

ICBA
Leitlinien zur Verringerung
des Potentials der Benzolbildung
in Getränken

Verbschiedet vom ICBA
am 29. April 2006

**ICBA Leitlinien zur Verringerung des
Potentials der Benzolbildung in Getränken**

INHALT

1. Einführung	Seite 3
2. Hintergrund	Seiten 3-4
3. Auslöser und mildernde Faktoren bei der Benzolbildung in Getränken	Seite 4
4. Wichtige Empfehlungen der ICBA für Getränkehersteller betreffend Benzolbildung	Seite 5
5. Anleitung: Nachweis von Benzol in Getränken	Seite 5
6. Anleitung: Formulierung von Kontrollstrategien	Seiten 6-7
Anhang: Analysemethoden	Seiten 8-26

Anmerkung der ABA:

Der Anhang ist nicht Bestandteil der Leitlinien, da es gegenwärtig bei der U.S. FDA eine Debatte über die Genauigkeit verschiedener Analysemethoden über den Nachweis von Benzol gibt (Bis zur Klärung dieser Frage ist der Anhang nicht Bestandteil der Leitlinien).

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

ICBA Leitlinien zur Verringerung des Potentials der Benzolbildung in Getränken

1. Einführung

Das International Council of Beverages Associations (ICBA) ist eine nichtstaatliche Organisation, die die Interessen der weltweiten Getränkeindustrie vertritt. Die Mitglieder des ICBA produzieren, vertreiben und verkaufen eine Reihe von alkoholfreien Getränken, einschließlich kohlenstoffhaltigen und kohlenstofffreien Getränken wie Fruchtsaftgetränke, natürliches Mineralwasser und Tee- und Kaffeefertiggetränke.

2. Hintergrund

Zwischen 1990 und 1991 erfuhr die Erfrischungsgetränke-Industrie, dass unter bestimmten Bedingungen ein erhöhter Benzolgehalt in ausgewählten Getränken nachgewiesen werden konnte. In Zusammenarbeit mit der US Food and Drug Administration (FDA) fand die Industrie heraus, dass der gleichzeitige Einsatz der Zutaten Ascorbinsäure (Vitamin C) und dem Konservierungsmittel Natriumbenzoat zur Benzolbildung führen kann. Diese Bildung trat verstärkt auf, wenn das Getränk über einen längeren Zeitraum bei erhöhten Temperaturen gelagert wurde.

Obwohl die Höhe und die Häufigkeit, in der diese Benzolbildung auftrat, nicht als Bedrohung für die öffentliche Gesundheit betrachtet wurde, unternahm die Industrie sofort aktive Schritte und formulierte betroffene Produkte neu, um jegliches Benzolbildungspotential zu minimieren und dabei gleichzeitig die mikrobiologische Integrität zu erhalten.

Bei Erfrischungsgetränken und anderen Lebensmitteln verwenden die zuständigen Behörden (Australien und Neuseeland FSANZ, EU JRC, JRC, Kanada, UK FSA und US FDA) eine umfassende Expositionsüberwachung und einen Bewertungsansatz für die Risikobewertung. Die jüngste Studie, *Volatile Organic Compounds in Foods: A Five Year Study* wurde von der FDA durchgeführt und im Journal of Agriculture and Food Chemistry im Jahr 2003 veröffentlicht. Benzol wurde in *allen* getesteten Lebensmitteln nachgewiesen, einschließlich Obst und Gemüse, abgesehen von amerikanischem Käse und Vanilleeis. Die Mengen lagen zwischen 1-190 ppb (Mikrogramm pro Kilo). Die FDA schloss aus den im Laufe der Studie erhobenen Daten, dass der amerikanische Lebensmittelbestand vergleichsweise sicher ist und dass, obwohl eine orale Gefährdung durch flüchtige organische Verbindungen wie Benzol besteht, die Gefahr durch Inhalation tatsächlich viel größer ist. Und gemäß einem am 27. Februar 2006 in Food Chemical News erschienenen Artikel erklärte ein Beamter des an die FDA angeschlossenen Center for Food Science and Applied Nutrition, dass alle Lebensmittel nur für 5 % der Gesamtexposition von Benzol verantwortlich sind. Folgende Studien kommen zu ähnlichen Ergebnissen: UK-MAFF Food Surveillance No 58 – Benzene and other Aromatic Hydrocarbons in Food-Average UK Dietary Intakes – März 1995; EU Gemeinsame Forschungsstelle, HEXPOC, 2005 – Human Exposure Characterisation of chemical substances; quantification of exposure routes; Canada: B.D. Page et al – Journal of AOAC Intl., 1992, 75, (2) 334-340.

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

Die Industrie hat dennoch einen verantwortungsbewussten Ansatz gewählt, um den Gehalt von Benzol in ihren Getränken zu minimieren. In Anbetracht einer wachsenden und expandierenden Getränkeindustrie erneuert der International Council of Beverages Associations (ICBA) seine Verpflichtung, Leitlinien für die Minimierung der Benzolbildung bereitzustellen. Diese Leitlinien werden *allen* Getränkeunternehmen weltweit zur Verfügung gestellt, unabhängig von ihrer Zugehörigkeit zum ICBA. Ebenso wird der Rat der ICBA zusammen mit seinen Mitgliederverbänden eine gemeinsame Anstrengung unternehmen, diese Information allen Getränkeherstellern bereitzustellen.

3. Auslöser und mildernde Faktoren bei der Benzolbildung in Getränken

3.1 Auslösende Faktoren, die zur Bildung von Benzol in Getränken führen können

- **Primärer Auslöser: die Bildung von Benzol kommt im ppb-Bereich (Mikrogramm pro Kilo) in einigen Getränkerezepturen vor, die Natriumbenzoat oder Kaliumbenzoat zusammen mit Ascorbinsäure ⁽¹⁾ enthalten. Die Menge steigt mit Hitze und/oder Licht, wobei Hitze der vorherrschende Faktor ist.**
- Einigen Studien zufolge kann Isoascorbinsäure - sofern zugelassen - genauso zu einer Bildung von Benzol führen, wie Ascorbinsäure.
- Zur Benzolbildung kann es ebenfalls kommen, wenn Säfte und andere Zutaten - die Spuren von Benzoesäure und Ascorbinsäure enthalten - bei der Getränkerezeptur verwendet werden.

3.2 Mildernde Faktoren bei der Bildung von Benzol in Getränken, die Benzoesäure und Ascorbinsäure enthalten

- Zutaten wie Zuckerarten (Zucker, Fruktose enthaltender Mais- oder Stärkesirup) und Calcium-Dinatrium Ethylen-Diamintetraacetat (EDTA) – sofern zugelassen - oder Natriumpoly- (oder Hexamethylen-) Phosphat können die Bildung von Benzol mildern.
- Es gibt Anzeichen dafür, dass Zuckerarten die Reaktion verzögern, da das Phänomen am stärksten in kalorienarmen Getränken auftritt. Je länger sich das Produkt jedoch auf dem Markt befindet (Haltbarkeit), desto größer wird das Potential der Benzolbildung, wenn die Ausgangsvoraussetzungen dafür bestehen.
- Es gibt ebenfalls Anzeichen dafür, dass EDTA – sofern zugelassen – die Reaktion mildert, möglicherweise durch komplexbildende Metallionen, die als Katalysatoren fungieren. Das Ausmaß der Milderung kann geringer sein in Produkten, die Calcium oder andere Mineralstoffe enthalten - besonders wenn diese zur Anreicherung eingesetzt werden - da diese die mildernde Wirkung beeinträchtigen.

1 L.K. Gardner and G.D. Lawrence, J. Agric. Fd. Chem. 1993, 41 (5), 693-695

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

4. Wichtige Empfehlungen des ICBA an Getränkehersteller um die Benzolbildung zu minimieren

(Anmerkung: Wir versuchen absolute Begriffe wie „verhindern“ oder „vermindern“ zu vermeiden, um den Tonfall dieser Leitlinien eher beratend als verbindlich zu halten.)

In Anbetracht der oben genannten (Abschnitt 3) Auslöser und der mildernden Faktoren im Zusammenhang mit der Benzolbildung empfiehlt der ICBA Folgendes:

✓ **EMPEHLUNG 1: ÜBERPRÜFUNG**

Alle Getränkeunternehmen sollten **ihre bestehenden Produkte sowie neue Rezepturen** unter Berücksichtigung der oben genannten Informationen im Hinblick auf das Verfahren für eine Minimierung der Benzolbildung **überprüfen**.

✓ **EMPFEHLUNG 2: ERPROBUNG**

Alle Getränkeunternehmen sollten **analytische Untersuchungen der entsprechenden Produkte** auf Benzol mit Hilfe von beschleunigten Lagerungsprüfungen durchführen *(zu weiteren Einzelheiten siehe Abschnitt 5)*.

✓ **EMPFEHLUNG 3: NEUE REZEPTUREN**

Getränkeunternehmen sollten **alle betroffenen Produkte neu formulieren**, in denen Benzol enthalten sein könnte, um die Benzolbildung so gut wie möglich zu reduzieren.

✓ **EMPFEHLUNG 4: ÜBERWACHUNG BESTEHENDER PRODUKTE**

Getränkeunternehmen sollten eine Benzolmessung in ihre routinemäßigen Analysen der Warenproben mit einbeziehen.

5. Leitlinien: Überprüfung auf das Vorhandensein von Benzol in Getränken

5.1. Beschleunigte Prüfungen

Beschleunigte Prüfungen sollten im Falle von Produktrezepturen durchgeführt werden, die Benzoesäure - einschließlich zugesetztes Benzoat - und Ascorbinsäure enthalten. Die spezifischen Prüfbedingungen können von Hersteller zu Hersteller variieren, sollten jedoch Zeit- und Temperaturbedingungen umfassen, die die normalen Verteilungsbedingungen abdecken, die das Produkt erfährt. Als Ausgangspunkt könnten die Hersteller erwägen, die Produktrezepturen Temperaturen von mindestens 50-70 °C über einen Zeitraum von 24 Stunden auszusetzen, oder je nach Rezeptur auch länger, da manche Produktrezepturen 14 Tage lang einer beschleunigten Prüfung unterzogen werden müssen, um das Reaktionspotential bewerten zu können.

5.2. Analytische Verfahren

Verlässliche analytische Verfahren für Benzol müssen mit Hilfe von angemessenen Leistungsversuchen oder durch akkreditierte externe Labors validiert werden, die in der Lage sind, mindestens 5 ppb¹ (Mikrogramm/Kg) Benzol in Getränken zu ermitteln (Siehe Anhang für Beispiele der Methoden).

¹ 5 ppb = US-Grenzwert, für Europa liegt der Grenzwert für Trinkwasser bei 1 ppb.

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

6. Leitlinien: Formulierung von Kontrollstrategien

Wie bereits erwähnt, sind die wesentlichen Faktoren der Benzolbildung in Getränken normalerweise eine Kombination aus Benzoesäure und Ascorbinsäure sowie Wärme und Zeit. Andere Kontrollpunkte (CP), die die Getränkehersteller bei der Formulierung eines Produkts berücksichtigen sollten, lauten wie folgt:

- Wasser
 - ⇒ muss die lokalen regulativen Anforderungen für Trinkwasser erfüllen, einschließlich der Benzolmengen. *Siehe auch den Abschnitt über "Übergangsmetalle".*
CP – Benzol in Wasser überprüfen.
 - Zucker (Zuckerarten)
 - ⇒ scheint die Benzolbildung zu verlangsamen, verhindert sie aber nicht völlig.
 - Fruchtsäfte
 - ⇒ können mit Benzoat "konserviert" geliefert werden - wenn zugelassen - und/oder anderer natürlicher Benzoesäurequellen.
CP – Spezifikationen mit dem Lieferanten überprüfen, um Benzoat zu kontrollieren oder zu vermeiden.
 - ⇒ können eine Quelle für Ascorbinsäure sein (zugemischt oder natürlich vorhanden)
CP – Untersuchung auf Ascorbat oder die jeweiligen Mengen beim Lieferanten erfragen.
 - Süßstoffe
 - Kalorienarme bzw. Light-Produkte weisen das größte Potential für die Bildung von Benzol auf, wenn die Ausgangsvoraussetzungen dafür vorhanden sind.
 - Kohlendioxid
 - ⇒ die Einhaltung der lokalen gesetzlichen Anforderungen oder des Standards der International Society of Beverage Technologists (ISBT) in Höhe von maximal 20 ppb (Mikrogramm/Kg) Benzol gewährleisten.
CP – Spezifikationen des Lieferanten und Analysen mit Überprüfungen.
 - Säuren
 - ⇒ Bei niedrigem pH-Wert führt Ascorbinsäure und/oder Isoascorbinsäure in Kombination mit Benzoesäure zu einem größeren Potential der Benzolbildung.
-

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

- Aromen/Trübungsmittel
 - ⇒ Aromen, Emulsionen und Trübungsmittel können Konservierungsmittel und Antioxidationsmittel enthalten.
CP - Spezifikationen des Lieferanten überprüfen, um Benzoat zu kontrollieren oder zu vermeiden.
 - ⇒ Benzaldehyd und Ascorbinsäure können ebenfalls Benzol bilden.
CP - überprüfen, ob Benzaldehyd vorhanden ist.
- Farbstoffe
 - ⇒ können Ascorbat als Antioxidationsmittel enthalten, um ein Ausbleichen zu verhindern.
CP - beim Lieferanten überprüfen und gegebenenfalls neu spezifizieren.
- Konservierungsmittel
 - ⇒ Jegliche Herstellung von Getränken muss unter strengen hygienischen Bedingungen erfolgen, gemäß den HACCP-Prinzipien.
 - ⇒ Die Verwendung von Mischungen aus Sorbat und Benzoat sollte erwogen werden, wenn technischer Bedarf danach besteht (mikrobiologische Stabilität oder Löslichkeit von Sorbat).
CP - Erwägen, ob Benzoat entfernt/reduziert/ersetzt werden kann durch Sorbat oder andere Konservierungsmethoden. Es muss angemerkt werden, dass Sorbat in verdünnbarem und Post-Mix-Sirup ausfallen kann.
 - ⇒ Getränke zum Verdünnen: (Squashes, Cordials sind meist fünffach konzentriert und werden vor dem Verbrauch verdünnt) müssen aufgrund ihrer häufigen Öffnung während ihrer langen Lagerung im Regal konserviert werden.
CP - Erwägen, ob Benzoat entfernt/reduziert/ersetzt werden kann durch Sorbat oder andere Konservierungsmethoden.
Es muss angemerkt werden, dass Sorbat mit Vorsicht verwendet werden muss, damit es nicht ausfällt. Die Verwendung von Alternativen zu Ascorbat, soweit vorhanden, sollte erwogen werden.
- Antioxidationsmittel
 - ⇒ die Verwendung von Ascorbat im Zusammenhang in der gesamten Rezeptur sollte erwogen werden, besonders wenn Zitrus-säfte oder andere Stoffe vorhanden sind, die Ascorbat natürlich enthalten.
CP - Ascorbat gegebenenfalls entfernen/reduzieren/ersetzen, wenn eine Benzoesäurequelle vorhanden ist.

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

- Licht
 - ⇒ UV-Licht kann die Bildung freier Radikaler in den Produkten verursachen.
CP - Lagerung und Haltbarkeitsbedingungen sowie die Kennzeichnungsvorschriften sollten überprüft werden.
- Temperatur
 - ⇒ beschleunigt die Benzolentwicklung, wenn Vorstufen vorhanden sind.
CP - Lagerung und Haltbarkeitsbedingungen sowie die Kennzeichnungsvorschriften sollten überprüft werden.
- Übergangsmetalle
 - ⇒ Spuren von Metallionen wie Kupfer und Eisen können bei Vorhandensein von Benzoesäurequellen und Ascorbinsäure als Katalysatoren bei der Benzolbildung in Getränken fungieren. Quellen von Übergangsmetallen können aus dem Produkt Wasser, Süßstoffen oder anderen Zutaten herrühren.
CP - Die Bildung von Chelaten wie EDTA (wo zugelassen) oder Natrium-Polyphosphat kann die Entwicklung mildern. Die Anreicherung mit Calcium oder anderen Mineralstoffen kann diesen Effekt verringern.

**ANHANG:
BEISPIELE FÜR ANALYSEN**

- 1. Purge/Trap (Spülen/Auffangen) Quantitätsbestimmung von Benzolspuren in kohlenensäurehaltigen Erfrischungsgetränken und fruchtsafthaltigen Produkten mittels GCMS**
- 2. Benzolbestimmung in kohlenensäurehaltigen und kohlenensäure-freien Getränken – Gas-Chromatografische Methode unter Verwendung von Headspace**

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

1. Purge/Trap (Spülen/Auffangen) Quantitätsbestimmung von Benzolspuren in kohlenensäurehaltigen Erfrischungsgetränken und Fruchtsaftprodukten mittels GCMS

Zusammenfassung:

A Betriebsparameter der Instrumente

Es wurden drei Purge und Trap GC/MS-Instrumente für die Analyse verwendet:

1. Agilent 6890/5973 #1 GC/MS, Tekmar Velocity Purge und Trap Concentrator und Tekmar Solatek Purge und Trap Autosampler.
2. Agilent 6890/5973 #2 GC/MS, EST Encon Purge und Trap Concentrator und EST Archon 5100 Purge und Trap Autosampler.
3. Agilent 6890/5973 #3 GC/MS, Tekmar Velocity Purge und Trap Concentrator und Archon (OI 4552) Autosampler.

1. 6890/5973 #1

Eine HP-5MS Säule mit den Maßen 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm (Agilent 19091S-433) wurde 2 Minuten lang bei 45 °C gehalten, dann wurde um 10 °C/Minute auf 65 °C erhöht, dann um 25 °C auf 250 °C erhöht und 5 Minuten lang bei 250 °C gehalten. Der Einspritzblock wurde auf 225 °C eingestellt, bei einem Stromteilungsverhältnis von 50:1 und einem 4 mm ID Split/Splitless-Liner. Das durch den 6890er EPC geregelte Trägergas wird dem Velocity zugeführt. Es wird in den 6890 über die beheizte Transfer-Leitung zurückgeführt, die in die Zuleitung des GC führt.

Die Säule wurde unter konstantem Druck bei 12,33 psig mit einer nominalen Fließgeschwindigkeit von 0,8 ml/Minute betrieben. Der Gassparer wurde nach einer Laufzeit von 2 Minuten auf 20 ml/Minute eingestellt. Die Säule mündet in einen Agilent Microfluidics-Splitter, der etwa 20 % des Säulenausflusses in einen Agilent µ-ECD leitet. Die Daten des ECD wurden für diese Analyse nicht erhoben. Der Splitter hatte eine 3,8 psig Frischgaszufuhr, wobei der Säulenausstoß 3,8 psig über dem Umgebungsdruck lag.

Die MSD-Transfer-Leitung wurde auf 280 °C eingestellt, das MS Quad wurde auf 150 °C und die MS Quelle auf 230 °C eingestellt. Die Dehnung des Elektronenvervielfachers betrug 106 Volt und die Spannung des Vervielfachers betrug 1.694 Volt. Eine Tune File von ATUNE wurde verwendet. Selektive Ionen-Überprüfung (Selected-Ion-Monitoring) wurde für die Analyse eingesetzt. Die untersuchten Ionen waren m/z 77,78 für Benzol und 82,84 für d⁶-Benzol, interner Standard in niedrigem Auflösungsmodus und die Verweilzeit für diese Ionen betrug 100 ms.

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

Benzol, Zielion m/z 78, Qualifier-Ion 77, und d⁶-Benzol, Zielion m/z 84, Qualifier-Ion 82, wurden zwischen 3,23 und 3,65 Minuten überwacht. Die Retentionszeiten für Benzol betragen 3,45 Minuten, und für d⁶-Benzol 3,43 Minuten. Ein Tekmar Velocity XPT Purge und Trap Concentrator mit einem Solatek-Autosampler wurden im Abfluß -Modus (soils mode) verwendet. In diesem Modus werden Proben in der 40 ml Probenflasche (I-Chem Certified 200 Serie, Fisher Scientific 05-719-102) durch den Autosampler gespült. Das Spülgas wird zum Kopf des Concentrator Trap über eine beheizte SilcoSteel Transfer-Leitung transportiert.

Eine Auffangvorrichtung (Trap) des Typs Supelco J (Supelco 21064) oder BTEX wurde verwendet. Dies ist ein Edelstahlrohr mit einer Länge von 25 cm und einem Durchmesser von 1/8", in dem sich 7,7 cm Carbopak C und 1,2 cm Carbopak B befinden. Die analytischen Bedingungen für den Purge und Trap Concentrator/Autosampler lauten wie folgt. Diese analytischen Bedingungen entsprechen denen der Tekmar's Teklink Software, die den Sampler antreibt und die den Lauf des GC/MS startet, wenn der Desorptionszyklus beginnt.

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

Variable	Wert	Variable	Wert
Temp. Spülwasser	90 °C	Vorspül-Fluss	40 ml/Min
Temp. Probengefäß	40 °C	Probenheizung	Aus
Temp. Probenadel	50 °C	Proben-Vorwärmzeit	1,00 Min
Temp. Transfer-Leitung	150 °C	Vorwärmtemp.	40 °C
Temp. Bodenventil (soil valve)	125 °C	Spül-Temp.	0 °C (Standard-einstellung)
Sweep Time der Probe	0,50 Min	Spül-Fluss	40 ml/Min
Spülmenge der Nadel	15 ml	Trockenspül-Zeit	0,50 Min
Sweep Time der Nadel	1,00 Min	Trockenspül-Temp.	20 °C
Proben-Vorwärmzeit	1,00 Min	Trockenspül-Fluss	50 ml/Min
Rühren beim Vorwärmen	Aus	GC Start	Start der Desorb.
Rührmodus beim Vorwärmen	Spin	Desorb.Vorwärmtemp.	250 °C
Rührgeschwindigkeit beim Vorwärmen	5	Desorb.-Abfluss	An
Spülzeit (Purge Time)	11,00 Min	Desorb.-Zeit	2,00 Min
Rühren beim Spülen (Purge Stir)	Aus	Desorb.-Temp.	250 °C
Rührmodus beim Spülen	Schütteln	Desorb.-Fluss	0 ml/Min (Standard-einstellung)
Rührgeschwindigkeit beim Spülen	5	Backzeit	4 Min
Temp. Ofenventil	150 °C	Backtemp.	260 °C
Temp. Transfer-Leitung	150 °C	Backtemp. des Trockenflusses	300 °C
Temp. Probengehäuse	90 °C	Backfluss	400 ml/Min
Bereitschaftstemp. beim Spülen	35 °C	Focustemp.	-150 °C
Bereitschaftstemp. des Trockenflusses	200 °C	Einspritzzeit	1,00 Min
Bereitschaftsfluss	20 ml/Min	Einspritztemp.	180 °C
Vorspül-Zeit	0,50 Min	Bereitschaftstemp.	100 °C

Tabelle 1. Tekmar-Velocity- und Solatek-Einstellungen

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

2. 6890/5973 #2

Eine DB-624 Säule mit den Maßen 60 m x 0,25 mm x 1,4 µm (Agilent 122-1364) wurde 2 Minuten lang bei 40 °C gehalten, dann wurde um 10 °C/Minute auf 180 °C erhöht, dann um 40 °C/Minute auf 250 °C erhöht und 2 Minuten lang bei 250 °C gehalten. Der Einspritzblock wurde auf 200 °C eingestellt, bei einem Stromteilungsverhältnis von 40:1. Das durch den 6890er EPC geregelte Trägergas wird dem Encon zugeführt. Es wird in den 6890 über die beheizte Transfer-Leitung zurückgeführt, die in die Zuleitung des GC führt.

Aufgrund der Länge der Säule traten einige Probleme auf hinsichtlich Geister-Peaks/Ver-schleppung der Proben. Das Instrument ist für eine andere Analyse konfiguriert, die diese Säule erfordert. Für die Benzolanalyse wird die Verwendung einer Dünnschichtsäule mit einer Länge von maximal 30 m empfohlen. Die Säule wurde unter konstantem Fließmo-dus mit einem anfänglichen Druck von 16,65 psig mit einer Fließgeschwindigkeit von 1,0 ml/Minute betrieben. Der Gassparer wurde nach einer Laufzeit von 2 Minuten auf 20 ml/Minute eingestellt.

Die MSD-Transfer-Leitung wurde auf 280 °C eingestellt, das MS Quad wurde auf 150 °C und die MS Quelle auf 230 °C eingestellt. Die Dehnung des Elektronenvervielfachers war ausgeschaltet, und die Spannung des Vervielfachers betrug 1.670 Volt. Eine Tune File von ATUNE wurde verwendet. Die Lösungsmittelverzögerung betrug 10 Minuten.

Selektive Ionen-Überprüfung (Selected-Ion-Monitoring) wurde für die Analyse eingesetzt. Die untersuchten Ionen waren m/z 77,78 für Benzol und 84,82 für d6-Benzol, gemäß in-ternem Standard. Die Verweilzeit für diese Ionen betrug 85 ms.

Benzol, Retentionszeit (Rt) 11,3 Minuten, wurde unter Verwendung des Zielions m/z 78, Qualifier-Ion 77 bestimmt. d6-Benzol gemäß internem Standard wurde unter Verwen-dung des Zielions 84 und Qualifier-Ions 82 bestimmt. Das Massenspektrometer wurde mit hoher Auflösung betrieben.

Der Encon Purge und Trap Concentrator mit dem Archon 5100 Autosampler wurde im Ab-fluss-Modus (soils mode) verwendet. Das Spülgas wird zum Kopf des Concentrator Trap über eine beheizte SilcoSteel Transfer-Leitung transportiert. Encon verwendete eine Trap des Typs K oder Vocarb 3000 (PTS Katalog E70300-K03). Dies ist ein Edelstahlrohr mit einer Länge von 25 cm und einem Durchmesser von 1/8", in dem sich 10 cm Carbopak B, 6 cm Carboxen 1000 und 1 cm Carboxen 1001 befinden.

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

Variable	Wert	Variable	Wert
Bereitschaftsfluss	An	Abfluss	An
Backgas-Umführung	An	Antischaummittel	Cont
Insgesamte GC-Zeit	0 Minuten	Ofenventil	130 °C
Transfer-Leitung	130 °C	MoRT Bereit	40 °C
MoRT Bake	260 °C	Spülen Bereit	35 °C
Spül-Zeit	11 Minuten	Trockenspül-Zeit	1 Minute
Spül-Fluss	40 ml/Minute	Desorb-Fluss	0 ml/Min (Standard-einstellung)
Vorwärmtemp.	40 °C	Vorwärmzeit	0,5 Minuten
Desorb. Vorwärmen	245 °C	Desorb.-Temp.	250 °C
Desorb.-Zeit	2 Minuten	Backen	260 °C
Backzeit	10 Minuten		

Tabelle 2. Encon- und Archon-Einstellungen

3. 6890/5973 #3

Eine DB-624 Säule mit den Maßen 20 m x 0,18 mm x 1 µm (Agilent 122-1324) wurde 3 Minuten lang bei 40 °C gehalten, dann wurde um 15 °C/Minute auf 210 °C erhöht und 0,33 Minuten lang bei 210 °C gehalten. Der Einspritzblock wurde auf 210 °C mit einem Stromteilungsverhältnis von 50:1 reguliert. Das durch den 6890er EPC geregelte Trägergas wird dem Encon zugeführt. Es wird in den 6890 über die beheizte Transfer-Leitung zurückgeführt, die in die Zuleitung des GC führt.

Die Säule wurde unter konstantem Fließmodus mit einem anfänglichen Druck von 16,53 psig mit einer Fließgeschwindigkeit von 0,8 ml/Minute betrieben. Der Gassparer war ausgeschaltet.

Die MSD-Transfer-Leitung wurde auf 190 °C eingestellt, das MS Quad wurde auf 150 °C und die MS Quelle auf 230 °C eingestellt. Die Dehnung des Elektronenvervielfachers war ausgeschaltet, und die Spannung des Vervielfachers betrug 1.176 Volt. Eine Tune File von ATUNE wurde verwendet. Die Lösungsmittelverzögerung betrug 4,5 Minuten.

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

Selektive Ionen-Überprüfung (Selected-Ion-Monitoring) wurde für die Analyse eingesetzt. Die untersuchten Ionen waren m/z 77,78 für Benzol und 84,82 für d6-Benzol, gemäß internem Standard. Das MSD wurde mit niedriger Auflösung betrieben, und die Verweilzeit für diese Ionen betrug 85 ms.

Benzol, Retentionszeit (Rt) 5,19 Minuten, wurde bestimmt und die Menge wurde mittels Zielion m/z 78 quantitativ gemessen. d6-Benzol, Rt 5,16 Minuten, wurde unter Verwendung des Zielions m/z 84 bestimmt.

Der Velocity Purge und Trap Concentrator mit dem Archon Autosampler wurde im Abfluss-Modus verwendet. Das Spülgas wird zum Kopf des Concentrator Trap über eine beheizte SilcoSteel Transfer-Leitung transportiert. Velocity verwendete eine Trap des Typs K, oder Vocarb 3000. Dies ist ein Edelstahlrohr mit einer Länge von 25 cm und einem Durchmesser von 1/8", in dem sich 10 cm Carbopak B, 6 cm Carboxen 1000 und 1 cm Carboxen 1001 befinden.

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

Variable	Wert	Variable	Wert
Temp. Ofenventil	150	Trockenspül-Temp.	40
Temp. Transfer-Leitung	150	Trockenspül-Fluss	200 ml/Min
Temp. Probengehäuse	90	GC Start	Start der Desorb.
Bereitschaftstemp. Beim Spülen	40	Desorb.-Vorwärmtemp.	245
Bereitschaftstemp. des Trockenflusses	175	Desorb.-Abfluss	AN
Bereitschaftsfluss	0 ml/Min	Desorb.-Zeit	2 Min
Vorspül-Zeit	0,5 Min	Desorb.-Temp.	250
Vorspül-Fluss	40 ml/Min	Desorb.-Fluss	0 ml/Min (Standard-einstellung)
Probenheizung	AUS	Backzeit	2 Min
Proben-Vorwärmzeit	1 Min	Backtemp.	270
Vorwärmtemp.	40	Backtemp. des Trockenflusses	300
Spül-Zeit	11 Min	Backfluss	400 ml/Min
Spül-Temp.	0 (Standard-einstellung)	Focustemp.	-150
Spül-Fluss	40 ml/Min	Einspritzzeit	1 Min
Trockenspül-Zeit	1 Min	Einstspritztemp.	180
Art der Probe	Bodenprobe	Probenmenge	5 ml
Verdünnungsfaktor	0	Spülmenge	0 (Standard-einstellung)
# Spülungen	0	Standard 1	JA
Standard 2	NEIN	Rühren der Probe beim Vorwärmen	NEIN
Rühren	NEIN	W. Rührzeit	0 (Standard-einstellung)
W. Absinkdauer	0	Spülen der Spritzen	0 (Standard-einstellung)
Opr. Modus	Fernbetätigung	Zyklus-Zeitgeber	0 (Standard-einstellung)
Hilfszeitgeber	0	Links zur Methode #	#0

Tabelle 3. Velocity- und Archon-Einstellungen

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

B Instrumentenkalibrierung

Prüfmittel und Standards (d⁶ Benzol ISTD)

Die Kalibrierungsinformation bezieht sich auf den GC/MS Nr.1 mit dem Tekmar Velocity und Solatek.

0,9251 g von 5,023 mg/ml Benzol in Methanol wurde in einen 50 ml Messkolben gefüllt und bis zur Markierung mit Methanol (117,448 µg/l Benzol) aufgefüllt. Diese Lösung wurde im Verhältnis 1:10 reihenverdünnt unter Verwendung einer 5 ml Glaspipette der Klasse A und einem 50 ml Messkolben, um Lösungen herzustellen von 11,745 µg/l Benzol, 1,174 µg/l Benzol und 117 µg/l Benzol. Aliquote Mengen dieser Lösungen wurden zu 10 ml geklärtem, deionisiertem Wasser in 40 ml EPA Glasflaschen gemäß Tabelle 5 hinzugefügt, um Kalibrierungsstandards herzustellen.

Mikroliter-Spritzen der Hamilton 800 Serie wurden verwendet, um die Kalibrierungsstandards zu den in den EPA-Glasflaschen befindlichem Wasser oder Proben hinzuzufügen. Diese Spritzen werden in Tabelle 4 aufgeführt.

Spritzengröße	Modellnummer	Fisher Katalog-Nummer
10 µ	801RNW	14-815-300
25 µL	802RNW	14-815-301
50 µL	805RNW	14-815-302
100 µL	810RNW	14-815-303

Tabelle 4. Bei Zufügen der Standardlösungen zu Glasflaschen verwendeten Spritzen

0,9712 g von 2,015 mg/ml d⁶-Benzol in Methanol wurde in einen 50 ml Messkolben gefüllt und bis zur Markierung mit Methanol (49,460 µg/l d⁶-Benzol) aufgefüllt. Diese Lösung wurde im Verhältnis 1:5 verdünnt unter Verwendung einer 20 ml Glaspipette der Klasse A und einem 100 ml Messkolben, um eine 9892 µg/l d⁶-Benzollösung als internen Standard herzustellen. Die Purge und Trap Autosampler-Methode wurde angewiesen, vor der Klärung 5 µl des internen Standards in jede EPA-Glasflasche zu spritzen.

Diese d⁶-Benzollösung wurde nur für den GC/MS Nr.1 verwendet. Der Solatek Autosampler konnte 5 µl der internen Standardlösung einspritzen. Die anderen (Archon) für diese Analysen verwendeten Autosampler konnten jeweils 1 und 2 µl aliquote Mengen der internen Standardlösung einspritzen und benötigten d⁶-Benzollösungen mit unterschiedlichen Konzentrationen. Die Archons spülten die ISTD mit 10 ml Spülwasser in die Probe.

Einer der Standard-Speicherbehälter des Solatek wurde mit einem Teil der internen Standardlösung gefüllt. Vor Spülung der Probe wurde ein Einspritzventil mit 5 µl der d⁶-Benzollösung gefüllt, die dann mit 10 ml Spülwasser zu der EPA-Glasflasche hinzugefügt wurde.

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

µL of 117 µg/L Benzene	Standard			µL of 1,174 µg/L Benzene	Standard			µL of 11,745 µg/L Benzene	Standard		
	Conc µg/L	Cal Level			Conc µg/L	Cal Level			Conc µg/L	Cal Level	
	10	0.117	1		10	1.17	4		10	11.74	7
	20	0.235	2		20	2.35	5				
	40	0.470	3		40	4.70	6				
µL of 9892 µg/L d ⁶ -Benzene											
	5	4.90	All								

Tabelle 5. Standardvorbereitung für 10 ml Kalibrierungsstandards und Proben

Zusätzlich zu diesen Kalibrierungsstandards wurden 5 und 50 µl der 1,174 µg/l Benzollösung zu den 10 ml aliquoten Mengen gespültem, deionisierten Wasser hinzugefügt. Diese werden hergestellt, um die Prüfproben von 0,59 und 5,87 µg/l Benzol zu kalibrieren.

Schließlich wurde eine Kontrollprobe aus einer unabhängigen Benzolquelle vorbereitet, um zu überprüfen, ob das Instrument gleichbleibende Daten liefert. 100 µl aliquote Mengen von 2000 µg/ml Benzol in Methanol wurden zu 100 ml geklärtem, deionisiertem Wasser hinzugefügt.

Eine 5 µl aliquote Menge der 2000µg/l Benzollösung wurde zu 10 ml geklärtem, deionisiertem Wasser in einer EPA-Glasflasche hinzugefügt, was 1,0 µg/l Benzol erbrachte. Dieser Prüfstandard wurde als unbekannte Probe für die Kalibrierprüfung behandelt sowie um zu gewährleisten, dass alle im Rahmen des Projekts verwendeten Instrumente gleichbleibende Ergebnisse lieferten.

Der Agilent 6890/5973 Nr.1 GC/MS, Tekmar Velocity Purge und Trap Concentrator und Tekmar Solutek Purge und Trap Autosampler wurde mit diesen Standards kalibriert. Die ChemStation wurde mittels einer linearen Passung von Reaktionsverhältnis zu Mengenverhältnis kalibriert. Die ChemStation wurde "angewiesen", dass die interne Standardkonzentration von d6-Benzol 1,0 µg/l für alle Proben umfasst. Dadurch hatte das Mengenverhältnis bei jeder Kalibrierebene denselben Wert der Benzolkonzentration für diese Menge.

Eine Liste der erworbenen Kalibrierstandards ist beigefügt. Bei allen handelt es sich um 1 ml Lösungen in einer versiegelten Ampulle.

- 1- Benzolstandard: Supelco 40004, 5023 µg/ml Benzol in Methanol.
- 2- d6-Benzolstandard: Supelco 48940-U, 2015 µg/ml Benzol in Methanol.
- 3- Prüfprobe für den Benzolstandard: Restek 30249, 2000 µg/ml Benzol.

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

Kalibrierung der Instrumente

Kalibrierungs- und Prüfproben werden hergestellt, indem Mikroliter-Aliquote der Standards aus Tabelle 5 zu 10 ml geklärtem, deionisiertem Wasser in 40 ml EPA-Glasflaschen hinzugefügt werden. 5 µl der internen Standardlösungs-Aliquote werden vom Solatek hinzugefügt. Für andere Instrumente muss die Konzentration des d6-Benzolstandards geändert werden, um die Größe des Aliquots der ISTD-Lösung an den Autosampler anzupassen, die er in die Proben einspritzen kann. Tabelle 5 ist immer noch anwendbar auf die Verdünnung der Benzol-Kalibrierungsstandards.

In Tabelle 6 sind die Kalibrierungsdaten für den 6890/5973/Velocity/Solatek Purge und Trap GC/MS aufgeführt.

Zur Erinnerung: Die tatsächliche d6-Benzolkonzentration beträgt 4,9 µg/l, jedoch wurde die ChemStation angewiesen, dass sie 1 µg/l beträgt, um das Mengenverhältnis an die Benzolkonzentration aneinander anzupassen.

Die ersten und letzten Proben der Kalibrierungsläufe wurden geklärt, und deionisiertes Wasser wurde für die Überprüfung des Hintergrundrauschens des Instruments verwendet. Eine typische Sequenz bei diesen Analysen beginnt mit einer Wasser-Blindprobe, einer 5,87 µg/l Benzol-Prüfprobe und den unbekanntenen Proben mit entweder einer 0,59 oder einer 5,87 µg/l Prüfprobe etwa alle 8 – 10 unbekanntenen Proben. In Diagramm 1 ist die Kalibrierungsdarstellung der ChemStation aufgeführt.

Das folgende Diagramm wurde unter Verwendung der ChemStation-Daten in Excel erstellt.

Sample Name	Benzene Area	Benzene Conc µg/L	d6 Benzene Area	d6 Benzene Area	Benzene Found µg/L
0 µg/L	10942	0.00	1	818157	0.0
0.12 µg/L	32807	0.12	1	817882	0.1
0.24 µg/L	57300	0.24	1	827709	0.3
0.47 µg/L	101968	0.47	1	828011	0.5
1.17 µg/L	221872	1.17	1	818283	1.2
2.35 µg/L	419894	2.35	1	818604	2.2
4.70 µg/L	906480	4.70	1	831742	4.8
11.74 µg/L	2192056	11.74	1	835169	11.7
0 µg/L	17214	0.00	1	825647	0.0
0.59 µg/L Check Sample	123141	0.59	1	833539	0.6
5.87 µg/L Check Sample	1153599	5.87	1	837021	6.1

Tabelle 6. Kalibrierungsdaten für die 0,12 bis 11,74 µg/l Benzolstandards

Chemstation Benzene Calibration

March 13, 2006

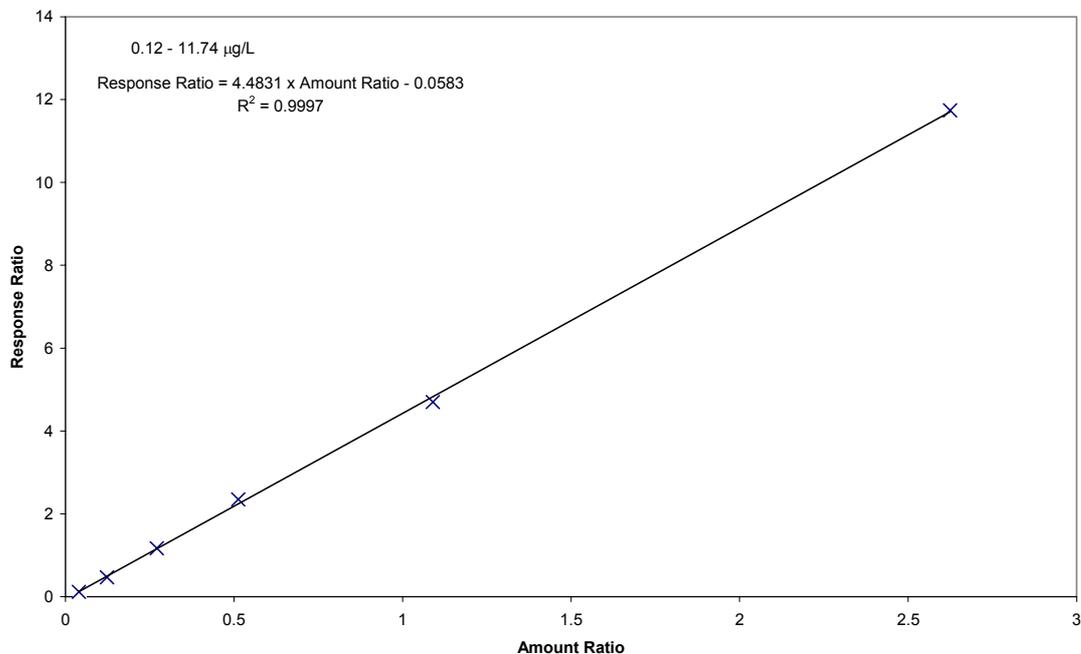


Diagramm 1. Kalibrierungskurve der ChemStation für die 0,12 bis 11,74 µg/l Benzolstandards

Der Hersteller der d6-Benzolstandardlösung beruft sich auf eine Reinheit von 99,9 %. Der interne Standard der 4,9 µg/l d6-Benzollösung konnte bis zu 0,004 µg/l Benzol enthalten. Zusätzlich hat das Massenspektrum von d6-Benzol in der "NIST-Library" eine geringe Menge von m/z 78 und 77.

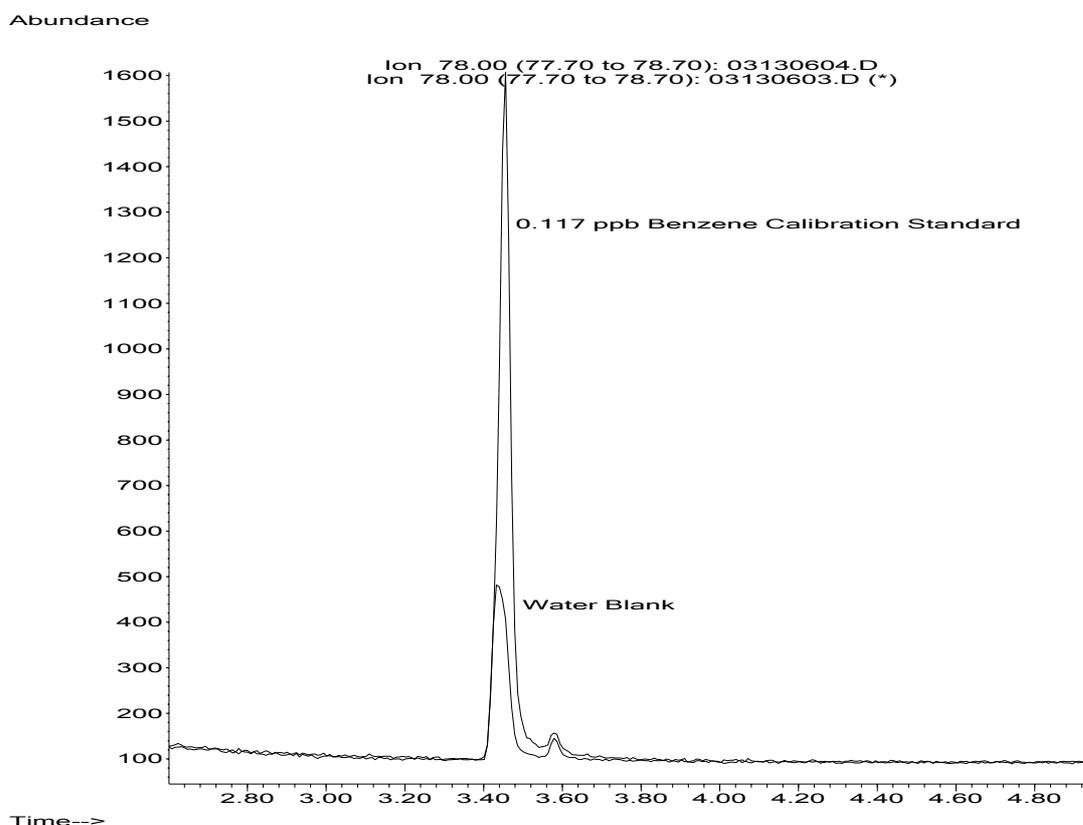


Diagramm 2. Übereinandergelagerte Ionen-Chromatogramme der Blindprobe und des 0.12 µg/l Benzol

Vorbereitung der Proben

10 ml Proben-Aliquote (plus 10 ml Spülwasser) werden direkt in den 40 ml EPA-Glasflaschen geklärt. Die Proben werden mittels einer Pipette in die Glasflaschen gegeben und zum Zwecke der Analyse verschlossen.

Kohlensäurehaltige Getränke (Carbonated beverages, CSDs) neigen zu einem CO₂-Verlust, wenn sie geöffnet werden sowie während der Probenahme mit Pipetten. Dies ist unvermeidbar, und ein gewisser (unbekannter) Verlust an flüchtigen Substanzen kommt vor. Der CO₂-Verlust kann minimiert werden, indem die CSDs über Nacht in einem Kühlschrank oder mehrere Stunden in einem mit Eis gefüllten Eimer gekühlt werden, bevor der Behälter geöffnet wird. Es sollte vermieden werden, den Behälter vor dem Öffnen zu schütteln. Ein vorheriges Anfeuchten des Inneren der Pipette mit einem Aliquot der Probe kann helfen, die Verluste aufgrund der Blasenbildung zu minimieren. Die Pipette muss langsam gefüllt und entleert werden, um den CO₂-Verlust zu minimieren. Die Probe sollte an der Innenwand der 40 ml Flasche entlang laufen, um den Verlust von CO₂ und flüchtigen Substanzen zu reduzieren.

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

Anmerkung:

Fruchtsäfte, die Fruchtfleisch und andere Feststoffe enthalten, können mit dieser Purge-and-Trap-Methode nicht analysiert werden, da sie Leitungen und Ventile verstopfen.

Diese Proben müssen mit einem Headspace-GC/MS analysiert werden.

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

2. Benzolbestimmung in kohlenensäurehaltigen und kohlenensäurefreien Getränken Gas-Chromatografiemethode unter Verwendung von Headspace

1. ANWENDUNGSBEREICH UND ZWECK

Bei dieser Methode handelt es sich um eine Gas-Chromatografiemethode unter Verwendung von Headspace für die Benzolbestimmung in kohlenensäurehaltigen und kohlenensäurefreien Getränken.

2. VERANTWORTLICHKEIT

2.1. Geschulte Labormitarbeiter sind verantwortlich für die Vorbereitung der Prüfstoffe sowie für die Durchführung der Analysen. Sie sind ebenfalls verantwortlich für die ordnungsgemäße Aufzeichnung der Proben und Prüfproben in der korrekten Roh-Datenform. Sie müssen die erhaltenen Ergebnisse kritisch bewerten und die erforderlichen Methoden anwenden, um sich selbst durch Kalibrierungen und Überprüfungen zu kontrollieren.

2.2. Der Labor-Betriebsleiter ist verantwortlich für die Effektivität des Verfahrens. Er/Sie stellt ebenfalls Fachkenntnisse für der Bewertung von Methoden und Ergebnissen bereit.

2.3. Der Laborleiter ist verantwortlich dafür, dass das Labor über die erforderlichen Ressourcen (Ausrüstung und Personal) für die ordnungsgemäße Durchführung der Tests, Überprüfungen und Kalibrierungstätigkeiten verfügt.

3. GRUNDSÄTZE

Die Probe wird in einer geschlossenen Headspace-Glasflasche erhitzt, um ein Gleichgewicht zwischen der Benzolkonzentration im Headspace über der Probe und der Konzentration in der Probe zu erhalten. Vor der eigentlichen Analyse werden kohlenensäurehaltige Proben mit Natriumhydroxid behandelt, um das Kohlendioxid zu neutralisieren. Um die Headspace-Effektivität des Benzols zu erhöhen, wird ein Matrix-Modifizier (Natriumchlorid) der Glasflasche hinzugefügt. Nach Erreichen des Gleichgewichts, wird ein Gas-Aliquot in den Gaschromatografen eingespritzt. Das Benzol wird vor Einspritzen in die Kapillarsäule in einer Kältefalle eingeschlossen, um eine höhere Empfindlichkeit zu erlangen. Die Komponenten werden mittels Massenspektrometrie (MS) in hohem Prüf-Modus ermittelt. Die Bestimmung basiert auf Retentionszeit und dem Vergleich mit der MS-Datenbank. Die Quantifizierung basiert auf der Intensität des Hauptions unter Verwendung einer Vierpunkte-Kalibrierung und der Methode des internen Standards.

4. AUSRÜSTUNG UND GLASWAREN

4.1. Angemessene Laborausrüstung

4.2. Messkolben mit Glasstöpseln

4.3. 20 ml Headspace-Glasflaschen mit magnetischen Crimp Caps

4.4. Finnigan Trace GC- DSQ- Massenspektrometer mit CombiPal Autosampler mit Headspace-Konfiguration (GC210 oder 212)

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

- 4.5. Kapillarsäule: Restek RTX-1 60m * 1 µm df * 0,25 mm ID
- 4.6. Generator für ultrareines Wasser: Millipore MilliQ (PW202 oder 203)
- 4.7. Hamilton Mess-Spritzen (10, 25 und 50 µl)
- 4.8. Hamilton Digital-Spritzen 25 µl
- 4.9. Analysenwaage (AB201, 202 or 203)

5. PRÜFSTOFFE UND LÖSUNGEN

5.1. PRÜFSTOFFE

- 5.1.1. Ultrareines Wasser auf 4 °C gekühlt
- 5.1.2. Benzol (CHBEN92)
- 5.1.3. Benzol-d6 (CHBEN91)
- 5.1.4. Methanol, Purge-und-Trap-Qualität (CHMET05)
- 5.1.5. Natriumhydroxid (CHSOH04)
- 5.1.6. Natriumchlorid (CHSOC05)

5.2. LÖSUNGEN

Es werden ausschließlich Messkolben mit Glasstöpseln verwendet (4.2).

5.2.1. Benzol-Vorratslösung 1000 mg/l (Lösungscod e SL-045-01)

Ein trockener, leerer 50 ml Messkolben mit Glasstöpsel wird auf genau 0,1 mg (m1) auf der Analysenwaage (AB201) ausgewogen. 25 ml Methanol (5.1.4) werden in den Messkolben gegeben, dann wird der Kolben auf die Analysenwaage gestellt und austariert. Unter Verwendung einer Pasteur-Pipette werden +/- 50 mg Benzol (5.1.2) hinzugefügt und das genaue Gewicht bestimmt. (m2). Es muss gewährleistet sein, dass das Benzol direkt dem Methanol zugefügt wird (kein Kontakt mit der Innenfläche). Es wird bis zur Markierung mit Methanol aufgefüllt.

Das Gewicht des Kolbens mit der Lösung und Glasstöpsel muss mit einer Genauigkeit von 0,1 mg bestimmt werden (m3).

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

Die genaue Konzentration des Arbeitsstandards wird wie folgt berechnet:

$$C1 = (m2 / ((m3 - m1) / 0,7915)) * 1000 \text{ (mg/l)}$$

wobei

C1 die Konzentration der Benzol-Vorratslösung ist (mg/l)

m1 die Masse des leeren Kolbens ist (g)

m2 die Masse des Benzols ist (mg)

m3 die Masse des vollen Kolbens ist (g)

0,7915 die Dichte des Methanols ist (20 °C)

Diese Lösung ist drei Monate lang stabil, wenn sie bei -18 °C im Dunkeln gelagert wird. Die Lösung sollte in einem Braunglas gelagert werden.

5.2.2. Benzol-Prüfvorratslösung 1000 mg/l (Lösungscodex SL-045-02)

Die unabhängige Benzol-Prüfvorratslösung 1000 mg/l wird unter Anwendung des unter Ziffer 5.2.1. beschriebenen Verfahrens hergestellt. Diese Lösung ist drei Monate lang stabil, wenn sie bei -18 °C im Dunkeln gelagert wird. Die Lösung sollte in einem Braunglas gelagert werden.

5.2.3. Benzol-Arbeits-Spike-Lösung 2 ppm (Lösungscodex SL-045-03)

Ein trockener, leerer 50 ml Messkolben mit Stöpsel wird auf genau 0,1 mg ausgewogen (m4). +/- 45 ml Methanol werden in den Messkolben gegeben. Mittels einer 0,25 ml Spritze wird 0,1 ml der Benzol-Vorratslösung 1000 mg/l (5.2.1) hinzugefügt. Das Gewicht der hinzugefügten Lösung wird aufgezeichnet (m5). Es wird bis zur Markierung mit Methanol aufgefüllt und das Gewicht des vollen Messkolbens mit Stöpsel wird bestimmt (m6).

Die genaue Konzentration der Arbeits-Spike-Lösung wird wie folgt berechnet:

$$C2 = ((m5) / (m6 - m4)) * C1 \text{ (mg/l)}$$

wobei

C2 die Konzentration der Benzol-Arbeits-Spike-Lösung ist

m4 die Masse des leeren Kolbens ist (g)

m5 die Masse der hinzugefügten Benzol-Prüfvorratslösung 1000 mg/l (mg) ist

m6 die Masse des vollen Kolbens ist (g)

C1 die Konzentration der Benzol-Vorratslösung 1000 mg/l (5.2.1) ist.

Diese Lösung ist einen Monat lang stabil, wenn sie bei -18 °C im Dunkeln gelagert wird. Die Lösung sollte in einem Braunglas gelagert werden.

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

5.2.4. Benzol-Prüf-Spike-Lösung 2 ppm (Lösungscode SL-045-04)

Ein trockener, leerer 50 ml Messkolben mit Stöpsel wird auf genau 0,1 mg ausgewogen (m7). +/- 45 ml Methanol werden in den Messkolben gegeben. Mittels einer 0,25 ml Spritze wird 0,1 ml der Benzol-Prüfvorratslösung 1000 mg/l (5.2.2) hinzugefügt. Das Gewicht der hinzugefügten Lösung wird aufgezeichnet (m8). Es wird bis zur Markierung mit Methanol aufgefüllt und das Gewicht des vollen Messkolbens mit Stöpsel wird bestimmt (m9).

Die genaue Konzentration der Arbeits-Spike-Lösung wird wie folgt berechnet:

$$C3 = ((m8)/(m9-m7)) * Ccontr (mg/l)$$

wobei

C3 die Konzentration der Benzol-Prüf-Spike-Lösung ist

m7 die Masse des leeren Kolbens ist (g)

m8 die Masse der hinzugefügten Benzol-Prüfvorratslösung 1000 mg/l (mg) ist

m9 die Masse des vollen Kolbens ist (g)

Ccontr die Konzentration der Benzol-Prüfvorratslösung 1000 mg/l (5.2.2.) ist.

Diese Lösung ist einen Monat lang stabil, wenn sie bei -18 °C im Dunkeln gelagert wird. Die Lösung sollte in einem Braunglas gelagert werden.

5.2.5. Interne-Standard-Vorratslösung 1000 ppm (Lösungscode SL-045-05)

Ein trockener, leerer 50 ml Messkolben mit Stöpsel wird auf genau 0,1 mg (m10) auf der Analysenwaage ausgewogen. 25 ml Methanol (5.1.5) werden in den Messkolben gegeben. ± 50 mg Benzol-d6 (5.1.3) werden dem Kolben hinzugefügt, und das genaue Gewicht wird bestimmt (m11). Es wird bis zur Markierung mit Methanol aufgefüllt und der Kolben verschlossen. Es muss gewährleistet sein, dass das Benzol direkt dem Methanol zugefügt wird (kein Kontakt mit der Innenfläche).

Das Gewicht des Kolbens mit der Lösung und dem Stöpsel muss mit einer Genauigkeit von 0,1 mg bestimmt werden (m12).

Die genaue Konzentration jedes internen Standards wird wie folgt berechnet:

$$C4 = (m10/((m11-m9)/0.7915))*1000 (mg/l)$$

wobei

C4 die Konzentration der Vorratslösung gemäß internem Standard ist

m9 die Masse des leeren Messkolbens mit Stöpsel ist (g)

m11 die Masse des Messkolbens mit Lösung und Stöpsel ist (g)

m10 die Masse des internen Standards ist (mg)

0.7915 die Dichte des Methanols ist (20 °C)

Diese Lösung ist sechs Monate lang stabil, wenn sie kühl im Dunkeln gelagert wird. Die Lösung sollte in einem Braunglas bei -18 °C im Dunkeln gelagert werden.

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

5.2.6. Interne-Standard-Spike-Solution 1 ppm (Lösungscode SL-045-06)

± 40 ml Methanol (5.1.5) werden in einen 50 ml Messkolben gegeben. Danach werden mittels einer 0,25 ml Spritze 50 µl der Internen-Standard-Vorratslösung (5.2.5) unter die Oberfläche des Methanols gespritzt. Es wird bis zur Markierung mit Methanol aufgefüllt. Diese Lösung ist einen Monat lang stabil, wenn sie im Dunkeln gelagert wird. Die Lösung sollte in einem Braunglas bei - 18 °C im Dunkeln gelagert werden.

5.2.7. VOC-Kalibrierungsstandards (0,4 – 4 ppb) und Prüfstandard 1 ppb

Alle Kalibrierungsstandards müssen mit gekühltem, ultrareinen Wasser hergestellt werden (5.1.1)

Die Kalibrierungsstandards werden wie folgt hergestellt:

5.2.7.1. 0,4 ppb:

+/- 3,5 gr NaCl (5.1.6) werden in einer 20 ml Headspace-Glasflasche ausgewogen. 10 ml gekühltes, ultrareines Wasser werden pipettiert. Dann werden mittels einer 25 µl digitalen Spritze (4.8) 10 µl der Internen-Standard-Spike-Lösung hinzugefügt (5.2.6). 2 µl der Benzol-Arbeits-Spike-Lösung 2 ppm (5.2.3) werden mittels einer 10 µl Spritze hinzugefügt. Die Glasflasche wird sofort mit einer magnetischen Crimp Cap verschlossen.

5.2.7.2. 1 ppb:

+/- 3,5 gr NaCl (5.1.6) werden in einer 20 ml Headspace-Glasflasche ausgewogen. 10 ml gekühltes, ultrareines Wasser werden pipettiert. Dann werden mittels einer 25 µl digitalen Spritze (4.8) 10 µl der Internen-Standard-Spike-Lösung hinzugefügt (5.2.6). 5 µl der Benzol-Arbeits-Spike-Lösung 2 ppm (5.2.3) werden mittels einer 25 µl Spritze hinzugefügt. Die Glasflasche wird sofort mit einer magnetischen Crimp Cap verschlossen.

5.2.7.3. 2 ppb:

+/- 3,5 gr NaCl (5.1.6) werden in einer 20 ml Headspace-Glasflasche ausgewogen. 10 ml gekühltes, ultrareines Wasser werden pipettiert. Dann werden mittels einer 25 µl digitalen Spritze (4.8) 10 µl der Internen-Standard-Spike-Lösung hinzugefügt (5.2.6). 10 µl der Benzol-Arbeits-Spike-Lösung 2 ppm (5.2.3) werden mittels einer 25 µl Spritze hinzugefügt. Die Glasflasche wird sofort mit einer magnetischen Crimp Cap verschlossen.

5.2.7.4. 4 ppb:

+/- 3,5 gr NaCl (5.1.6) werden in einer 20 ml Headspace-Glasflasche ausgewogen. 10 ml gekühltes, ultrareines Wasser werden pipettiert. Dann werden mittels einer 25 µl digitalen Spritze (4.8) 10 µl der Internen-Standard-Spike-Lösung hinzugefügt (5.2.6). 20 µl der Benzol-Arbeits-Spike-Lösung 2 ppm (5.2.3) werden mittels einer 25 µl Spritze hinzugefügt. Die Glasflasche wird sofort mit einer magnetischen Crimp Cap verschlossen.

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

5.2.7.5. Kontr 1 ppb:

+/- 3,5 gr NaCl (5.1.6) werden in einer 20 ml Headspace-Glasflasche ausgewogen. 10 ml gekühltes, ultrareines Wasser werden pipettiert. Dann werden mittels einer 25 µl digitalen Spritze (4.8) 10 µl der Internen-Standard-Spike-Lösung hinzugefügt (5.2.6). 5 µl der Benzol-Kontroll-Spike-Lösung 2 ppm (5.2.4) mittels einer 25 µl Spritze hinzugefügt. Die Glasflasche wird sofort mit einer magnetischen Crimp Cap verschlossen.

5.2.7.6.. Natriumhydroxid 30 %

+/- 60 g Natriumhydroxid (5.1.5) werden in einem sauberen Glasbecher ausgewogen und 200 ml ultrareines Wasser hinzugefügt.

Das Natriumhydroxid wird aufgelöst und auf Zimmertemperatur abekühlt.

6. LAGERUNG DER PROBEN

Die Proben müssen bei 4 °C im Dunkeln gelagert werden.

7. VERFAHREN

7.1. Vorbehandlung der Proben

Im Falle von kohlenstoffhaltigen Proben wird 1 ml Natriumhydroxid 30 % in eine 40 ml Glasflasche gegeben. Danach wird die Glasflasche bis oben mit der Probe gefüllt. Die Flasche wird mit einem PTFE-Septum enthaltenden Schraubverschluss verschlossen.

Kohlenstofffreie Proben werden nicht vorbehandelt.

7.2. Vorbereitung der Proben und Blindproben

+/- 3,5 g NaCl (5.1.6) werden in einer 20 ml Headspace-Glasflasche ausgewogen. 10 ml der Probe werden in die 20 ml Headspace-Glasflasche pipettiert (4.3). 10 µl der Internen-Standard-Spike-Lösung (5.2.6) werden mittels einer 25 µl digitalen Spritze hinzugefügt. Die Glasflasche wird mit einer magnetischen Crimp Cap mit Silikon/PTFE-Septum verschlossen.

Im Falle der Vorbereitung von Blindproben werden 10 ml ultrareines Wasser auf die gleiche Art behandelt wie eine Probe.

7.2. Vorbereitung des Headspace-Autosamplers.

Die Glasflaschen werden auf die Schale des Combipal Headspace-Autosamplers gestellt. Die Glasflaschen müssen in folgender Reihenfolge analysiert werden:

Blindprobe - Kalibrierungsstandards - Blindprobe - Kontrollstandard 1 ppb - Proben - Kontrollstandard 1 ppb.

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

Nach jeder 10. Probe muss ein Kontrollstandard mit 1 ppb analysiert werden. In der Cycle-Composer-Software muss angezeigt werden, welche Glasflaschen analysiert werden sollen, dann wird der Autosampler gestartet. Die Kryo-Kältefalle wird gestartet, sobald die Thermostatisierungs-Zeit fast abgelaufen ist.

7.3. Excalibur-Software

Die Probentabelle wird entsprechend den zu analysierenden Proben ausgefüllt.

Die Proben und Blindproben werden als unbekannt, die Kalibrierungsstandards als Standard markiert. Für die Speicherung der Daten müssen angemessene Dateinamen verwendet werden. Im Feld "Probenname" wird die Probe genau beschrieben. Die korrekte Methode für den Gaschromatografen muss ausgewählt werden. Die Parameter für den Gaschromatografen werden in Anhang 2 beschrieben. Die Probentabelle wird gespeichert und gestartet.

7.4. Kalibrierung

7.5.1. Kalibrierungshäufigkeit

Eine vollständige Kalibrierungskurve muss mindestens einmal in der Woche analysiert werden. Ein Kalibrierungsstandard von 1 ppb muss täglich analysiert werden.

7.5.2. Art der Kalibrierung

Eine lineare Kalibrierungskurve unter Verwendung des internen Standards wird für die Berechnung verwendet.

$$Y=aX+b$$

wobei

Y= der durch A_s/A_i berechnete relative Reaktionsfaktor

Wobei A_s = Benzolbereich in der Probe

A_i = interner Standardbereich in der Probe

X= Benzolkonzentration in der Probe

a= Neigung der linearen Regressionskurve (dY/dX)

b= Intercept

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

8. FORMULIERUNG DER ERGEBNISSE

8.1. Identifizierung und Quantifizierung

Die Identifizierung der Komponenten basiert auf ihren Retentionszeiten und dem Vergleich mit der MS-Datenbank. Tabelle 1 verdeutlicht die indikativen Retentionszeiten der Komponenten.

Diese Retentionszeiten können aufgrund der Alterung der Säule leicht variieren und müssen korrigiert werden. Die Quantifizierung der Komponenten erfolgt automatisch durch die Software unter Anwendung linearer Regression zusammen mit einem Ausgleich durch den internen Standard. Bei der Berechnung der Endergebnisse wird im Falle von kohlen-säurehaltigen Proben ein Korrekturfaktor von 1,025 verwendet (berücksichtigt das Hinzu-fügen von NaOH).

Es ist nicht gestattet, die Werte der Blindproben von den Probenergebnissen zu entfer-nen.

Component name	Retention time	Main ion
Benzene-d8	14,1	84
Benzene	14,17	78

Tabelle 1: Indikative Retentionszeiten der zu quantifizierenden Komponenten

8.2. Vorlage von Ergebnissen

Ergebnisse werden als $\mu\text{g/l}$ ausgedrückt. Ergebnisse unter $0,5 \mu\text{g/l}$ müssen als ' $<0,5 \mu\text{g/l}$ ' vorgelegt werden.

9. REFERENZEN

EPA-Methode 5021A. Flüchtige organische Verbindungen in verschiedenen Probenmatri-zen mittels Gleichgewichts-Headspace-Analyse.

EPA-Methode 8260B. Flüchtige organische Verbindungen mittels Gaschromatogra-fie/Massenspektrometrie.

EPA-Methode 524.2 Messung von klärbaren organischen Verbindungen in Wasser mittels Kapillarsäule Gaschromatografie/Massenspektrometrie.

INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRÜSSEL · TOKIO

Anhang 1: Combipal-Headspace Parameter

Bezeichnung der Methode: VOC-25min-benz

Inkubationstemperatur: 60 °C

Inkubationszeit: 25 Min

Temperatur der Spritze: 90 °C

Rührgeschwindigkeit: 500 rpm

Rührwerk on time: 2 sek

Rührwerk off time: 5 sek

Füllgeschwindigkeit: 250 µl/sek

Einspritzgeschwindigkeit: 15µl/sek

GC-Laufzeit: 30 Min

Anhang 2: GC/MS Parameter

Bezeichnung der Methode: VOC-20-benzene

MS-Parameter:

Dauer der Annahme: 16 Min

Temperatur der Quelle: 280 °C

Scan-Modus: Full scal

Scan-Rate : 750 amu/s

Scan-Umfang: 40-250 amu

GC-Parameter:

Ofenmethode:

Anfangstemp: 40 °C

Anfangszeit: 5 Min

Rate 1: 5 °C/Min

Temp 1: 90 °C

Haltezeit 1: 0 Min

Rate 2: 80 °C/Min

Temp 2: 300 °C

Haltezeit 2: 5 Min

Einspritzmethode:

Einspritztemp: 230 °C

Modus: Splitless

Splitless-Zeit: 6 Min

Split-Fluss: 25 ml/Min

Fließmethode:

Modus: Konstanter Fluss

Fluss: 1 ml/Min

Anhang 3: Beispiel für ein Chromatogramm

RT: 13.22 - 14.99

