zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN.

5 Hydroguard® MXT® ist ein Beispiel für ein geeignetes handelsübliches Produkt. Diese Angabe dient lediglich zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN.

7 Probenahme

Die Probe sollte tatsächlich repräsentativ sein und während des Transports oder der Lagerung nicht beschädigt oder verändert worden sein.

Um weitere Verunreinigungen zu verhindern, sollten Proben in Glasflaschen oder Aluminiumfolie verpackt sein. Verpackungen aus Kunststoff oder Papier sind ungeeignet.

Die Probenahme ist nicht Bestandteil des in diesem Dokument festgelegten Verfahrens. Ein empfohlenes Probenahmeverfahren ist in EN ISO 6497 [7] angegeben.

8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe

Die Untersuchungsprobe wird nach EN ISO 6498 vorbereitet.

Die Laborprobe (üblicherweise 50 g) wird in der Mühle (6.1) auf eine Partikelgröße von mindestens 1 mm zerkleinert, um repräsentative Daten sicherzustellen. Die Probe wird gründlich gemischt.

9 Vorbereitung der Analysenprobe

9.1 Fettgewinnung aus der Futterprobe

9.1.1 Die Gewinnung von fetthaltigem Material für Proben mit einem Fettgehalt unter 30 %

Es werden 5 g der gemahlenen Probe in einen 250-ml-Rundkolben (6.5) eingewogen, ein Magnetrührstab (6.3) wird hinzugefügt. Der Probe werden 500 µl ISTD2 (5.16) und 100 ml *n*-Hexan (5.2) hinzugefügt, und dann wird 1 h mit einem Magnetrührer (6.2) gemischt.

Von der Lösemittelphase werden 20 ml in ein 40-ml-Glasfläschchen (6.6) übertragen und mit 5 ml entmineralisiertem Wasser (5.1) gewaschen. Es wird mit einer Geschwindigkeit von $2\,500\text{ min}^{-1}$ für 2 min zentrifugiert und 10 ml des Probenextrakts werden in ein 15-ml-Glasfläschchen (6.6) übertragen und das Lösemittel wird unter einem Stickstoffstrom auf 1 ml eingeengt (Triglyceride aus der Probe wirken als Keeper), entweder unter Verwendung eines Wasserbads bei 35 °C oder eines automatischen Verdampfers (6.8).

9.1.2 Gewinnung von fetthaltigem Material für eine Probe mit einem Fettgehalt über 30 %

Es werden 2 g der gemahlenen Probe in einen 250-ml-Rundkolben (6.5) eingewogen, ein Magnetrührstab (6.3) wird hinzugefügt. Der Probe werden 250 µl ISTD2 (5.16) und 100 ml *n*-Hexan (5.2) hinzugefügt, und dann wird 1 h mit einem Magnetrührer (6.2) gemischt. Von der Lösemittelphase werden 30 ml in ein 40-ml-Glasfläschchen (6.6) übertragen und mit 5 ml entmineralisiertem Wasser (5.1) gewaschen. Es wird mit einer Geschwindigkeit von $2\,500\text{ min}^{-1}$ für 2 min zentrifugiert und 20 ml des Probenextrakts werden in ein 40-ml-Glasfläschchen (6.6) übertragen und das Lösemittel wird unter einem Stickstoffstrom auf 1 ml eingeengt (Triglyceride aus der Probe wirken als Keeper), entweder unter Verwendung eines Wasserbads bei 35 °C oder eines automatischen Verdampfers (6.8).

9.2 Verfahren für Fette und Fettextrakte

9.2.1 Verfahren für flüssige und feste Fette

300 mg Probe werden auf 1 mg in ein 10-ml-Glasfläschchen eingewogen, mit 600 µl *n*-Hexan aufgefüllt und mit 50 µl ISTD2 (5.16) versetzt. Das Fläschchen wird geschüttelt.

Die Menge der zugegebenen internen Standards darf erhöht werden, um, falls erforderlich, die Auswirkungen der Matrixstörungen zu reduzieren.

Die Menge der zugegebenen internen Standards darf verringert werden, falls niedrige Konzentrationen gemessen werden müssen.

Es werden 500 µl ethanolische CPBA-Lösung (5.18) hinzugefügt, und das Glasfläschchen wird in ein Rührwerk gegeben, um für 15 min mit einer Drehzahl von 1 800 min⁻¹ bei Raumtemperatur geschüttelt zu werden. Sofort werden 3 ml Natriumcarbonatlösung (5.25) hinzugefügt, die Mischung wird 2 min geschüttelt und dann 2 min mit einer Drehzahl von 2 500 min⁻¹ zentrifugiert.

Von der Hexanphase werden 500 µl in ein Autosampler-Fläschchen übertragen. Höchstens 50 µl werden in die HPLC injiziert.

Je nach Kontaminationsgrad darf das Injektionsvolumen zur Vermeidung von überladenen Chromatogrammen verändert werden.

9.2.2 Verfahren für gewonnene Fette

Zu dem Probenextrakt werden 500 µl ethanolische CPBA-Lösung (5.18) hinzugefügt, die im Fettgewinnungsschritt (9.1) erhalten wurden, und das Fläschchen wird in ein Rührwerk gegeben, um es für 15 min mit einer Drehzahl von 1 800 min⁻¹ bei Raumtemperatur zu schütteln. Sofort werden 3 ml Natriumcarbonatlösung (5.25) hinzugefügt, die Mischung wird 2 min geschüttelt und dann für 2 min mit einer Drehzahl von 2 500 min⁻¹ zentrifugiert.

Von der Hexanphase werden 500 µl in ein Autosampler-Fläschchen übertragen. Höchstens 50 µl werden in die HPLC injiziert.

Je nach Kontaminationsgrad darf das Injektionsvolumen zur Vermeidung von überladenen Chromatogrammen verändert werden.

9.3 Blindprobe

Eine verfahrensbezogene Blindprobe, die den Fettgewinnungsschritt umfasst (von 9.1.2), sollte analysiert werden, um die Reinheit der Reagenzien zu prüfen, aber auch, um andere mögliche Kontaminationsquellen zu ermitteln, wie z. B. die Glasgeräte und das Analysegerät.

Der Mineralölgehalt der verfahrensbezogenen Blindprobe darf den Wert von 3 mg/kg Fett nicht überschreiten, wenn man von einer Prüfmenge ausgeht, die 5 g der Probe entspricht. Wenn dieser Wert überschritten wird, muss die Verunreinigungsquelle identifiziert und eliminiert werden.

Ergebnisse dürfen nicht durch Ableitung des Blindprobengehalts korrigiert werden.

10 Flüssigchromatographie und Gaschromatographie

10.1 Einstellungen für die Flüssigchromatographie

Die Säule (6.12) wird in das Flüssigchromatographiesystem (6.10) eingebaut, und die Arbeitsbedingungen werden durch Injektion des Lösemittels überprüft. Als Eluent werden *n*-Hexan (5.2) und DCM (5.26) verwendet. Die HPLC-Säule wird nach jedem Lauf zurückgespült, um die Lipide zu entfernen. Hierfür wird die Säule 6 min nach der Injektion 9 min mit 500 µl/min DCM zurückgespült und anschließend mit 500 µl/min *n*-Hexan rekonditioniert.

10.2 Arbeitsbedingungen für die HPLC

Die folgenden Arbeitsbedingungen haben sich für die Untersuchung als geeignet erwiesen (siehe Tabelle 1). Trotzdem müssen die Bedingungen durch Verifizierungsstandards (5.16) angepasst und überprüft werden.

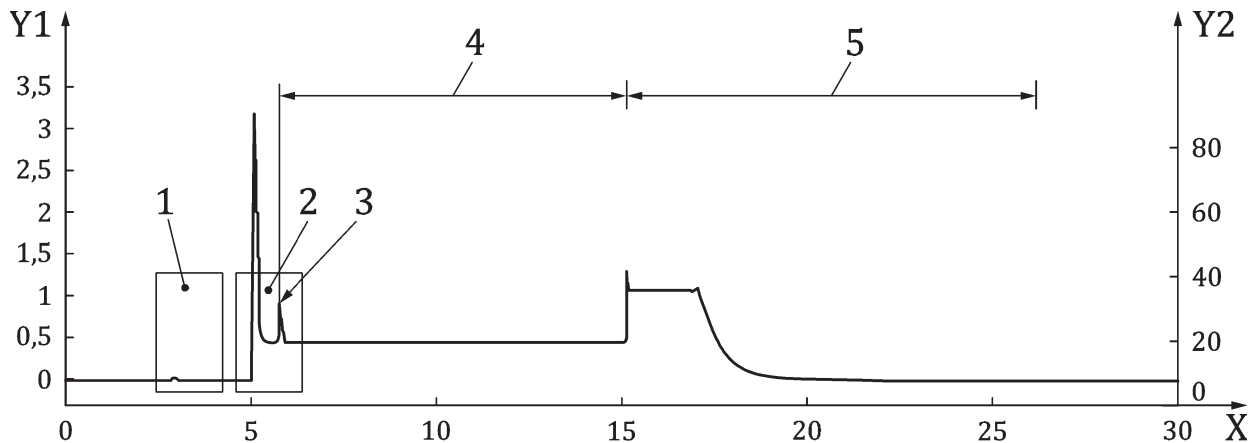
Tabelle 1 — Arbeitsbedingungen für die HPLC

Zeit min	n-Hexan (5.2) %	DCM (5.26) %	Durchfluss µl/min
Beginn	100,0	0,0	300
0,10	100,0	0,0	300
1,50	65,0	35,0	300
5,90	65,0	35,0	300
6,00	0,0	100	500
15,00	0,0	100	500
15,30	100,0	0,0	500
25,00	100,0	0,0	500
25,20	100,0	0,0	300
30,00	100,0	0,0	300

Der Gradient wird im Säulenablauf durch UV-Detektion bei 230 nm überprüft. Der Durchbruch von DCM wird nach 4,5 min als steiler Anstieg der Absorption auf ein Plateau beobachtet.

Die Elution von Perylen wird bei einer Retentionszeit von etwa 5,6 min (siehe Bild 1) nachgewiesen. Die MOSH werden bei 2 min bis 3,5 min eluiert, die Fraktion mit den MOAH reicht von 4,7 min bis 6,2 min.

Die beschriebenen Retentionszeiten können je nach System und für die Analyse verwendeten Säulen variieren.



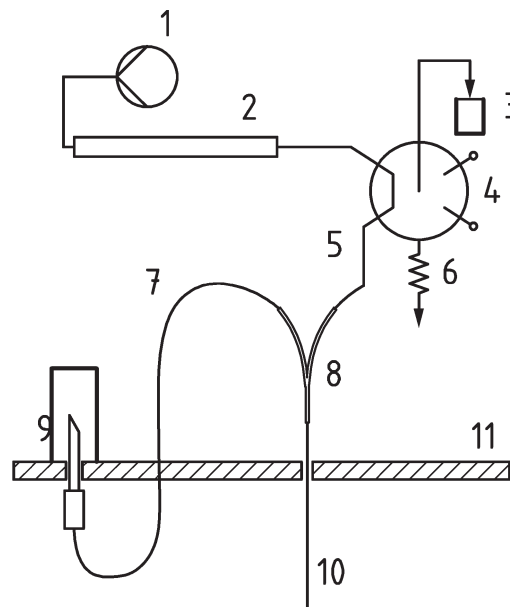
Legende

X	Zeit, in min	2	MOAH	5	Rekonditionierung
Y1, Y2	Intensität	3	Perylen		
1	MOSH	4	Rückspülung (6 min nach Injektion)		

Bild 1 — HPLC-UV-Chromatogramm

10.3 HPLC-GC-Interface

Das Trägergas und die Leitung, die aus dem Transferventil kommt, werden an ein Pressfit-Y-Stück angeschlossen. Der Einfachheit halber wird das Y-Stück über dem GC-Ofen positioniert. Das Trägergas, z. B. aus einem Injektor, wird mit einer Quarzglaskapillare in das Y-Stück eingespeist. Der Einlass der Vorsäule wird durch die obere Abdeckung des Ofens in das Schenkelteil des Y-Stücks geführt, z. B. durch einen nicht verwendeten Detektorsockel. Die Transferline wird über das Transferventil rückgespült (siehe Bild 2).



Legende

1	HPLC-Pumpe	5	Transferline	9	Rekonditionierung
2	HPLC-Säule	6	Rückspülung der Transferline	10	Einlass der Vorsäule
3	HPLC-Abfall	7	Trägergas	11	GC-Ofen
4	Transferventil	8	Y-Stück		

ANMERKUNG Das oben beschriebene HPLC-GC-Interface kann durch im Handel erhältliche Geräte ersetzt werden.

Bild 2 — Schematische Zeichnung des HPLC-GC-Interface [2]

10.4 Einstellungen für die Gaschromatographie

Die Säulen (6.14 und 6.15) werden im Gaschromatographen (6.10) angebracht und die Arbeitsbedingungen durch Injektion des Lösemittels, *n*-Hexan (5.2), überprüft. Die Basislinie sollte mit einer leichten positiven Drift gerade sein. Wenn die Drift hoch ist, wird die Konditionierung der Säule fortgesetzt. Im Fall einer negativen Drift werden die Verbindungen der Säule überprüft.

Wenn die Säule zum ersten Mal benutzt wird, ist es notwendig, die Säule zu konditionieren, indem sie 4 h im Säulenofen mit einem Temperaturgradienten auf 350 °C (je nach der für die Analyse ausgewählten Ofentemperatur) erhitzt wird und die Temperatur für 0,5 h aufrechterhalten bleibt.

10.5 Arbeitsbedingungen für die GC

Die folgenden Arbeitsbedingungen haben sich für die Analyse als geeignet erwiesen; trotzdem dürfen sie entsprechend den Eigenschaften des HPLC-GC-Gerätes und der Säule angepasst werden. Typische Chromatogramme sind in Anhang A dargestellt.

- Vorsäule: unbelegt, deaktiviert, 7 m bis 10 m × 0,53 mm;
- Säule: 100 % Dimethylpolysiloxan, niedrigblutend (15 m lang, 0,25 mm i.d., 0,1 µm bis 0,15 µm Filmdicke);
- Ofentemperatur: Anfangstemperatur 55 °C für 7 min, programmiert mit 20 °C/min bis 350 °C, 5 min halten;
- Trägergas: Wasserstoff. Für MOSH: Eingangsdruck 70 kPa, nach Verschließen des Lösemitteldampfausgangs 60 kPa. Für MOAH: Eingangsdruck 65 kPa, nach Verschließen des Lösemitteldampfausgangs 60 kPa.
- Detektortemperatur: 380 °C;
- Transfervolumen: 450 µl.

10.6 Lösemitteldampfausgang

Durch die Lösemittelverdampfung entstehen große Mengen an mit dem Trägergas verdünntem Dampf, der entfernt werden muss. Deshalb wird ein Lösemitteldampfausgang zwischen der unbelegten Vorsäule und der GC-Trennsäule verwendet.

Die Zeit zum Schließen des Dampfausgangs wird anhand des Transfers der beabsichtigten Fraktion mit einem permanent offenen Lösemitteldampfausgang bestimmt. Die aus dem Dampfausgang austretenden Gase werden entzündet, und die Dauer bis zum Erlöschen der gelben Flamme wird gemessen. Diese Zeit abzüglich 3 s wird für die Schließung des Dampfausgangs eingetragen, um den letzten Teil des Lösemittels mit den aufkonzentrierten flüchtigen Lösungen in die Trennsäule zu leiten. Die Zeit variiert abhängig von der Länge der Retention-Gap.

10.7 Peakidentifizierung

Die Identifizierung der internen Standards erfolgt durch Injektion von 50 µl einer 1/10-Verdünnung der Standardlösungen (5.16 und 5.24) (Anhang A, Bild A.1 und Bild A.2). Die Trennung von *n*-Undecan (*n*-C11) vom Lösemittelpeak in der Standardlösung (5.16) wird überprüft. Die Retentionszeit von Pentacontan (C50) wird verwendet, um das Integrationsende des Mineralölpeaks festzulegen (Anhang A, Bild A.6).

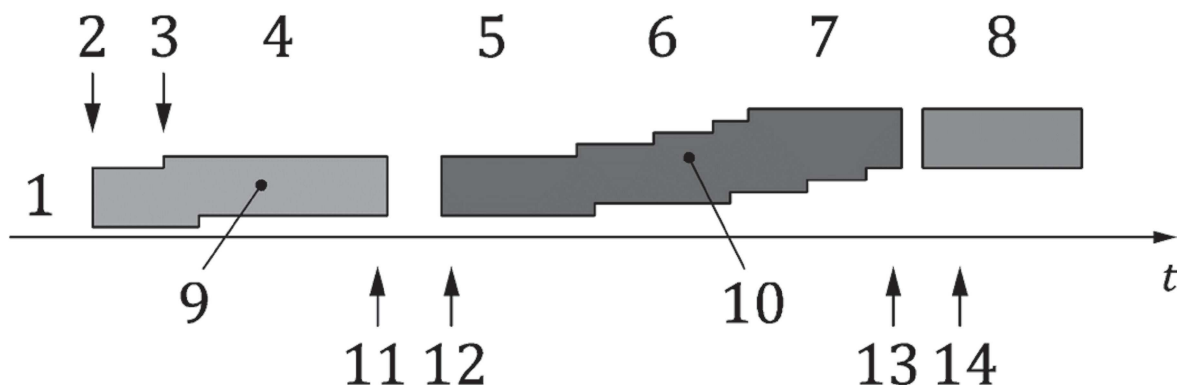
Um die für jedes System geeignetsten Konzentrationen zu verwenden, können die Standardlösungen (5.16 und 5.24) entsprechend verdünnt werden. Die absoluten Injektionsmengen der Standardsubstanzen liegen jeweils im Bereich von 25 ng bis 60 ng.

Falls notwendig, werden 50 µl Alkan-Standardmischung C10 bis C40 (5.22) injiziert, um die Bereiche zu identifizieren, die für die Berechnung der Massenkonzentrationen der C10- bis C50-Fractionen der Mineralöl-Kohlenwasserstoffe (MOSH und MOAH) (Anhang A, Bild A.3) herangezogen werden.

In Sonnenblumenölen entsprechen die Hauptpeaks gesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen C27, C29 und C31. Ein breiter Peak (von etwa 5 min bis 15 min Breite, je nach GC-Bedingungen) stellt ein komplexes Gemisch von Kohlenwasserstoffen (UCM) dar, das das chromatographische System nicht auflösen kann, und es wird auf Mineralöl-Kohlenwasserstoffe (Anhang A, Bild A.4 bis Bild A.9) zurückgeführt.

10.8 Leistungsfähigkeit des HPLC-GC-Systems

Ein aliquoter Anteil der verdünnten Standardlösung 2 (5.16), der eine absolute Menge an Standardsubstanzen im Bereich von jeweils 10 ng bis 50 ng enthält (z. B. 20 µl einer 1/150-Verdünnung oder 50 µl einer 1/500-Verdünnung), wird injiziert. Als interner Standard für die MOSH-Fraktion wird Bicyclohexyl (CyCy) (5.10), als interner Standard für die MOAH-Fraktion wird 1-Methylnaphthalin (1-MN) verwendet. Alle internen Standardsubstanzen dienen als Markersubstanzen. Die Trennung von MOSH/MOAH wird durch diese Verifizierungsstandards überprüft. Nach einer erfolgreichen Trennung der Fraktionen müssen CyCy, *n*-C11, *n*-C13 und Cho in der MOSH-Fraktion nachgewiesen werden, während 5-PB, 1-MN, 2-MN, TBB und Per in der MOAH-Fraktion eluieren (siehe Bild 3). Befindet sich ein Marker in der falschen Fraktion, muss überprüft werden, ob die HPLC-Säule richtig funktioniert. Falls erforderlich, wird die HPLC-Säule ausgetauscht.



Legende

1 Injektion	6 hoch alkylierte polycyclische Aromaten	11 Cholestan
2 Paraffine mit hoher Masse	7 wenig alkylierte polycyclische Aromaten	12 Tri-tert-butylbenzol
3 Paraffine mit geringer Masse	8 gesättigte Wachsester	13 Perylen
4 Naphthene	9 MOSH	14 Wachsester
5 alkylierte Benzole	10 MOAH	t Retentionszeit

Bild 3 — Elutionsreihenfolge der MOSH- und MOAH-Verbindungen (oberer Teil) und die verwendeten Verifizierungsstandards für die Einrichtung und Überprüfung des Fraktionsfensters (unterer Teil) [2]

Das GC-System gilt als optimiert, wenn das Verhältnis zwischen C40 zu C20 gleich oder höher als 80 % ist.

10.9 Quantitative Bestimmung der aus Mineralöl stammenden Kohlenwasserstoffe

Die Fläche aller Kohlenwasserstoffe (A_1) wird bestimmt, indem das gesamte Signal, das aus der UCM und den aufsitzenden Peaks oberhalb der UCM (Anhang A, Bild A.6 und Bild A.8) besteht, manuell integriert wird, von dem Punkt, an dem die Basislinie zu steigen beginnt, bis zur Retentionszeit von Pentacontan (C50).

Alle aufsitzenden Peaks über der UCM werden abgezogen. Um die Fläche (A_2), die abgezogen wird, zu bestimmen, wird das Chromatogramm erneut integriert, indem die Basislinie von Talpunkt zu Talpunkt für alle aufsitzenden Peaks einschließlich der kleinen über das UCM-Profil manuell gezogen wird (Anhang A, Bild A.7 und Bild A.9).

Die sich daraus ergebende Fläche für die quantitative Bestimmung ist A_i ($A_i = A_1 - A_2$).

Wenn der Peak von Bicyclohexyl (CyCy) oder 1-Methylnaphthalin (1-MN) auf der UCM liegt, wird die Fläche des Standards durch Integration der Fläche des internen Standards von Talpunkt zu Talpunkt bestimmt.

Der Massenanteil w_{hc} des MOSH- und MOAH-Gehaltes, in mg/kg, wird jeweils mit Gleichung (1) berechnet:

$$w_{hc} = \frac{A_i \times m_{is} \times 1\,000}{A_{is} \times m} \quad (1)$$

Dabei ist:

- w_{hc} der Massenanteil des MOSH- bzw. des MOAH-Gehalts, in mg/kg;
- A_i die Peakfläche der UCM nach Abzug aller aufsitzenden Peaks über der UCM ($A_1 - A_2$);
- A_{is} die Peakfläche des internen Standardpeaks;
- m_{is} die Masse der internen Standardlösung, die zur Probe hinzugegeben wird (5.16), in mg;
- m die Masse der Prüfmenge, in g.

Wenn Störungen durch natürliche Quellen vermutet werden, kann die fossile Herkunft der MOSH- und MOAH-Fraktion durch Untersuchung des chromatographischen Profils mit GC-MS verifiziert werden.

Die Bestimmungsgrenze (en: limit of quantification, LOQ) des UCM-Peaks ist variabel, da sie von der Breite und Höhe des Peaks abhängt, welcher analytenabhängig ist.

Um die Konzentration der UCM zu berechnen, die von C10 bis C35 eluiert, ist es notwendig, das Chromatogramm der Probe und das Chromatogramm des Alkan-Standardgemisches C10 bis C40 übereinanderzulegen und den Teil der UCM zu integrieren, der im Bereich von C10 bis C35 enthalten ist.

11 Präzision

11.1 Ringversuch

Einzelheiten über einen Ringversuch zur Präzision des Verfahrens sind in Anhang B zusammengefasst. Die aus diesem Ringversuch abgeleiteten Werte sind möglicherweise nicht auf andere Konzentrationsbereiche und andere Matrices anwendbar als die angegebenen.

11.2 Wiederholpräzision

Die absolute Differenz zwischen zwei einzelnen Ergebnissen, die ein einzelner Bearbeiter an identischem Untersuchungsmaterial mit denselben Geräten innerhalb der kürzesten möglichen Zeitspanne erhält, wird die Wiederholgrenze r , die in Tabelle B.2 und Tabelle B.3 angegeben ist, in nicht mehr als 5 % der Fälle überschreiten.

11.3 Vergleichpräzision

Die absolute Differenz zwischen zwei einzelnen Ergebnissen, die von zwei Laboratorien für identisches Untersuchungsmaterial erhalten werden, wird die Vergleichgrenze R , die in Tabelle B.2 und Tabelle B.3 angegeben ist, in nicht mehr als 5 % der Fälle überschreiten.

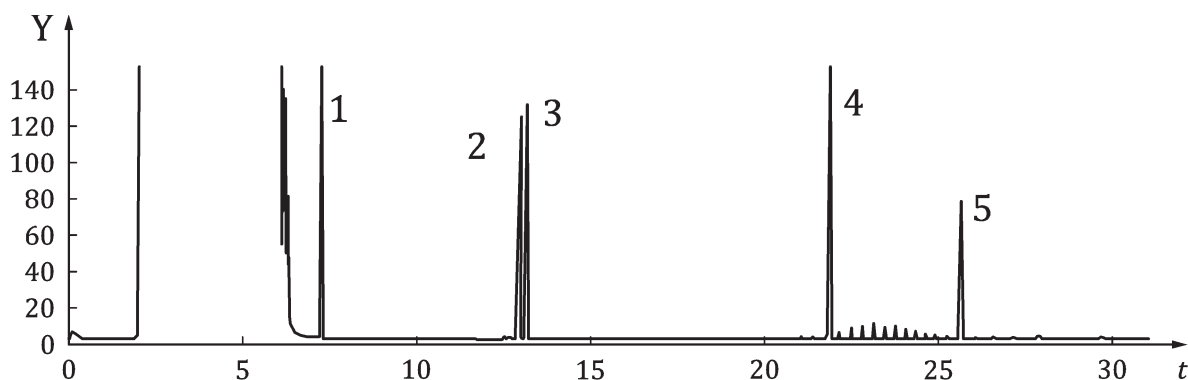
12 Prüfbericht

Der Prüfbericht muss angeben:

- a) alle erforderlichen Informationen zur vollständigen Identifizierung der Probe;
- b) das angewendete Probenahmeverfahren, sofern bekannt;
- c) das angewendete Prüfverfahren mit Verweisung auf dieses Dokument;
- d) das Datum des Probeneingangs;
- e) das Datum der Untersuchung;
- f) die Masse(n) der Prüfmenge(n);
- g) den Bereich der untersuchten Kohlenwasserstoff-Kettenlänge;
- h) alle in diesem Dokument nicht festgelegten oder als optional angesehenen Betriebsdaten, einschließlich Einzelheiten zu allen Vorkommnissen, die das (die) Untersuchungsergebnis(se) beeinflusst haben könnten;
- i) das/die Prüfergebnis(se) und Einheiten, in denen es/sie angegeben wird/werden, oder, wenn die Wiederholpräzision geprüft wurde, das zuletzt angegebene ermittelte Ergebnis.

Anhang A (informativ)

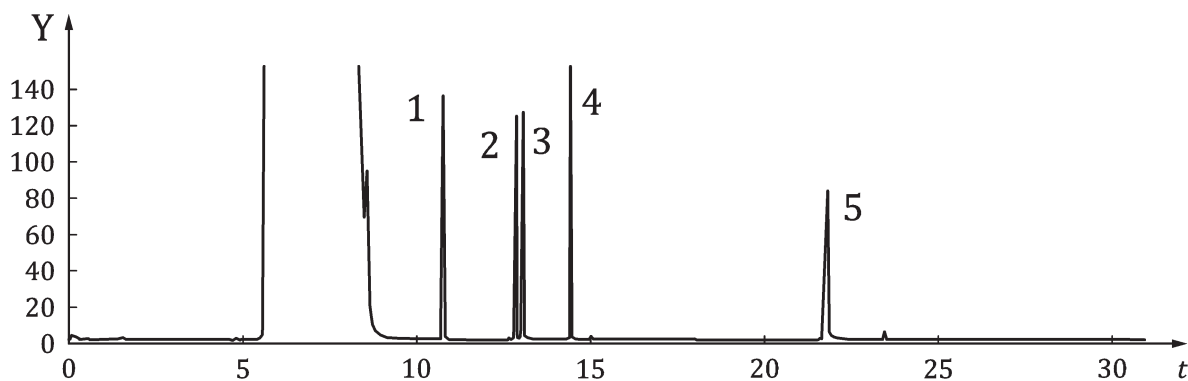
Beispiele für Chromatogramme



Legende

- | | | | |
|---|---|----------|--|
| 1 | <i>n</i> -Decan (<i>n</i> -C10) oder <i>n</i> -Undecan (<i>n</i> -C11): Nachweis von Verlusten an flüchtigen Komponenten: Transfer oder Rekonzentrierung der Probenextrakte | 5 | <i>n</i> -Tetracontan (<i>n</i> -C40) |
| 2 | Bicyclohexyl (CyCy): Standard für die quantitative Bestimmung, nicht vorhanden in Mineralölprodukten | <i>t</i> | Zeit, in min |
| 3 | <i>n</i> -Tridecan (<i>n</i> -C13): belegt keine Koelution mit Bicyclohexyl | <i>Y</i> | Intensität |
| 4 | Cholestan (Cho): Ende der MOSH-Fraktion | | |

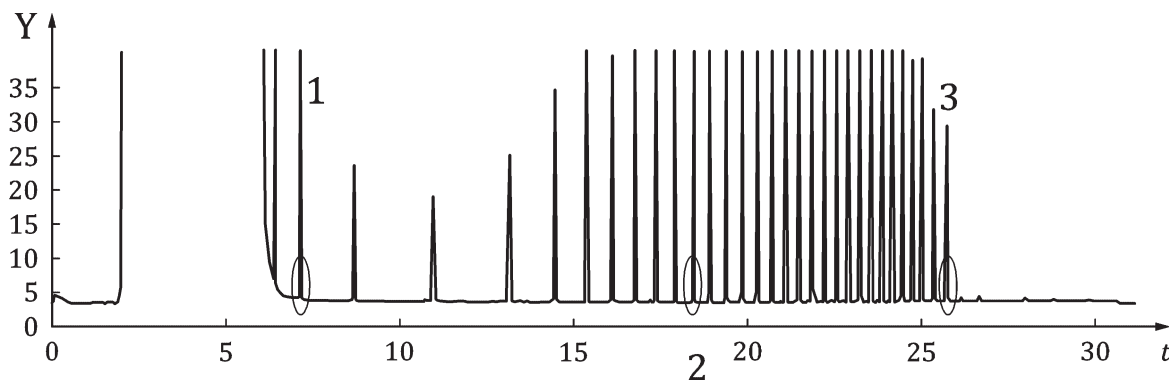
Bild A.1 — GC-Chromatogramm des gesättigten Kohlenwasserstoffstandards: MOSH



Legende

- | | |
|----------|---|
| 1 | Pentylbenzol (5-PB): Nachweis von Verlusten an flüchtigen Komponenten |
| 2 | 1-Methylnaphthalin (1-MN): Standard für die quantitative Bestimmung |
| 3 | 2-Methylnaphthalin (2-MN): Peakpaar zur einfachen Identifizierung |
| 4 | Tri-tert-butylbenzol (TBB): Start der MOAH-Fraktion |
| 5 | Perylen (Per): Ende der MOAH-Fraktion, Festlegung auch durch HPLC-UV |
| <i>t</i> | Zeit, in min |
| <i>Y</i> | Intensität |

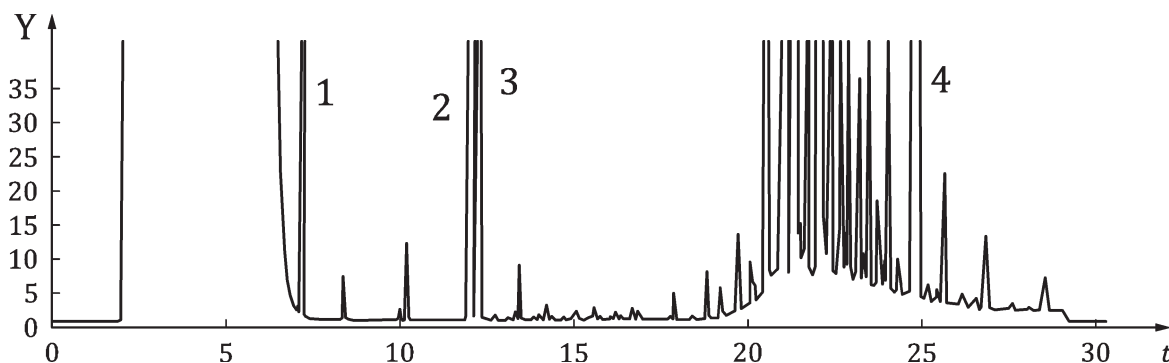
Bild A.2 — GC-Chromatogramm des aromatischen Kohlenwasserstoffstandards: MOAH



Legende

- | | | | |
|---|--|----------|--------------|
| 1 | <i>n</i> -Decan (<i>n</i> -C10) | <i>t</i> | Zeit, in min |
| 2 | <i>n</i> -Eicosan (<i>n</i> -C20) | <i>Y</i> | Intensität |
| 3 | <i>n</i> -Tetracontan (<i>n</i> -C40) | | |

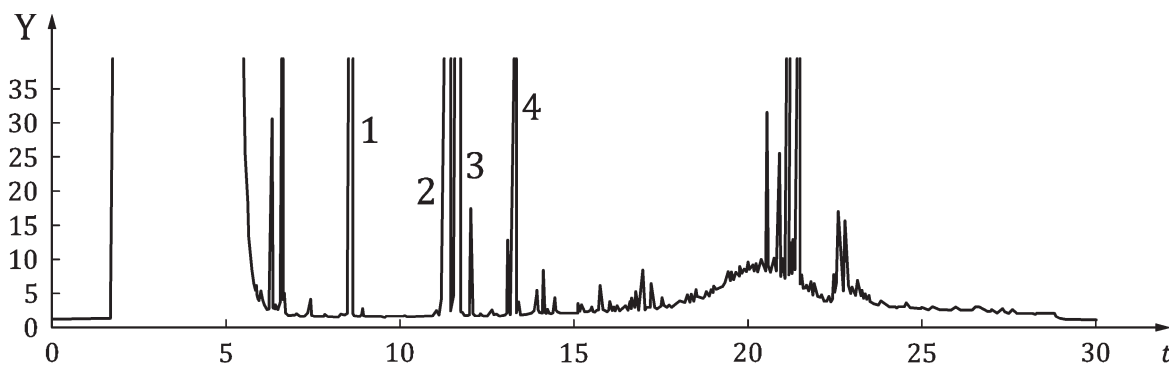
Bild A.3 — GC-Chromatogramm einer Alkan-Standardmischung C10 bis C40



Legende

- | | | | |
|---|-------------------------------------|----------|--|
| 1 | <i>n</i> -Decan (<i>n</i> -C10) | 4 | <i>n</i> -Tetracontan (<i>n</i> -C40) |
| 2 | Bicyclohexyl (CyCy) | <i>t</i> | Zeit, in min |
| 3 | <i>n</i> -Tridecan (<i>n</i> -C13) | <i>Y</i> | Intensität |

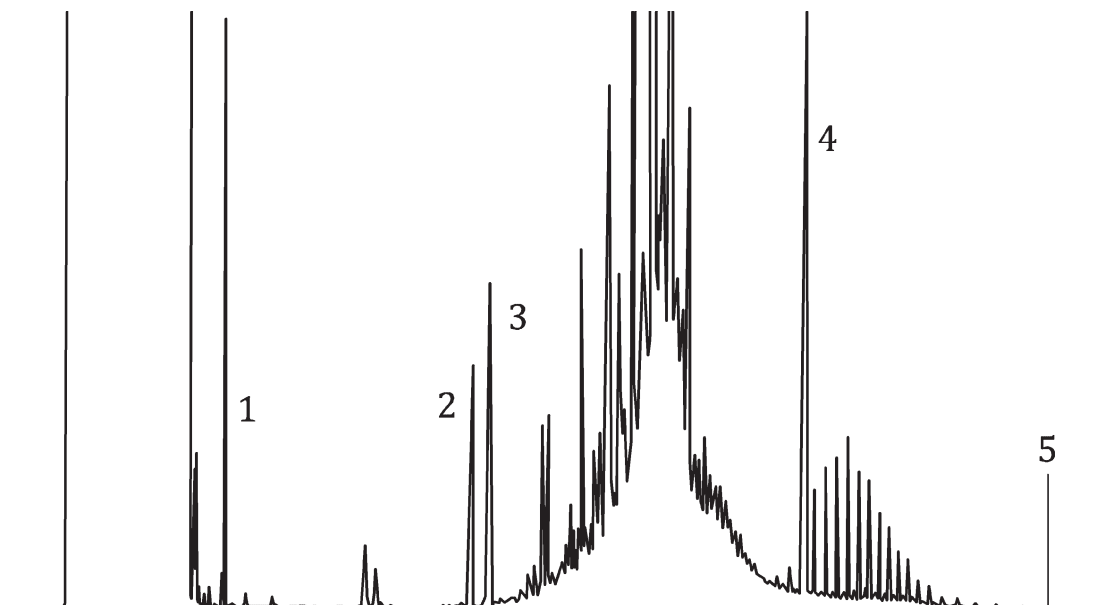
Bild A.4 — GC-Chromatogramm der gesättigten Kohlenwasserstofffraktion eines Sonnenblumenrohöls



Legende

- | | | | |
|---|---------------------------|----------|----------------------------|
| 1 | Pentylbenzol (5-PB) | 4 | Tri-tert-butylbenzol (TBB) |
| 2 | 1-Methylnaphthalin (1-MN) | <i>t</i> | Zeit, in min |
| 3 | 2-Methylnaphthalin (2-MN) | <i>Y</i> | Intensität |

Bild A.5 — GC-Chromatogramm der aromatischen Kohlenwasserstofffraktion eines Sonnenblumenrohöls

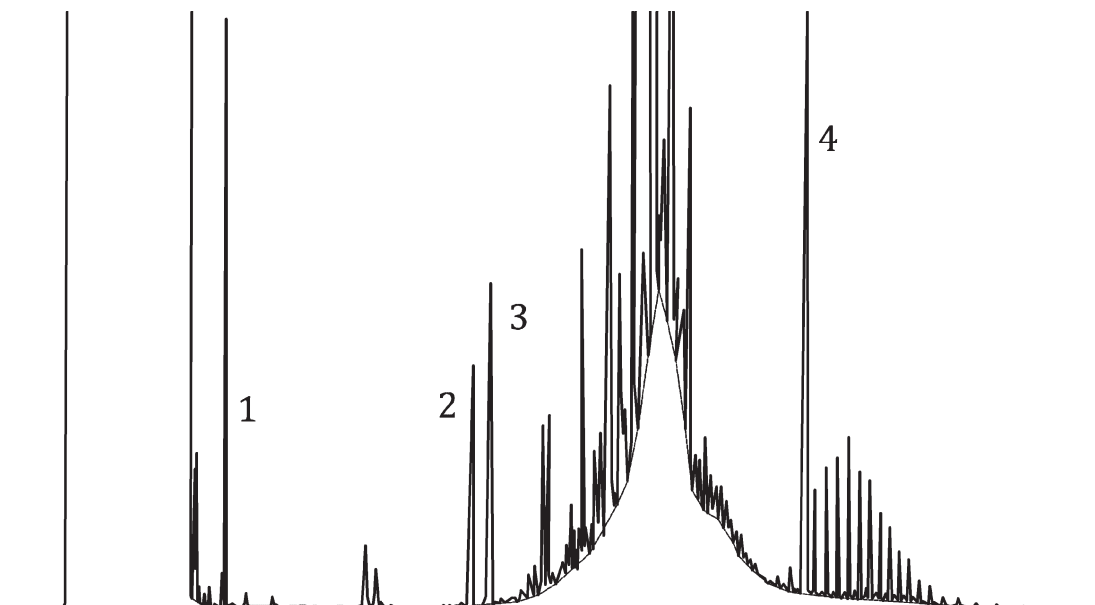


Legende

- | | | | |
|---|-------------------------------------|----------|---|
| 1 | <i>n</i> -Decan (<i>n</i> -C10) | 5 | Retentionszeit von <i>n</i> -Pentacontan (<i>n</i> -C50) |
| 2 | Bicyclohexyl (CyCy) | <i>t</i> | Zeit, in min |
| 3 | <i>n</i> -Tridecan (<i>n</i> -C13) | Y | Intensität |
| 4 | Cholestan (Cho) | | |

Zur Berechnung des gesamten Kohlenwasserstoffgehalts wird die Basislinie von C10 bis C50 gezogen.

Bild A.6 — GC-Chromatogramm der gesättigten Kohlenwasserstofffraktion eines Sojarohöls

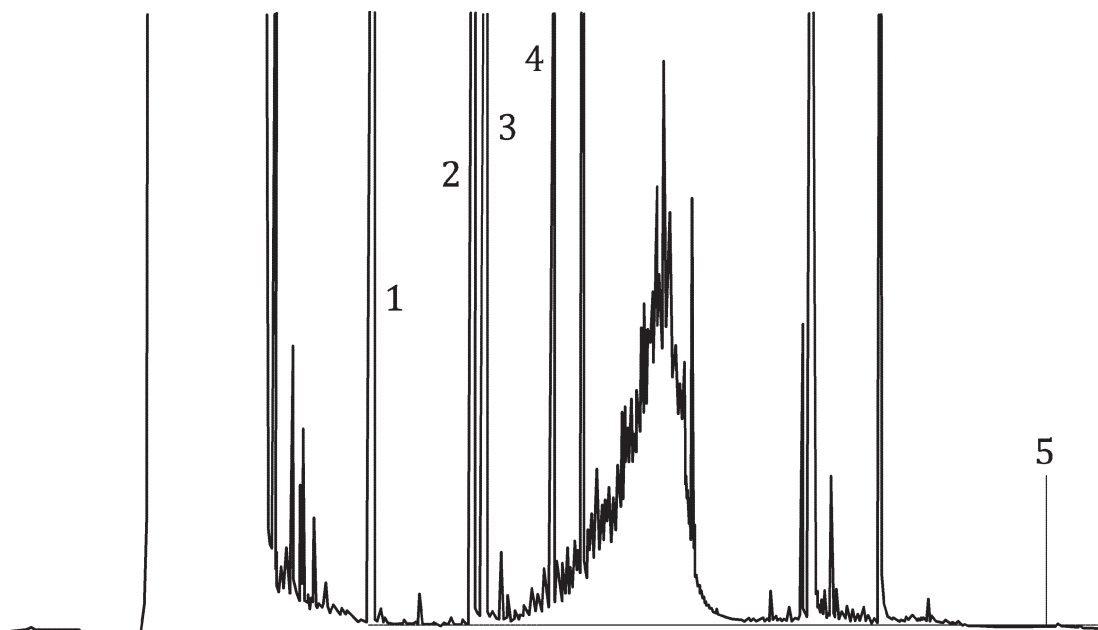


Legende

1	<i>n</i> -Decan (<i>n</i> -C10)	4	Cholestan (Cho)
2	Bicyclohexyl (CyCy)	<i>t</i>	Zeit, in min
3	<i>n</i> -Tridecan (<i>n</i> -C13)	<i>Y</i>	Intensität

Für die erneute Integration des Chromatogramms wird von Talpunkt zu Talpunkt eine Basislinie für alle aufsitzenden Peaks einschließlich der kleinen über das UCM-Profil gezogen.

Bild A.7 — GC-Chromatogramm der gesättigten Kohlenwasserstofffraktion eines Sojarohöls



Legende

- | | | | |
|---|----------------------------|----------|---|
| 1 | Pentylbenzol (5-PB) | 5 | Retentionszeit von <i>n</i> -Pentacontan (<i>n</i> -C50) |
| 2 | 1-Methylnaphthalin (1-MN) | <i>t</i> | Zeit, in min |
| 3 | 2-Methylnaphthalin (2-MN) | | |
| 4 | Tri-tert-butylbenzol (TBB) | | |

Zur Berechnung des gesamten Kohlenwasserstoffgehalts wird die Basislinie von C10 bis C50 gezogen.

Bild A.8 — GC-Chromatogramm der aromatischen Kohlenwasserstofffraktion eines Sojarohöls