

DIN EN ISO 7012-3



ICS 87.040

Einsprüche bis 2024-05-15

Entwurf

**Beschichtungsstoffe –
Bestimmung von Konservierungsmitteln in wasserverdünnbaren
Beschichtungsstoffen –
Teil 3: Bestimmung von Isothiazolinonen im Gebinde mit LC-UV und
LC-MS-MS (ISO/DIS 7012-3:2024);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 7012-3:2024**

Paints and varnishes –

Determination of preservatives in water-dilutable coating materials –

Part 3: Determination of in-can isothiazolinones with LC-UV and LC-MS
(ISO/DIS 7012-3:2024);

German and English version prEN ISO 7012-3:2024

Peintures et vernis –

Détermination des agents de conservation dans les matériaux de revêtement diluables à
l'eau –

Partie 3: Détermination des isothiazolinones en boîte par LC-UV et LC-MS-MS
(ISO/DIS 7012-3:2024);

Version allemande et anglaise prEN ISO 7012-3:2024

Anwendungswarnvermerk

Dieser Entwurf mit Erscheinungsdatum 2024-03-15 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil das beabsichtigte Dokument 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 nab@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 Beschichtungsstoffe und Beschichtungen (NAB), 10772 Berlin oder Am DIN-Platz, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

Es wird gebeten, mit den Kommentaren zu diesem Entwurf jegliche relevanten Patentrechte, die bekannt sind, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

DIN-Normenausschuss Beschichtungsstoffe und Beschichtungen (NAB) Gesamtumfang 56 Seiten

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 7012-3:2024) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 35 „Paints and varnishes“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 139 „Lacke und Anstrichstoffe“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 002-00-15 AA „Bautenbeschichtungen“ im DIN-Normenausschuss Beschichtungsstoffe und Beschichtungen (NAB).

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.

Dieses Dokument enthält neben den gesetzlichen Einheiten auch die Einheit psi, die in Deutschland nicht zugelassen ist. Es wird ausdrücklich darauf hingewiesen, dass die Anwendung dieser Einheit im nationalen amtlichen und geschäftlichen Verkehr auf Grund des Gesetzes über Einheiten im Messwesen und die Zeitbestimmung (EinhZeitG) nicht zulässig ist. Die Angabe dieser Einheit dient lediglich als Hilfe im amtlichen und geschäftlichen Verkehr (z. B. bei Einfuhr und Ausfuhr) mit solchen Staaten, die diese Einheit anwenden.

Umrechnung:

Nicht zugelassene Einheit	Zugelassene Einheit	Umrechnung
psi	Pa	1 psi = 6 894,757 Pa

Für die in diesem Dokument zitierten Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 1513	siehe	DIN EN ISO 1513
ISO 3696	siehe	DIN ISO 3696
ISO 4618	siehe	DIN EN ISO 4618
ISO 5725-2	siehe	DIN EN ISO 5725-2
ISO 15528	siehe	DIN EN ISO 15528

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 EN ISO 1513, *Beschichtungsstoffe — Prüfung und Vorbereitung von Proben*

DIN EN ISO 4618, *Beschichtungsstoffe — Begriffe*

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

DIN EN ISO 15528, *Beschichtungsstoffe und Rohstoffe für Beschichtungsstoffe — Probenahme*

DIN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen*

– Leerseite –

März 2024

prEN ISO 7012-3

Beschichtungsstoffe – Bestimmung von Konservierungsmitteln in wasserverdünnbaren Beschichtungsstoffen – Teil 3: Bestimmung von Isothiazolinonen im Gebinde mit LC-UV und LC-MS-MS (ISO/DIS 7012-3:2024)

Paints and varnishes – Determination of preservatives in water-dilutable coating materials – Part 3: Determination of in-can isothiazolinones with LC-UV and LC-MS (ISO/DIS 7012-3:2024)

Peintures et vernis – Détermination des agents de conservation dans les matériaux de revêtement diluables à l'eau – Partie 3: Détermination des isothiazolinones en boîte par LC-UV et LC-MS-MS (ISO/DIS 7012-3:2024)

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Vorwort	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Kurzbeschreibung	7
5 Gerät	7
5.1 Ausrüstung zur Extraktion und Probenvorbereitung	7
5.2 LC-UV/VIS-System	8
5.3 LC-MS/MS- oder LC-MS-System	8
6 Reagenzien und Werkstoffe	8
7 Probenahme	10
8 Durchführung	10
8.1 LC-UV/VIS-Verfahren	10
8.1.1 Extraktion beim LC-UV/VIS-Verfahren	10
8.1.2 Betriebsbedingungen beim LC-UV/VIS-Verfahren	11
8.1.3 Blindprobe	11
8.1.4 Störungen beim LC-UV/VIS-Verfahren	11
8.1.5 Kalibrierung beim LC-UV/VIS-Verfahren	11
8.1.6 Bestimmung durch das LC-UV/VIS-Verfahren	12
8.2 LC-MS-Verfahren	12
8.2.1 Extraktion beim LC-MS-Verfahren	12
8.2.2 Weitere Verdünnung	12
8.2.3 Filtration	13
8.2.4 Betriebsbedingungen beim LC-MS-Verfahren	13
8.2.5 Blindprobe	13
8.2.6 Störungen beim LC-MS-Verfahren	13
8.2.7 Kalibrierung beim LC-MS-Verfahren	13
8.2.8 Bestimmung durch das LC-MS-Verfahren	14
9 Berechnung	14
10 Präzision	15
10.1 Allgemeines	15
10.2 Wiederholgrenze r	15
10.3 Vergleichsgrenze R	15
11 Prüfbericht	16
Anhang A (informativ) Beispiel für LC-Bedingungen	17
A.1 Messgerätekenngößen	17
A.2 Nachweisgrenzen des Messgerätes beim LC-UV-Verfahren	18
A.3 Beispiele für typische LC-Chromatogramme	18
Anhang B (informativ) Beispiel für die Mehrfachreaktionsüberwachung (MRM, en: Multiple Reaction Monitoring) unter LC-MS/MS-Bedingungen	20
B.1 Messgerätekenngößen	20
B.2 Typische MRM-Bedingungen und Nachweisgrenzen des Messgerätes	21
B.3 Beispiele für typische LC-MS/MS-Chromatogramme	21
Anhang C (informativ) Berechnung des Konservierungsmittelgehaltes mit Standardaddition für das LC-MS-Verfahren	23
C.1 Analyse des Gehaltes	23
Anhang D (informativ) Mechanisches Verfahren für die Homogenisierung und Extraktion	26
D.1 Technische Ausrüstung	26
D.2 Durchführung	26

D.2.1	Homogenisierung und Extraktion mithilfe eines Rührers und eines Ultraschallwasserbades	26
D.2.2	Homogenisierung und Extraktion mithilfe eines Rührers	26
Anhang E (informativ)	Ergebnisse des Ringversuches	27
Literaturhinweise		28

Bilder

Bild A.1	Mehrkomponenten-Standardlösung bei 275 nm	18
Bild A.2	Mehrkomponenten-Standardlösung bei 318 nm	19
Bild B.1	Beispiel eines typischen LC-MS/MS-Chromatogramms	22
Bild D.1	Schematische Darstellung der internen Kalibrierung mit dem Standardadditionsverfahren	24

Tabellen

Tabelle B.1	Typische MRM-Bedingungen und Nachweisgrenzen	21
Tabelle D.1	Pipettierschema für den Ansatz der Standardaddition	23
Tabelle E.1	Ergebnisse der Ringversuche — LC-UV-Verfahren	27
Tabelle E.2	Ergebnisse der Ringversuche — LC-MS- und LC-MS/MS-Verfahren	27

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 7012-3:2024) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 35 „Paints and Varnishes“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 139 „Lacke und Anstrichstoffe“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 7012-3:2024 wurde von CEN als prEN ISO 7012-3:2024 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Directives, Teil 1 beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Directives, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 35, *Paints and varnishes*, Unterkomitee SC 16, *Chemical analysis* erarbeitet.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt die Geräte und analytischen Verfahren zur Bestimmung des Gehaltes an dem Topfkonservierungsmittel Isothiazolinon in wasserverdünnbaren Beschichtungsstoffen oder verwandten Produkten fest.

ANMERKUNG 1 Das Dokument ist auch für Polymerdispersionen anwendbar.

ANMERKUNG 2 Das Dokument kann im Allgemeinen auch für OIT und DCOIT angewendet werden. Die Norm wurde jedoch im Ringversuch nicht für diese Verbindungen validiert. Diese Verbindungen werden in nationalen Normen behandelt.

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).

ISO 1513, *Paints and varnishes — Examination and preparation of test samples*

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

ISO 4618, *Paints and varnishes — Vocabulary*

ISO 15528, *Paints, varnishes and raw materials for paints and varnishes — Sampling*

ISO 7012-1, *Paints and varnishes — Determination of preservatives in water-dilutable coating materials — Part 1: Determination of in-can free formaldehyde*

ISO 7012-2, *Paints and varnishes — Determination of preservatives in water-dilutable coating materials — Part 2: Determination of in-can total formaldehyde*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Begriffe 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 <https://www.electropedia.org/>

3.1 gebrauchsfertiger Zustand

Zustand, in dem ein Produkt entsprechend den Anweisungen des Herstellers im richtigen Verhältnis gemischt und im richtigen Verhältnis mit den richtigen Verdünnungsmitteln verdünnt ist, so dass es zum Beschichten nach dem festgelegten Verfahren geeignet ist

[QUELLE: ISO 11890-2:2020, 3.7]

3.2

wasserverdünnbarer Beschichtungsstoff

ABGELEHNT: Wasserlack

Beschichtungsstoff, dem Wasser zugegeben werden kann, um die Viskosität zu reduzieren

[QUELLE: ISO 4618:2023, 3.272]

3.3

Nachweisgrenze eines Messgerätes

Dreifache der Standardabweichung des Ergebnisses der Blindprüfung mit einem bestimmten Messgerät

[QUELLE: ISO 8124-5: 2015, 3.5]

3.4

Topfkonservierungsmittel

Lagerkonservierungsmittel

Biozid, das während der Lagerung das Wachsen von Mikroorganismen in einer Vorratslösung eines Beschichtungsstoffes oder eines wasserverdünnbaren Beschichtungsstoffes verhindert

[QUELLE: ISO 4618:2023, 3.141]

4 Kurzbeschreibung

Die Probe wird mit einem geeigneten Verdünnungslösemittel und mithilfe einer entsprechenden Homogenisierung, z. B. in einem Ultraschallwasserbad, extrahiert. Der Extrakt wird durch Zentrifugieren gereinigt, anschließend werden die Isothiazolinone durch Flüssigchromatographie (LC) in Kombination mit einem UV/VIS-Nachweis oder verschiedenen Massenspektrometrie-Detektoren identifiziert und quantifiziert. Dazu gehören die Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) und die Flüssigchromatographie-Single-Quad-Massenspektrometrie (LC-MS).

Für die Zwecke dieses Dokumentes wird mit LC auch die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) oder die Ultrahochleistungsflüssigkeitschromatographie (z. B. UPLC oder UHPLC) bezeichnet.

Die chemische Ionisation bei Atmosphärendruck (APCI) und die Elektrospray-Ionisation (ESI) haben sich als geeignet erwiesen. Andere Ionisationstechniken und Massenanalysatoren mit ausreichender Leistung können ebenfalls eingesetzt werden.

ANMERKUNG Es wird erwartet, dass die Differenz der Ergebnisse kleiner ist als die Vergleichsgrenzen der Verfahren für eine Standardprobe einer wasserverdünnbaren Beschichtung. Im Ringversuch nach Anhang E ergaben die Bestimmungen durch das LC-UV-Verfahren und das LC-MS- bzw. LC-MS/MS-Verfahren vergleichbare Ergebnisse innerhalb der Vergleichsgrenzen der Verfahren, wodurch die obige Aussage bestätigt wird.

5 Gerät

5.1 Ausrüstung zur Extraktion und Probenvorbereitung

5.1.1 Hochgeschwindigkeitszentrifuge, mit einer Beschleunigung auf eine geeignete Drehzahl (üblicherweise $50\,000 \times g$).

5.1.2 Ultraschallwasserbad, mit einer Frequenz von 35 kHz bis 45 kHz.

5.1.3 Analysenwaage, mit einer Fehlergrenze von 0,1 mg.

5.1.4 Messkolben (mit einer Messmarke), Nennvolumen 10 ml, 25 ml, 50 ml und 100 ml.

5.1.5 Pipetten, geeignete Pipetten für ein festes Volumen, Messpipetten und Pasteurpipetten.

5.1.6 Zentrifugenröhrchen, mit geeigneten Schnapp- oder Schraubkappen.

5.1.7 Autosampler-Glasfläschchen, mit geeigneten vorgeschlitzten Schnapp- oder Schraubkappen, 2 ml.

5.1.8 Spritzen, Mindestvolumen 2 ml.

5.1.9 Filtermembran, Porengröße etwa 0,22 µm.

5.2 LC-UV/VIS-System

5.2.1 LC-System, ausgestattet mit einem Probeninjektionssystem, einem Lösemittelpumpsystem, das Lösemittel mischen kann, einem Probenfach, das die erforderliche Temperatur aufrechterhalten kann, und einem Säulenfach mit Temperaturregelung, einem Entgasungssystem und Datenverarbeitungssoftware. Es muss ein LC-System verwendet werden, welches in der Lage ist, die in diesem Dokument geforderte Leistung bezüglich der Durchflüsse, der Drücke, der Temperaturregelung und des Probenvolumens zu erbringen und die sonstigen Anforderungen zu erfüllen.

5.2.2 Analytische Säule, für die Entwicklung dieses Prüfverfahrens wurden Umkehrphasen-C18-Partikelsäulen eingesetzt. Jede Säule, die eine ausreichende Auflösung erreicht, darf verwendet werden. Die Retentionszeiten und die Reihenfolge der Elution ändern sich möglicherweise abhängig von der eingesetzten Säule und müssen überwacht werden.

5.2.3 UV/VIS-Detektor, ein UV/VIS-Detektor oder optional ein Diodenarray-Detektor (DAD).

5.3 LC-MS/MS- oder LC-MS-System

5.3.1 LC-System, ausgestattet mit einem Probeninjektionssystem, einem Lösemittelpumpsystem, das Lösemittel mischen kann, einem Probenfach, das die erforderliche Temperatur aufrechterhalten kann, und einem Säulenfach mit Temperaturregelung, einem Entgasungssystem und Datenverarbeitungssoftware. Es muss ein LC-System verwendet werden, welches in der Lage ist, die in diesem Dokument geforderte Leistung bezüglich der Durchflüsse, der Drücke, der Temperaturregelung und des Probenvolumens zu erbringen und die sonstigen Anforderungen zu erfüllen.

5.3.2 Analytische Säule, für die Entwicklung dieses Prüfverfahrens wurden Umkehrphasen-C18-Partikelsäulen eingesetzt. Jede Säule, die eine ausreichende Auflösung erreicht, darf verwendet werden. Die Retentionszeiten und die Reihenfolge der Elution ändern sich möglicherweise abhängig von der eingesetzten Säule und müssen überwacht werden.

5.3.3 MS/MS- oder MS-System, mit Ausrüstung für die APCI oder die ESI. Andere Ionisationstechniken und Massenanalysatoren mit ausreichender Leistung können ebenfalls eingesetzt werden.

6 Reagenzien und Werkstoffe

Während der Analyse werden, sofern nicht anders festgelegt, nur Reagenzien von anerkannter Analysenreinheit und Wasser des Reinheitsgrades 1 nach ISO 3696 verwendet. Die Lösemittel müssen von geeigneter Qualität für das LC-UV/VIS- und das LC-MS-Verfahren sein, d. h. LC-MS-Qualität für die LC-MS-Analyse.

6.1 Referenzsubstanzen: MIT (CAS-Nr.: 2682-20-4), CMIT (CAS-Nr.: 26172-55-4), BIT (CAS-Nr.: 2634-33-5).

6.2 Methanol (CAS-Nr.: 67-56-1).

6.3 Acetonitril (CAS-Nr.: 75-05-8).

6.4 Ameisensäure (CAS-Nr.: 64-18-6).

6.5 Essigsäure > 99 % (CAS-Nr.: 64-19-7) (optional für bessere Wiederfindungsraten).

ANMERKUNG Essigsäure hat sich zur Verbesserung der Wiederfindungsrate als hilfreich erwiesen, da sie die Struktur der Dispersionsfarbe auflockert.

6.6 Ammoniumacetat (CAS-Nr.: 631-61-8).

6.7 Fällungsmittel (optional zur Verbesserung der Fällung beim LC-UV/VIS-Verfahren), z. B. Aluminiumsulfat > 98 %, Carrez-Reagenz.

Ein Fällungsmittel (z. B. Aluminiumsulfat, Carrez-Reagenz) kann zur Reinigung der Probenlösung nach der Extraktion eingesetzt werden. In diesem Fall muss durch Prüfungen sichergestellt werden, dass der Einsatz des Fällungsmittels die Wiederfindungsrate im Vergleich zur Analyse ohne Fällungsmittel nicht verringert.

6.8 Verdünnungslösemittel

Ein Lösemittel verwenden, das zur Verdünnung der Probe geeignet ist. Dieses muss eine Reinheit von mindestens 99 Massenprozent aufweisen oder von bekannter Reinheit sein und darf keine Substanzen enthalten, die die Bestimmung beeinträchtigen, z. B. überlappende Peaks im Chromatogramm verursachen. Methanol und ein Gemisch aus Wasser und Methanol (1:1 nach Volumen) haben sich als geeignet erwiesen.

Als Alternative können auch andere geeignete Lösemittel verwendet werden. Es sollte jedoch darauf geachtet werden, dass die Probe nicht agglomeriert, da dies zum Einschluss von Konservierungsmitteln und damit zu Analysefehlern führen kann.

6.9 Interner Standard (ISTD) für das LC-MS-Verfahren

Falls ein interner Standard verwendet wird, sollte dieser bei der Extraktion und zu den Standardarbeitslösungen zugegeben werden.

Möglichst isotopenmarkierte interne Standards verwenden, sofern diese im Handel zu einem angemessenen Preis erhältlich sind.

6.10 Bezugsstandardlösungen

6.10.1 Allgemeines

Die Bezugsstandardlösungen sollten mit demselben Verdünnungslösemittel hergestellt werden wie die endgültige Probenlösung. Alle in diesem Verfahren eingesetzten Standardlösungen müssen wie unten beschrieben hergestellt werden.

Es können auch handelsübliche Standardstammlösungen mit bekanntem Gehalt verwendet werden. Gegebenenfalls muss der Gehalt dieser Lösungen mit zertifizierten/rückverfolgbaren Standards bestimmt werden (siehe 6.1 Referenzsubstanzen).

ANMERKUNG Bei Verwendung von handelsüblichen Standardstammlösungen werden Standardarbeitslösungen in Messkolben (5.1.4) durch Verdünnen der Stammlösung mit Verdünnungslösemittel (6.8) hergestellt.

6.10.2 Standardstammlösungen

Jede Zielreferenzsubstanz (6.1) in einen 100-ml-Messkolben (5.1.4) in einer Konzentration einwiegen, die für die Herstellung der Standardarbeitslösungen ausreichend ist. Bis zur Messmarke mit Verdünnungslösemittel (6.8) auffüllen, um die Substanz vollständig aufzulösen. Die Standardstammlösungen in einen Braunglaskolben umfüllen und mit einem Glasstopfen oder einem PTFE-beschichteten Stopfen verschließen; den Flaschenhals mit einer flexiblen Laborfolie abdichten. Die Herstellung von Standardstammlösungen muss nach einer im Laboratorium festzulegenden Zeitspanne, nach der Zersetzung vorliegen kann, wiederholt werden.

ANMERKUNG In der Regel kann eine Stammlösung im Kühlschrank bei 2 °C bis 6 °C im Dunkeln bis zu einem Monat aufbewahrt werden, wenn ihre Stabilität nachgewiesen wurde, oder entsprechend der Angabe des Herstellers.

Auf Grund der breiten Anwendbarkeit dieses Verfahrens und der teilweise stark abweichenden pH-Wert-Stabilität von Konservierungsmitteln können Analytgemische unterschiedlicher Zusammensetzung erforderlich sein.

6.10.3 Standardarbeitslösungen

Aus der Standardstammlösung (6.10.2) durch Verdünnen mit Verdünnungslösemittel (6.8) Standardarbeitslösungen mit mindestens fünf Konzentrationsstufen herstellen. Sie sind möglicherweise nur wenige Tage lang stabil. Die Herstellung von Standard-Arbeitslösungen muss nach einer im Laboratorium festzulegenden Zeitspanne, nach der Zersetzung vorliegen kann, wiederholt werden.

Wenn ein interner Standard verwendet wird, dann muss ein festes Volumen der internen Standardlösung den Standardarbeitslösungen vor der Verdünnung zugegeben werden.

7 Probenahme

Eine repräsentative Probe des zu prüfenden Produktes (oder im Falle eines Mehrschichtsystems von jedem Produkt) entnehmen, wie in ISO 15528 angegeben.

Jede Probe nach ISO 1513 untersuchen und für die Prüfung vorbereiten, wobei die endgültige Probe für die Prüfung im „gebrauchsfertigen“ Zustand vorbereitet wird.

8 Durchführung

Alle Prüfungen werden durch Entnahme von doppelten Beschichtungsproben wie in Abschnitt 7 beschrieben durchgeführt.

8.1 LC-UV/VIS-Verfahren

8.1.1 Extraktion beim LC-UV/VIS-Verfahren

2 g $\pm$ 0,2 g der Prüfprobe in einen 25-ml-Messkolben (5.1.4) auf 0,1 mg einwiegen, etwa 10 ml Verdünnungslösemittel (6.8) zugeben und im Ultraschallwasserbad bis zur Homogenisierung schütteln (in der Regel reichen drei Minuten Schütteln von Hand aus). Bis zur Messmarke mit Verdünnungslösemittel (6.8) auffüllen und erneut bis zur Homogenisierung schütteln (in der Regel reichen 30 Sekunden Schütteln von Hand aus).

Es kann auch eine andere Probenmasse verwendet werden, sofern die Masse der Probe und das Volumen des Messkolbens proportional angepasst werden. Werden beispielsweise 4 g $\pm$ 0,4 g der Prüfprobe verwendet, so muss der Messkolben ein Volumen von 50 ml haben, und es sollten etwa 20 ml Verdünnungslösemittel für die erste Homogenisierung zugegeben werden. Die Masse darf jedoch nicht unter 0,5 g liegen.

ANMERKUNG Es ist zu beachten, dass das Totvolumen beim Extraktionsverfahren und bei den weiteren Berechnungen nicht berücksichtigt wird.

Den Messkolben (5.1.4) in ein Ultraschallwasserbad (5.1.2) stellen und die Extraktion bei $(25 \pm 5)^\circ\text{C}$ zehn Minuten lang durchführen.

Andere Homogenisierungs- und Extraktionsverfahren, die sich als ebenso geeignet erwiesen haben, dürfen ebenfalls eingesetzt werden. Ein Beispiel für ein mechanisches Verfahren zur Homogenisierung und Extraktion ist in Anhang D angegeben.

Danach wird ein geeignetes Aliquot der Probenlösung in ein Zentrifugenröhrchen (5.1.6) überführt und mindestens zehn Minuten lang bei einer geeigneten Geschwindigkeit (in der Regel $50\,000 \times g$) zentrifugiert, um eine transparente Lösung zu erhalten. Über eine Filtermembran (5.1.9) ein geeignetes Aliquot der Lösung entnehmen und in ein Autosampler-Glasfläschchen (5.1.7) zur LC-Analyse überführen.

ANMERKUNG Die direkte Injektion einer Schwebstofflösung oder einer trüben Lösung in das LC-System könnte das Gerät kontaminieren. Der Einsatz eines Fällungsmittels (6.7) hat sich als hilfreich erwiesen, um die Probenlösung nach der Extraktion zu reinigen.

Gegebenenfalls eine weiter verdünnte Lösung mit einem entsprechenden Volumen an Verdünnungslösemittel (6.8) herstellen.

8.1.2 Betriebsbedingungen beim LC-UV/VIS-Verfahren

Die Betriebsbedingungen des LC-Systems nach den Anweisungen des Herstellers optimieren. Das geeignete LC-Gradientenprogramm für die mobile Phase wird während der Entwicklung und Validierung des Verfahrens experimentell ermittelt. Ein Beispiel für übliche Betriebsbedingungen ist in Anhang A angegeben.

8.1.3 Blindprobe

Die Blindprobe, d. h. das Verdünnungslösemittel (6.8), genauso behandeln wie die Proben. Vorzugsweise sollten mit jedem Probenlos (höchstens 20 Proben) Verfahrensblindproben analysiert werden.

8.1.4 Störungen beim LC-UV/VIS-Verfahren

Substanzen mit ähnlichen Retentionszeiten und Nachweiswellenlängen können die LC-UV/VIS-Bestimmung beeinträchtigen.

Diese Störungen können zu unvollständig aufgelösten Signalen oder zusätzlichen Signalen im chromatographischen Muster führen. Abhängig vom Gehalt dieser Stoffe in der Probe können sie die Genauigkeit und Präzision der Ergebnisse beeinträchtigen.

8.1.5 Kalibrierung beim LC-UV/VIS-Verfahren

Die Bezugsstandardlösungen werden wie in 6.10 beschrieben hergestellt. Darauf achten, dass für die Kalibrierung die gleiche Menge injiziert wird wie für die Messung der Probe.

Die anfängliche Kalibrierung dient zur Festlegung des linearen Arbeitsbereiches für die Kalibrierkurve. Diese Kalibrierung wird bei erstmaliger Anwendung des Verfahrens und nach Wartung und/oder Reparatur der Ausrüstung durchgeführt.

Die Konformität der Kalibrierung muss zu Beginn und am Ende jeder Probenreihe mit einer Standardarbeitslösung (6.10.3) überprüft werden. Die Konformität sollte zusätzlich nach höchstens 20 Proben je Reihe nachgewiesen werden.

Die Rekalibrierung muss den gewünschten Arbeitsbereich abdecken und mit einer Standardarbeitslösung immer dann durchgeführt werden, wenn die Gültigkeitsprüfungen eine Abweichung von > 10 % von der erwarteten Konzentration aufzeigen.

Der sich ergebende Arbeitsbereich für jeden Analyten muss im linearen Bereich des Detektors liegen. Der lineare Bereich jedes Analyten muss während der Bewertung oder Validierung des Verfahrens bestimmt werden. Die Kalibrierkurve muss mit mindestens fünf Konzentrationsstufen erstellt werden. Der Kalibrierbereich sollte auf die Konzentration des zu qualifizierenden Konservierungsmittels abgestimmt sein. Daher kann es erforderlich sein, mehr als ein Kalibrierdiagramm aus den Ergebnissen der Kalibriermessung zu erstellen.

Die aus den Standardarbeitslösungen (6.10.3) erhaltenen Variantenpaare A_i und C_i werden graphisch dargestellt und visuell auf lineare Abhängigkeit geprüft. Ist diese Voraussetzung erfüllt, wird die am besten geeignete Gerade durch lineare Regression mithilfe von Gleichung (1) berechnet.

$$\Delta A_i = a \times \Delta C_i + b \quad (1)$$

Dabei ist

- A_i der Messwert (Signalfläche bzw. -höhe) des Analyten i in Abhängigkeit von c_i (Einheit abhängig von der Auswertung);
- C_i die Massenkonzentration des Analyten i in der jeweiligen Bezugslösung in Mikrogramm je Milliliter [$\mu\text{g}/\text{ml}$];
- a die Steigung der Bezugsgeraden für Analyt i (in $\text{ml}/\mu\text{g}$, wenn kein interner Standard verwendet wird);
- b der Ordinatenabschnitt der Bezugsgeraden, gleiche Einheit wie der Messwert — b kann positive und negative Werte annehmen.

8.1.6 Bestimmung durch das LC-UV/VIS-Verfahren

Die Messgerätekennwerte einstellen wie in 8.1.2 angegeben.

Die Isothiazolinone mit dem LC-UV/VIS-Verfahren bestimmen.

8.2 LC-MS-Verfahren

8.2.1 Extraktion beim LC-MS-Verfahren

($2 \pm 0,2$) g der Prüfprobe in einen 25-ml-Messkolben (5.1.4) auf 0,1 mg einwiegen, falls erforderlich, den internen Standard (6.9) zugeben, etwa 10 ml Verdünnungslösemittel (6.8) hinzugefügen, und das Gemisch im Ultraschallwasserbad bis zur Homogenisierung schütteln (in der Regel reichen drei Minuten Schütteln von Hand aus). Bis zur Messmarke mit Verdünnungslösemittel (6.8) auffüllen und das Gemisch erneut bis zur Homogenisierung schütteln (in der Regel reichen 30 s Schütteln von Hand aus).

Es kann auch eine andere Probenmasse verwendet werden, sofern die Masse der Probe und das Volumen des Messkolbens proportional angepasst werden. Werden beispielsweise ($4 \pm 0,4$) g der Prüfprobe verwendet, so muss der Messkolben ein Volumen von 50 ml haben, und es sollten etwa 20 ml Verdünnungslösemittel für die erste Homogenisierung zugegeben werden. Die Masse darf jedoch nicht unter 0,5 g liegen.

ANMERKUNG Es ist zu beachten, dass das Totvolumen beim Extraktionsverfahren und bei den weiteren Berechnungen nicht berücksichtigt wird.

Den Messkolben (5.1.4) in ein Ultraschallwasserbad (5.1.2) stellen und die Extraktion bei (25 ± 5) °C zehn Minuten lang durchführen.

Andere Homogenisierungs- und Extraktionsverfahren, die sich als ebenso geeignet erwiesen haben, dürfen ebenfalls eingesetzt werden. Ein Beispiel für ein mechanisches Verfahren zur Homogenisierung und Extraktion ist in Anhang D angegeben.

Danach wird ein geeignetes Aliquot der Probenlösung in ein Zentrifugenröhrchen (5.1.6) überführt und mindestens zehn Minuten lang bei einer geeigneten Geschwindigkeit (in der Regel $50\,000 \times g$) zentrifugiert, um eine klare Lösung zu erhalten.

Für die meisten wasserverdünnbaren Beschichtungsstoffproben können sowohl die chemische Ionisation bei Atmosphärendruck (APCI) in Verbindung mit dem Verfahren der weiteren Verdünnung (8.2.2) als auch die Elektrospray-Ionisation (ESI) in Verbindung mit dem Standardadditionsverfahren (Anhang C) das Problem der Matrixinterferenzen lösen. Wenn Verbindungen in einer Probe jedoch dafür bekannt sind, dass sie stark durch matrixbedingte Verstärkungs- oder Unterdrückungsphänomene beeinträchtigt werden, sollte die APCI in Kombination mit dem Standardadditionsverfahren eingesetzt werden.

8.2.2 Weitere Verdünnung

Für die APCI-Quelle 1 ml der transparenten Lösung (siehe 8.2.1) in einen 25-ml-Messkolben (5.1.4) überführen und bis zur Messmarke mit Verdünnungslösemittel (6.8) auffüllen.

8.2.3 Filtration

Über eine Filtermembran (5.1.9) ein geeignetes Aliquot der Lösung nach 8.2.2 oder Anhang C entnehmen und für die LC-MS-Analyse in ein Autosampler-Glasfläschchen (5.1.7) überführen.

ANMERKUNG Die direkte Injektion einer Schwebstofflösung oder einer trüben Lösung in das LC-MS-System könnte das Gerät kontaminieren.

Gegebenenfalls eine weiter verdünnte Lösung mit einem entsprechenden Volumen an Verdünnungslösemittel (6.8) herstellen.

8.2.4 Betriebsbedingungen beim LC-MS-Verfahren

Die Betriebsbedingungen des LC-MS-Systems werden nach den Anweisungen des Herstellers optimiert. Das geeignete LC-Gradientenprogramm für die mobile Phase wird während der Entwicklung und Validierung des Verfahrens experimentell ermittelt. Ein Beispiel für übliche Betriebsbedingungen ist in Anhang B angegeben.

Die MS-Kenngrößen können variieren; sie sind geräte- bzw. herstellerabhängig und müssen durch Feineinstellung des Messgerätes vor der Analyse ermittelt werden.

8.2.5 Blindprobe

Die Blindprobe, d. h. das Verdünnungslösemittel (6.7), genauso behandeln wie die Proben. Vorzugsweise sollten mit jedem Probenlos (höchstens 20 Proben) Verfahrensblindproben analysiert werden.

8.2.6 Störungen beim LC-MS-Verfahren

Substanzen mit ähnlichen Retentionszeiten, die außerdem Ionen produzieren, die denen der untersuchten Analyten ähneln, können die LC-MS-Bestimmung beeinträchtigen.

Diese Störungen können unvollständig aufgelöste Signale oder zusätzliche Signale im chromatographischen Muster der Zielanalyten oder beides hervorrufen. Abhängig vom Gehalt dieser Stoffe in der Probe können sie die Genauigkeit und Präzision der Ergebnisse beeinträchtigen.

Matrixinterferenzen können durch Kontaminanten verursacht werden, die aus den Proben mitextrahiert werden. Das Ausmaß der Matrixinterferenzen ist je nach Beschaffenheit der Proben sehr unterschiedlich. Matrixinterferenzen können zu einer Unterdrückung oder Verstärkung der Ionisation führen.

Für die meisten wasserverdünnbaren Beschichtungsstoffproben können sowohl die chemische Ionisation bei Atmosphärendruck (APCI) in Verbindung mit dem Verfahren der weiteren Verdünnung als auch die Elektrospray-Ionisation (ESI) in Verbindung mit dem Standardadditionsverfahren das Problem der Matrixinterferenzen lösen. Wenn Verbindungen in einer Probe jedoch dafür bekannt sind, dass sie stark durch matrixbedingte Verstärkungs- oder Unterdrückungsphänomene beeinträchtigt werden, sollte die APCI in Kombination mit dem Standardadditionsverfahren in Anhang C eingesetzt werden.

8.2.7 Kalibrierung beim LC-MS-Verfahren

Die Bezugsstandardlösungen werden wie in 6.10 beschrieben hergestellt. Darauf achten, dass für die Kalibrierung die gleiche Menge injiziert wird wie für die Messung der Probe.

Die anfängliche Kalibrierung dient zur Festlegung des linearen Arbeitsbereiches für die Kalibrierkurve. Diese Kalibrierung wird bei erstmaliger Anwendung des Verfahrens und nach Wartung und/oder Reparatur der Ausrüstung durchgeführt.

Die Konformität der Kalibrierung muss zu Beginn und am Ende jeder Probenreihe mit einer Standardarbeitslösung (6.10.3) überprüft werden. Die Konformität sollte zusätzlich nach höchstens 20 Proben je Reihe nachgewiesen werden.