

DIN EN 15662

ICS 67.050

Entwurf

Einsprüche bis 2017-04-03
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN 15662:2009-02

**Pflanzliche Lebensmittel –
Multiverfahren zur Bestimmung von Pestizidrückständen mit GC-MS und
LC-MS/MS nach Acetonitril-Extraktion/Verteilung und Reinigung mit
dispersiver SPE –
Modulares QuEChERS-Verfahren;
Deutsche und Englische Fassung prEN 15662:2017**

Foods of plant origin –
Multimethod for the determination of pesticide residues using GC- and LC-based analysis
following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE –
Modular QuEChERS-method;
German and English version prEN 15662:2017

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2017-02-03 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und
Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs
besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an nal@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL), 10772 Berlin, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten
Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 164 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 15662:2017) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 275 *Lebensmittelanalytik – Horizontale Verfahren* erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN (Deutschland) gehalten wird. Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-01-08 AA *Pestizide* des DIN-Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

Dieses Dokument wird DIN EN 15662:2009-02 ersetzen.

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung der prEN 15662 beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Für die in diesem Dokument zitierten Europäischen Technischen Berichte wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Fassungen hingewiesen:

CEN/TR 15641	siehe DIN-Fachbericht CEN/TR 15641
CEN/TR 16699	siehe DIN CEN/TR 16699 DIN SPEC 10669

Änderungen

Gegenüber DIN EN 15662:2009-02 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) eine genauere Unterscheidung zwischen möglichen Untersuchungsmodulen (Tabelle 1 bis Tabelle 5);
- b) die Gelegenheit die angewendeten Untersuchungsmodule (z. B. Extraktions- oder Reinigungsmodule) in einer einfachen Weise anzugeben;
- c) klare Angabe der angewendeten Module für spezielle Matrices (Tabelle 6);
- d) die Optimierung der Extraktionseffizienz durch längere Extraktionsdauer;
- e) die Angabe geeigneter Parameter für die Detektion mit UPLC-MS/MS und GC-MS/MS;
- f) neue Herangehensweise für die Quantifizierung von Pestizidrückständen mit einer vereinfachten Vorgehensweise zur Berechnung der Rückstandsgehalte;
- g) Verweisungen auf die verbesserten Validierungsdaten des Verfahrens (siehe Tabelle 7 und FprCEN/TR 17063).

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

CEN/TR 15641, *Lebensmitteluntersuchung — Bestimmung von Pestizidrückständen mit LC-MS/MS — Parameter für die Tandem-Massenspektrometrie*

CEN/TR 16699, *Lebensmittel — Bestimmung von Pestizidrückständen mit GC-MS/MS — Parameter für die Tandem-Massenspektrometrie*

**Pflanzliche Lebensmittel — Multiverfahren zur Bestimmung von
Pestizidrückständen mit GC-MS und LC-MS/MS nach Acetonitril-
Extraktion/Verteilung und Reinigung mit dispersiver SPE — Modulares
QuEChERS-Verfahren**

Xxx — Xxx — Xxx

Foods of plant origin — Multimethod for the determination of pesticide residues using GC- and LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE — Modular QuEChERS-method

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokument-Stage: CEN-Umfrage
Dokument-Sprache: D
STD Version 2.8f

Inhalt

	Seite
1 Anwendungsbereich.....	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Kurzbeschreibung	4
4 Vorbereitung und Lagerung von Proben	4
4.1 Allgemeines	4
4.2 Laborprobe	5
4.3 Teilweise vorbereitete Untersuchungsprobe	5
4.4 Untersuchungsprobe	5
4.5 Einwaage	6
5 Durchführung.....	6
6 Auswertung der Ergebnisse.....	15
6.1 Identifizierung und Quantifizierung	15
6.2 Kalibrierung	15
6.3 Berechnung der Rückstandskonzentration.....	16
6.4 Validität des Verfahrens	16
7 Absicherungsverfahren.....	22
8 Präzision	22
9 Prüfbericht.....	23
Anhang A (informativ) Beschreibung der Module	24
A.1 Chemikalien aller Extraktions- (E) Reinigungs- (C) und Stabilisierungsmodule (S)	24
A.2 Geräte aller Extraktions- (E) Reinigungs- (C) und Stabilisierungsmodule (S).....	27
A.3 Beschreibung der Extraktionsmodule (E).....	27
A.4 Beschreibung der Reinigungsmodule (C).....	47
A.5 Beschreibung der Module für die Extraktstabilisierung (S).....	55
A.6 Beschreibung der Detektionsmodule (D).....	56
A.7 Beschreibung der Quantifizierungsoptionen (Q)	75
Anhang B (informativ) Ergänzende Informationen	80
B.1 Allgemeines	80
B.2 Herstellung des Puffer-Salzgemisches (A.1.8)	80
B.3 Reagenzien für die Reinigung	80
B.4 Verlängerung der Extraktionszeit.....	80
B.5 Arbeiten ohne Interne Standards	80
B.6 Skalierung	80
B.7 Einstellung des pH-Wertes.....	81
B.8 Wiederfindungsversuche	81
B.9 Reinigung mit Grafitkohle	81
B.10 Lösemittelwechsel bei GC-Bestimmung	81
Literaturhinweise.....	83

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 15662:2017) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 275 *Lebensmittelanalytik - Horizontale Verfahren* erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN 15662:2008 ersetzen.

Gegenüber DIN EN 15662:2009-02 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) eine genauere Unterscheidung zwischen möglichen Untersuchungsmodulen (Tabelle 1 bis Tabelle 5);
- b) die Gelegenheit die angewendeten Untersuchungsmodule (z. B. Extraktions- oder Reinigungsmodule) in einer einfachen Weise anzugeben;
- c) klare Angabe der angewendeten Module für spezielle Matrices (Tabelle 6);
- d) die Optimierung der Extraktionseffizienz durch längere Extraktionsdauer;
- e) die Angabe geeigneter Parameter für die Detektion mit UPLC-MS/MS und GC-MS/MS;
- f) neue Herangehensweise für die Quantifizierung von Pestizidrückständen mit einer vereinfachten Vorgehensweise zur Berechnung der Rückstandsgehalte;
- g) Verweisungen auf die verbesserten Validierungsdaten des Verfahrens (siehe Tabelle 7 und FprCEN/TR 17063).

WARNUNG — Bei der Anwendung dieser Norm ist es möglich, dass gefährliche Substanzen, Arbeitsgänge und Geräte angewendet werden. Diese Norm erhebt nicht den Anspruch, dass alle mit ihrer Anwendung verbundenen Sicherheitsprobleme angesprochen werden. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieser Norm, geeignete Vorkehrungen für den Arbeits- und Gesundheitsschutz zu treffen und vor der Anwendung festzulegen, welche einschränkenden Vorschriften gelten.

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm legt ein Verfahren für die Untersuchung von Pestizidrückständen in Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs fest wie Obst (einschließlich Trockenobst), Gemüse, Getreide und viele verarbeitete Getreideprodukte. Zur Anwendung kommen hier GC, GC-MS(/MS) und/oder LC-MS(/MS). Das Verfahren wurde im Ringversuch mit einer großen Anzahl an Pestizid/Lebensmittel-Kombinationen geprüft. Die Präzisionsdaten sind in FprCEN/TR 17063 zusammengefasst. Richtlinien für die Kalibrierung sind in FprCEN/TS 17061 angegeben.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. 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).

FprCEN/TS 17061:2017, *Lebensmittel — Anleitungen zur Kalibrierung und quantitativer Bestimmung von Pflanzenschutzmittelrückständen und Rückständen organischer Kontaminanten mit chromatographischen Verfahren*

3 Kurzbeschreibung

Die homogene Probe wird mit Acetonitril extrahiert. Proben mit einem geringen Wassergehalt (< 80 %) erfordern vor der anfänglichen Extraktion die Zugabe von Wasser, damit eine Gesamtmenge von etwa 10 g Wasser vorliegt. Nach Zugabe von Magnesiumsulfat, Natriumchlorid und puffernden Citratsalzen wird die Mischung noch einmal kräftig geschüttelt und zur Phasentrennung zentrifugiert. Ein aliquoter Anteil der organischen Phase wird mit dispersiver Festphasenextraktion (D-SPE) aufgereinigt, wobei loses Sorbens sowie Magnesiumsulfat zur Entfernung des Restwassers eingesetzt werden. Nach einer Reinigung mit Aminosorbentien (z. B. Sorbens mit primären und sekundären Aminogruppen, PSA) und gegebenenfalls mit graphitisiertem Kohlenstoff (GCB) oder Octadecylsilane (ODS) werden die Extrakte durch Zugabe einer geringen Menge an Ameisensäure angesäuert, um die Lagerstabilität von bestimmten basenempfindlichen Pestiziden zu verbessern. Der resultierende Extrakt kann direkt zur Bestimmung mit GC und LC eingesetzt werden. Für die Gaschromatographie (GC) sind massenselektive Detektoren (MS bzw. MS/MS) mit einfacher oder hoher Massenauflösung oder andere GC-Detektoren, wie flammenphotometrische Detektoren (FPD) und Elektroneneinfang-Detektoren (ECD) geeignet. Bei der Flüssigchromatographie ist die Kopplung mit Tandem-Massenspektrometern (LC-MS/MS) oder mit hochauflösenden Massenspektrometern besonders geeignet. Die Quantifizierung darf unter Anwendung eines internen Standards erfolgen, der nach der anfänglichen Zugabe von Acetonitril dem Extrakt zugesetzt wird, dies ist jedoch nicht zwingend vorgeschrieben. Bezüglich der Kalibrierung wird auf FprCEN/TS 17061 verwiesen.

4 Vorbereitung und Lagerung von Proben

4.1 Allgemeines

Probenverarbeitungs- und -lagerungsverfahren sollten nachweislich keinen signifikanten Einfluss auf die in der Untersuchungsprobe (manchmal auch „Analysenprobe“ genannt) vorhandenen Rückstände haben. Die Verarbeitung sollte auch sicherstellen, dass die Untersuchungsprobe ausreichend homogen ist, damit keine Fehler bei der Probenentnahme entstehen. Wenn es unwahrscheinlich ist, dass eine einzelne Einwaage die Untersuchungsprobe repräsentiert, müssen größere Mengen oder mehrere einzelne Einheiten analysiert werden, um den wahren Wert besser beurteilen zu können. Der Zerkleinerungsgrad sollte die quantitative Extraktion der Rückstände unterstützen.

4.2 Laborprobe

Eine Laborprobe, die völlig oder stark verdorben oder zersetzt ist, sollte nicht analysiert werden. Wenn möglich, werden die Laborproben unmittelbar nach dem Eintreffen im Labor und auf jeden Fall vor dem Eintreten irgendwelcher merklichen physikalischen oder chemischen Veränderungen untersucht. Falls die Laborprobe nicht ohne Verzögerung bearbeitet werden kann, sollte sie unter geeigneten Bedingungen gelagert werden, um sie frisch zu halten und um ihren Verfall zu vermeiden. Im Allgemeinen sollten Laborproben nicht länger als 3 Tage vor der weiteren Bearbeitung gelagert werden. Getrocknete oder ähnlich behandelte Proben sollten innerhalb ihrer angegebenen Haltbarkeitsdauer untersucht werden.

4.3 Teilweise vorbereitete Untersuchungsprobe

Für die Herstellung der partiell vorbereiteten Untersuchungsprobe wird nur der Anteil der Laborprobe verwendet, für den der Rückstandshöchstgehalt gilt. Weitere Pflanzenteile dürfen nicht entfernt werden.

Die Laborprobe muss so reduziert werden, dass sich daraus repräsentative Einwaagen ergeben (z. B. durch Teilen in vier Teile und Auswahl von gegenüberliegenden Vierteln). Bei kleinstückigen Proben (z. B. kleine Früchte, wie z. B. Beeren, Hülsenfrüchte, Getreide) muss die Probe vor dem Auswiegen der partiell vorbereiteten Untersuchungsprobe unbedingt gut durchgemischt werden. Bei großstückigen Proben werden keilförmige Segmente (z. B. bei Melonen) oder Scheiben (z. B. bei Gurken) herausgeschnitten, die die Haut/Schale (Oberfläche) jedes Stückes einschließen [1].

4.4 Untersuchungsprobe

Von den teilweise vorbereiteten Untersuchungsproben sollten jene Teile entnommen werden, die bei dem Homogenisierungsprozess stören könnten. Im Falle von Steinobst müssen die Steine entfernt werden. Die Masse der Probe vor und nach dem Entfernen der störenden Probenanteile muss notiert werden. Es sollten Vorkehrungen getroffen werden, um jeglichen Verlust von Saft oder festen Probenanteilen zu vermeiden. Die so erhaltene Probe wird als Untersuchungsprobe bezeichnet. Die Berechnung des Rückstands in der Untersuchungsprobe muss sich allerdings auf die ursprüngliche Untersuchungsprobe (einschließlich der Steine) beziehen.

Wenn die Untersuchungsprobe nicht hinreichend homogen ist oder wenn die Extraktion der Rückstände durch große Stücke wesentlich beeinträchtigt werden kann, sollte die Untersuchungsprobe mit geeigneten Mitteln intensiv zerkleinert werden. Das ist bei Raumtemperatur möglich, wenn Fleisch und Saft nicht getrennt werden oder die zu untersuchenden Pestizide nicht signifikant abgebaut werden. Die Zerkleinerung der Proben im gefrorenen Zustand kann Verluste von chemisch instabilen Pestiziden signifikant reduzieren und ergibt meistens kleinere Partikelgrößen und somit einen höheren Grad an Homogenität. Das grobe (z. B. 3 cm × 3 cm) Zerschneiden der Proben mit einem Messer und die Lagerung in einem Gefrierschrank (z. B. über Nacht bei –18 °C) vor der Zerkleinerung unterstützt die nachfolgende Verarbeitung. Die Verarbeitung kann auch durch Tieftemperatur-Mahlen (mit Trockeneis oder flüssigem Stickstoff) unterstützt und verbessert werden, wobei die Temperatur unterhalb von 0 °C gehalten wird. Besonders im Falle von Obst und Gemüse, mit fester Schale (z. B. Tomaten oder Weinbeeren), ist Tieftemperatur-Mahlen viel effektiver für die Homogenisierung als das Mahlen bei Raumtemperatur. Ausgehend von der Tatsache, dass nicht-systemische Pestizide bevorzugt auf der Oberfläche von Proben vorkommen, reduziert Tieftemperatur-Mahlen signifikant die Variabilität der Probenteilung. Wenn die Untersuchungsproben bei niedrigen Temperaturen verarbeitet werden, sollte eine Kondensation von Feuchtigkeit vermieden werden. Übriggebliebenem Kohlendioxid sollte ermöglicht werden, ausreichend zu entweichen, damit dessen Anteil an der Masse der Probe vernachlässigbar ist.

4.5 Einwaage

Einzelne Einwaagen, die jeweils groß genug für eine Untersuchung sind, sollten von der zerkleinerten Untersuchungssprobe entnommen werden. Diese Einwaagen sollten sofort untersucht werden. Falls die Einwaagen nicht direkt untersucht werden können, müssen die Untersuchungssprobe oder die Einwaagen bis zum Gebrauch eingefroren werden. Falls Untersuchungssproben gefroren gelagert wurden, müssen sie vor der Entnahme der Einwaagen zunächst gemischt werden, um die Wiederherstellung der Homogenität sicherzustellen.

5 Durchführung

Die Extraktion wird in den Modulen E1 bis E9 beschrieben. Die erhaltenen Rohextrakte werden in der Regel nach der Extraktion durch die Module C1 bis C5 gereinigt. Diese Reinigungsschritte dürfen aber auch ausgelassen werden, wenn keine störende Matrixbelastung während der Untersuchung mit chromatographischen Verfahren mit den Modulen D1 bis D6 vorliegt. In einigen Fällen konnte die Reinigung durch die Verdünnung der Rohextrakte (Modul C0) ersetzt werden. In der Regel wird vor der Bestimmung eine Extraktstabilisierung (Modul S1) vorgeschaltet.

Die Tabellen 1 bis 4 enthalten eine kurze Beschreibung der Module, Hinweise zur Anwendung und einige Beispiele dazu. Für die Berechnung der Rückstandskonzentrationen in den Probenextrakten sind alle Vorgehensweisen zur Kalibrierung und alle Quantifizierungsverfahren geeignet, die in den Optionen Q1 bis Q7 (Tabelle 6) beschrieben sind.

In der Praxis bewährte Kombinationen von Probenextraktions- und Clean-up-Modulen für Rohextrakte werden für eine Vielzahl von pflanzlichen Lebensmitteln (unverarbeitet und verarbeitet) in der Tabelle 6 aufgeführt.

Tabelle 1 — Extraktion (E)

Modul	Beschreibung	Bevorzugte Anwendung	Beispiele
E1	Extraktion von 10 g Probe mit Acetonitril ohne Wasserzusatz	Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit einem Wassergehalt $\geq 80 \%$	Obst, Gemüse und Säfte
E2	Extraktion von 10 g Probe mit Acetonitril nach Zusatz von (a) 0,6 ml oder (b) 0,2 ml Natrium-hydroxid-Lösung (5 mol/l)	Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit einem Wassergehalt $\geq 80 \%$ und hohen Säuregehalt	(a) Zitronen, Limetten, Johannisbeere (b) Himbeeren, Brombeere
E3	Extraktion von 10 g Probe mit Acetonitril nach Zusatz von (a) 2,5 ml oder (b) 4,5 ml Wasser	Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit mittlerem Wassergehalt ($> 40 \%$ bis $< 80 \%$)	(a) Bananen, Wurzel- und Knollengemüse (Kartoffeln, Yam, Pastinake) (b) Brot, frische Datteln, Esskastanien
E4	Homogenisieren von 13,5 g Probe unter Wasserzugabe, Extraktion des Homogenats mit Acetonitril	Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit geringem Wassergehalt (15 % bis 40 %)	Trockenfrüchte und ähnliche Erzeugnisse
E5	Extraktion von 5 g Probe mit Acetonitril nach Zusatz von 10 ml Wasser	Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit sehr geringem Wassergehalt ($< 15 \%$)	Getreide und Getreideerzeugnisse, sowie Honig
E6	Extraktion von 5 g Probe mit Acetonitril nach Zusatz von 6 ml Wasser	Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit mittlerem Wassergehalt (> 45 bis 80%) und hoher Matrixbelastung oder hohem Fettgehalt ($> 5 \%$)	Knoblauch oder Avocado

Modul	Beschreibung	Bevorzugte Anwendung	Beispiele
E7	Extraktion von 2 g Probe mit Acetonitril nach Zusatz von 10 ml Wasser	Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit sehr geringem Wassergehalt (< 10 %) und hoher Matrixbelastung oder starkem Quellvermögen sowie gefriergetrocknete Produkte	Gewürze, Kaffee, Tabak, Tee, Linsen, gefriergetrocknetes Obst
Extraktion mit Hydrolyse			
E8	Hydrolyse der Ester und Konjugate saurer Pestizide in den Acetonitril-Suspensionen von 10 g Probe mit anschließender Extraktion (vorgeschlagene Referenzmethode für die alkalische Hydrolyse)	Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit neutralem oder sauren pH-Wert mit hohem Wassergehalt ≥ 80 %	Obst und Gemüse, Säfte, Zitronen
E9	Hydrolyse der Ester und Konjugate saurer Pestizide in den Acetonitril-Suspensionen von 2 g bis 5 g Probe mit anschließender Acetonitril-Extraktion (vorgeschlagene Referenzmethode für die alkalische Hydrolyse)	Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit einem geringeren Wassergehalt	Getreide und Getreideerzeugnisse, Knoblauch, Gewürze, Kaffee, Tabak, Tee, Linsen, gefriergetrocknetes Obst

Tabelle 2 — Reinigung (C)

Modul	Beschreibung	Bevorzugte Anwendung	Beispiele
C0	kein Reinigungsschritt	basenempfindliche und saure Pestizide ($pK_a < 5$), die an das in den in Modulen C2 bis C5 verwendete PSA-Sorbens binden, Untersuchung weniger Matrix-belasteter Extrakte	Gurke, Apfel, Extrakte nach ausreichender Verdünnung
C1	Ausfrieren von mitextrahierten Fetten und Wachsen	Entfernung von mitextrahiertem Fett (auch in Kombination mit anderen Reinigungsschritten wie C2, C3, C5)	Getreide, Orange, Zitrone
C2	dispersive SPE mit Aminosorbens (PSA)	Reinigung von Rohextrakten vor der Bestimmung neutraler und basischer Pestizide	Standardprozedur für alle nicht gesondert genannten Erzeugnisse
C3	dispersive SPE mit erhöhtem Anteil an Aminosorbens (PSA)	Reinigung von Rohextrakten aus Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs mit hoher Matrixbelastung vor der Bestimmung neutraler und basischer Pestizide	Rohextrakte aus E5 (z. B. Getreide und Getreideerzeugnisse) und aus E7 (z. B. Kaffee, Tee, trockene Kräuter, Gewürze)
C4	dispersive SPE mit PSA/ODS Gemischen	simultane Reinigung von Rohextrakten und Entfernung von mitextrahiertem Fett	Zitrusfrüchte, Getreide und Getreideerzeugnisse, Avocado, Oliven
C5	dispersive SPE mit PSA/GCB Gemischen	Reinigung von stark gefärbten Rohextrakten vor der Bestimmung neutraler und basischer Pestizide	Eisbergsalat, Kopfsalat, Rucola

Tabelle 3 — Extraktstabilisierung (S)

Modul	Beschreibung	Bevorzugte Anwendung	Beispiele
S0	keine Extraktstabilisierung	säurelabile Analyte	Flazasulfuron, Mesosulfuron, Tribenuron, Triflursulfuron
S1	Extraktstabilisierung mit Ameisensäure	basenlabile und säurestabile Analyte	Mehrzahl aller Analyte

Tabelle 4 — Detektion (D)

Modul	Beschreibung	Bevorzugte Anwendung	Beispiele
D1	LC-MS/MS	Extrakte aus E1 bis E9 nacheinander gereinigt mit C0 bis C5	mit ESI/APCI ionisierbare Analyte in Extrakten aus allen Rohstoffen
D2	LC-HR-MS	Extrakte aus E1 bis E9 nacheinander gereinigt mit C0 bis C5	mit ESI/APCI ionisierbare Analyte in Extrakten aus allen Rohstoffen
D3	GC-MS/MS	Extrakte aus E1 bis E7 nacheinander gereinigt mit C0 bis C5	mit EI/PCI/NCI ionisierbare Analyte in Extrakten aus allen Rohstoffen
D4	GC-MS (incl. ITD und TOF)	Extrakte aus E1 bis E7 nacheinander gereinigt mit C0 bis C5	mit EI/PCI/NCI ionisierbare Analyte in Extrakten aus allen Rohstoffen mit geringer Matrixbelastung
D5	GC-FPD	Extrakte aus E1 bis E7 nacheinander gereinigt mit C1 bis C5	Organophosphor- und schwefelhaltige Verbindungen
D6	GC-ECD	Extrakte aus E1 bis E7 nacheinander gereinigt mit C1 bis C5	Organochlorverbindungen

Die gaschromatographische Bestimmung mit Single-Quadrupol-massenspektrometrischer Detektion (vorzugsweise im SIM-Modus) mit Ion-Trap-Detektoren und mit time-of-flight-massenspektrometrischer Detektion (unabhängig von der MS-Auflösung) ist geeignet für alle Analyten. Untersuchung mit GC-MS ohne Reinigung ist nur möglich, wenn die Extrakte stark verdünnt sind (Modul C0).

Tabelle 5 — Quantifizierung (Q)

Modul	Beschreibung	Bevorzugte Anwendung	Beschreibung
Q1	Berechnung über externe Standards in Lösemittel	Bestimmungen, bei denen Matrixeffekte vermutlich vernachlässigt werden können	Siehe FprCEN/TS 17061:2017, 4.3 und 4.4.2 bis 4.4.5
Q2	Berechnung über externe Standards in Matrix	Bestimmungen, bei denen Matrixeffekte berücksichtigt werden müssen	Siehe FprCEN/TS 17061:2017, 4.3 und 4.4.2 bis 4.4.5
Q3	Berechnung über internen Korrekturstandard und Standards in Lösemittel	Bestimmungen, bei denen Matrixeffekte vermutlich vernachlässigt werden können	Siehe FprCEN/TS 17061:2017, 4.5 und 4.5.1
Q4	Berechnung durch Standard-addition zum Endextrakt	Bestimmungen, bei denen Matrixeffekte berücksichtigt werden müssen und geeignete rückstandsfreie Matrices fehlen	Siehe FprCEN/TS 17061:2017, 4.6.1

Modul	Beschreibung	Bevorzugte Anwendung	Beschreibung
Q5	Berechnung über internen Korrekturstandard und Standards in Matrix oder mit stabilisotop-markiertem internen Standard	Bestimmungen, bei denen Matrixeffekte zur Kompensation einer geringen Wiederfindung berücksichtigt werden müssen	Siehe FprCEN/TS 17061:2017, 4.6.1
Q6	Berechnung durch Standard-addition zur Probe	Bestimmungen, bei denen Matrixeffekte berücksichtigt werden müssen wenn geeignete rückstandsfreie Matrices fehlen oder bei unvollständige Extraktionen von Analyten	Siehe FprCEN/TS 17061:2017, 4.6.2
Q7	Berechnung durch Kalibrierung über das gesamte Verfahren	Bestimmungen, bei denen Matrixeffekte berücksichtigt werden müssen oder bei unvollständigen Extraktionen von Analyten	Siehe FprCEN/TS 17061:2017, 4.7

Tabelle 6 — Bewährte Kombinationen von Extraktions- und Reinigungsmodulen für bestimmte Rohstoffe

Matrix	Extraktion	Beschreibung ^a	Reinigung	Beschreibung ^b	Reinigung (altern.)	Beschreibung ^b
Apfelsaft	E1	10 g/0 ml	C2	PSA ^b 25		
Apfelmus	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Äpfel	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Äpfel (getrocknet)	E4	500 g/850 ml	C2	PSA 25		
Aprikosen	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Aprikosen (getrocknet)	E4	500 g/850 ml	C2	PSA 25		
Aprikosensaft	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Spargel	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Aubergine	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Avocado	E6	5 g/6 ml	C1 + C2	Ausfrieren + PSA 25	C4	PSA 25 + C18 25
Banane	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C2	PSA 25		
Banane, gefriergetrocknet	E7	2 g/10 ml	C2	PSA 25		
Basilikum	E1	10 g/0 ml	C5b	PSA 25 + GCB 7,5 ^c		
Bohnensamen (frisch)	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C2	PSA 25		
Bohnen (getrocknet)	E5	5 g/10 ml	C2	PSA 25		
Rote Bete	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Brombeeren	E2 ^b	10 g/NaOH 2	C2	PSA 25		

Matrix	Extraktion	Beschreibung ^a	Reinigung	Beschreibung ^b	Reinigung (altern.)	Beschreibung ^b
Brombeeren gefriergetrocknet	E7	2 g/10 ml	C2	PSA 25	C3 ^a	PSA 50
Blaubeeren	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Blaubeeren getrocknet (14 % Wasser)	E4	500 g/850 ml	C2	PSA 25		
Blaubeeren gefriergetrocknet	E7	2 g/10 ml	C2	PSA 25	C3 ^a	PSA 50
Brot (34 % bis 43 % Wasser)	E3 ^b	10 g/4,5 ml	C2	PSA 25		
Brotfrucht (70 % Wasser)	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C2	PSA 25		
Broccoli	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Kopfsalat	E1	10 g/0 ml	C5 ^a	PSA 25 + GCB 2,5		
Möhren	E1	10 g/0 ml	C5 ^a	PSA 25 + GCB 2,5		
Möhren, gefriergetrocknet	E7	2 g/10 ml	C2	PSA 25	C5 ^a	PSA 25 + GCB 2,5
Blumenkohl	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Sellerie	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Sellerie	E1	10 g/0 ml	C5 ^a	PSA 25 + GCB 2,5		
Sellerie	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Sellerie gefriergetrocknet	E7	2 g/10 ml	C2	PSA 25	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5
Getreide, Mehl	E5	5 g/10 ml	C1 + C3 ^a	Ausfrieren + PSA 50	C4	PSA 25 + C18 25
Getreide, Korn	E5	5 g/10 ml	C1 + C3 ^a	Ausfrieren + PSA 50	C4	PSA 25 + C18 25
Getreide, Grieß	E5	5 g/10 ml	C1 + C3 ^a	Ausfrieren + PSA 50	C4	PSA 25 + C18 25
Getreide, Flocken	E5	5 g/10 ml	C1 + C3 ^a	Ausfrieren + PSA 50	C4	PSA 25 + C18 25
Kirschen	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Marone (45 % bis 52 % Wasser)	E3 ^b	10 g/4,5 ml	C2	PSA 25		
Chinakohl	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Schnittlauch	E1	10 g/0 ml	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5		
Schnittlauch gefriergetrocknet	E7	2 g/10 ml	C2	PSA 25	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5
Kokosnuss frisch	E6	5 g/6 ml	C2	PSA 25		
Kaffeebohnen	E7	2 g/10 ml	C3 ^b	PSA 75		
Koriander	E1	10 g/0 ml	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5		

Matrix	Extraktion	Beschreibung^a	Reinigung	Beschreibung^b	Reinigung (altern.)	Beschreibung^b
Mais gefriergetrocknet	E7	2 g/10 ml	C2	PSA 25		
Mais, frisch	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C2	PSA 25		
Zucchini	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Kresse	E1	10 g/0 ml	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5		
Salatgurke	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Kultivierte Pilze	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Korinthen	E2 ^a	10 g/NaOH 1	C2	PSA 25		
Korinthen, gefriergetrocknet	E7	2 g/10 ml	C2	PSA 25		
Korinthen, Saft	E2 ^a	10 g/NaOH 1	C2	PSA 25		
Datteln (getrocknet)	E4	500 g/850 ml	C2	25PSA		
Datteln (frisch, 50 % bis 60 % Wasser)	E3 ^b	10 g/4,5 ml	C2	PSA 25		
Durian	E6	5 g/6 ml	C1 + C2	Ausfrieren + PSA 25	C4	PSA 25 + C18 25
Winterendivie	E1	10 g/0 ml	C5 ^a	PSA 25 + GCB 2,5		
Feige getrocknet	E4	500 g/850 ml	C2	PSA 25		
Pilz getrocknet (z. B. Shitake, boletus)	E5	5 g/10 ml	C2	PSA 25		
Knoblauch (59 % Wasser)	E6	5 g/6 ml	C2	PSA 25		
Ingwer (79 % Wasser)	E6	5 g/6 ml	C2	PSA 25		
Ginkgosamen (55 % Wasser)	E3 ^b	10 g/4,5 ml	C2	PSA 25		
Artischocke	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Stachelbeeren	E2 ^b	10 g/NaOH 2	C2	PSA 25		
Traubenblätter	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C2	PSA 25		
Traubenblätter	E1	10 g/0 ml	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5		
Grapefruit	E1	10 g/0 ml	C1 + C2	Ausfrieren + PSA 25		
Trauben	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Weißkohl	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Kräuter getrocknet	E7	2 g/10 ml	C2	PSA 25	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5
Honig	E5	5 g/10 ml	C2	PSA 25		

Matrix	Extraktion	Beschreibung ^a	Reinigung	Beschreibung ^b	Reinigung (altern.)	Beschreibung ^b
Honigmelone	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Rettich	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C2	PSA 25		
Jackfrucht (74 % Wasser)	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C2	PSA 25		
Kohl	E1	10 g/0 ml	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5		
Kiwi	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Kochbanane	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C2	PSA 25		
Kohlrabi	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Feldsalat	E1	10 g/0 ml	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5		
Lauch	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Lauch gefriergetrocknet	E7	2 g/10 ml	C2	PSA 25		
Zitronengras, frisch (71 % Wasser)	E6	5 g/6 ml	C2	PSA 25		
Zitronensaft	E2 ^a	10 g/NaOH 1	C2	PSA 25		
Zitrone	E2 ^a	10 g/NaOH 1	C1 + C2	Ausfrieren + PSA 25		
Linse (getrocknet)	E5	5 g/10 ml	C2	PSA 25		
Limettensaft	E2 ^a	10 g/NaOH 1	C2	PSA 25		
Limetten	E2 ^a	10 g/NaOH 1	C1 + C2	Ausfrieren + PSA 25		
Lotuswurzel (79 % Wasser)	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C2	PSA 25		
Lotussamen	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C2	PSA 25		
Lotussamen getrocknet (14 % Wasser)	E5	5 g/10 ml	C2	PSA 25		
Mandarinen	E1	10 g/0 ml	C1 + C2	Ausfrieren + PSA 25		
Mango	E1	10 g/0 ml	C5 ^a	PSA 25 + GCB 2,5		
Mango gefriergetrocknet	E7	2 g/10 ml	C2	PSA 25	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5
Mirabelle	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Nektarines	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Olive	E6	5 g/6 ml	C1 + C2	Ausfrieren + PSA 25	C4	PSA 25 + C18 25
Zwiebel	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Orange	E1	10 g/0 ml	C1 + C2	Ausfrieren + PSA 25		
Papaya	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		

Matrix	Extraktion	Beschreibung^a	Reinigung	Beschreibung^b	Reinigung (altern.)	Beschreibung^b
Petersilie	E1	10 g/0 ml	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5		
Pastinake	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C2	PSA 25		
Pfirsich	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Pfirsich, gefriergetrocknet	E7	2 g/10 ml	C2	PSA 25		
Erbsen	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Erbsen, (getrocknet)	E5	5 g/10 ml	C2	PSA 25		
Erbsen, gefriergetrocknet	E7	2 g/10 ml	C2	PSA 25		
Pfeffer, gefriergetrocknet	E7	2 g/10 ml	C2	PSA 25	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5
Pfeffer, green, yellow	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Pfeffer, red	E1	10 g/0 ml	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5		
Pfefferminze frisch	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5		
Pfefferminze frisch (78 % Wasser)	E6	5 g/6 ml	C2	PSA 25		
Ananas	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Ananas, gefriergetrocknet	E7	2 g/10 ml	C2	PSA 25		
Pflaume	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Pflaume (getrocknet)	E4	500 g/850 ml	C2	PSA 25		
Kartoffel	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Kartoffel	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C2	PSA 25		
Kürbis	E1	10 g/0 ml	C5 ^a	PSA 25 + GCB 2,5		
Quitte	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Rettich	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Rosinen	E4	500 g/850 ml	C2	PSA 25		
Himbeere	E2 ^b	10 g/NaOH 2	C2	PSA 25		
Rotkohl	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Rhabarber	E2 ^b	10 g/NaOH 2	C2	PSA 25		
Rhabarbersaft	E2 ^b	10 g/NaOH 2	C2	PSA 25		
Rucola	E1	10 g/0 ml	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5		
Römersalat	E1	10 g/0 ml	C5 ^a	PSA 25 + GCB 2,5		

Matrix	Extraktion	Beschreibung ^a	Reinigung	Beschreibung ^b	Reinigung (altern.)	Beschreibung ^b
Rosmarin (68 % Wasser)	E6	5 g/6 ml	C2	PSA 25		
Rosmarin, frisch	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C2	PSA 25		
Salbei, frisch	E6	5 g/6 ml	C2	PSA 25		
Salbei, frisch	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5		
Schwarzwurzel	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Wirsing	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Schalotte	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Schalotte, gefriergetrocknet	E7	2 g/10 ml	C2	PSA 25		
Grüne Minze	E1	10 g/0 ml	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5		
Gewürze	E7	2 g/10 ml	C2	PSA 25		
Spinat	E1	10 g/0 ml	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5		
Erdbeeren	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Erdbeeren gefriergetrocknet	E7	2 g/10 ml	C2	PSA 25	C3 ^a	PSA 50
Süßkartoffel	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C2	PSA 25		
Tamarinde (31 % Wasser)	E4	500 g/850 ml	C2	PSA 25		
Taro	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C2	PSA 25		
Tee	E7	2 g/10 ml	C3 ^b	PSA 75		
Thymian, frisch	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C5 ^b	PSA 25 + GCB 7,5		
Thymian, frisch (65 % Wasser)	E6	5 g/6 ml	C2	PSA 25		
Tomaten	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Tomaten getrocknet (14,5 % Wasser)	E4	500 g/850 ml	C2	PSA 25		
Gemüse	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Dicke Bohne (mit Hülse)	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C2	PSA 25		
Weizenkeim (47 % Wasser)	E3 ^b	10 g/4,5 ml	C2	PSA 25		
Wein	E1	10 g/0 ml	C2	PSA 25		
Yams	E3 ^a	10 g/2,5 ml	C2	PSA 25		

a Das Volumen in ml bezieht sich auf die Zugabe von Wasser; NaOH 1 bedeutet die Zugabe von 0,6 ml NaOH (5 mol/l); NaOH 2 bedeutet die Zugabe von 0,2 ml von NaOH (5 mol/l)

b Die Zahlen beziehen sich auf das Gewicht in Milligramm PSA (Primary secondary amine sorbent) und/oder GCB (Graphitized carbon black) je Milliliter Extrakt

6 Auswertung der Ergebnisse

6.1 Identifizierung und Quantifizierung

Eine Reihe von Parametern können verwendet werden, um die Analyten im Probenextrakt zu identifizieren, so beispielsweise:

- die Retentionszeit (en: retention time, R_t) des in Frage kommenden Analyten, oder sogar besser, die relative Retentionszeit berechnet gegen den internen Standard ISTD ($R_{t(A)}/R_{t(ISTD)}$) aus demselben Chromatogramm;
- die Peakform des Analyten;
- im Falle von MS oder MS/MS-Detektion, die relative Intensität von gleichzeitig aufgenommenen Signalen bzw. Übergängen (im Allgemeinen sind 2 SRM-Übergänge bei der MS/MS und 3 Ionen für die MS-Detektion erforderlich); siehe auch [2], [3], [4].

Die Parameter für den im Probenextrakt zu bestimmenden Analyten werden mit den Parametern verglichen, die für die Pestizide in der (den) Kalibrierlösung(en) erhalten wurden. Ist zur Identifizierung der Analyten eine weitere Absicherung erforderlich, können zusätzliche Maßnahmen notwendig sein, wie z. B. das Anwenden anderer chromatographischer Trennbedingungen oder das Miteinbeziehen zusätzlicher m/z - oder SRM-Übergänge. Bzgl. weiterer Informationen zu erforderlichen Identifizierungskriterien (z. B. die empfohlene höchste Toleranz für Ionenverhältnisse mit verschiedenen MS-Techniken) siehe EU „Quality control guidelines“, die im SANTE-Dokument [5] beschrieben sind. Tabelle A.1 listet die ISTDs auf, die verwendet werden können. Die Verwendung von mehr als einem ISTD gibt dem Anwender eine höhere Sicherheit, falls eine der ISTDs gestört sein sollte.

Zur Prüfung der Linearität und zur Erstellung der Kalibrierfunktion für jede aktive Substanz werden Standardlösungen verwendet. Die Verwendung von „matrix-matched“-Standardlösungen wird bevorzugt, allerdings kann auch die Standardlösung in reinem Lösemittel für die Abschätzung des Rückstandsgehaltes im Lebensmittel verwendet werden oder auch, um die Abwesenheit der Rückstände zu zeigen. Standardlösungen in reinem Lösemittel können auch für die Quantifizierung verwendet werden, wenn Vorversuche zeigen, dass beobachtete Unterdrückungs- oder Verstärkungseffekte das Ergebnis nicht signifikant beeinflussen. So bald relevante Rückstandsgehalte detektiert werden (z. B. vermutete MRL-Überschreitungen), sollte eine genauere Bestimmung mit matrix-matched-Standardlösungen oder die Standard-Additionsmethode verwendet werden.

ANMERKUNG Matrixeffekte beeinflussen den Response der Zielanalyten im Probenextrakt verglichen mit dem Response der Standardlösungen in reinem Lösemittel.

Der Kalibrierbereich sollte dem zu quantifizierenden Rückstandsgehalt entsprechen. Daher kann es erforderlich sein, mehr als eine Kalibriergerade aus den Ergebnissen der Kalibriermessungen zu erstellen.

Diese Norm enthält die Option, einen internen Standard für die Quantifizierung und Identifizierung zu verwenden. Dennoch ist es möglich, ohne ISTD zu quantifizieren. Ohne ISTD wird das Volumen der Acetonitrilphase als identisch zu dem Volumen des der Probe zugesetzten Acetonitrils (10 ml) angenommen.

6.2 Kalibrierung

Messsysteme (z. B. LC-MS/MS oder GC-MS(/MS)) werden nach FprCEN/TS 17061 oder der “EU-quality control guideline” beschrieben in SANTE 11945/2015 [5] kalibriert. Eine geeignete Kalibrierung sollte aus einer der Quantifizierungsoptionen Q1 bis Q7 in A.7 ausgewählt werden.

6.3 Berechnung der Rückstandskonzentration

Der Massenanteil w_R jeder identifizierten aktiven Substanz hängt von der Massenkonzentration der Probe im Endextrakt ρ_a nach Anwendung der Reinigungsmodule (C0 bis C5) ab und von der Massenkonzentration ρ_R dieser Substanz im diesem Extrakt (bestimmt nach einer der Optionen Q1 bis Q7 in A.7). Er wird in mg/kg angegeben und wird nach Gleichung (1) berechnet:

$$w_R = \frac{\rho_R}{\rho_a} \quad (1)$$

Dabei ist

ρ_R die Massenkonzentration der aktiven Substanz im Endextrakt (Option Q) in $\mu\text{g/ml}$;

ρ_a die Massenkonzentration der Probe im Endextrakt nach der Reinigung (Modul C), in g/ml .

6.4 Validität des Verfahrens

Die Wiederfindungen, aus Untersuchungen (Aufstockgehalte 0,01 mg/kg bis 0,25 mg/kg) betrugen üblicherweise zwischen 70 % und 110 %.

Ringversuche deckten eine Vielzahl an Analyten in repräsentativen Matrices ab (üblicherweise Salatgurken, Zitrone, Weizenmehl und Rosinen). Des Weiteren wurden zahlreiche individuelle Validierungsuntersuchungen durchgeführt. Alle Validierungsdaten, die von den Laboratorien zur Verfügung gestellt wurden, sind im Datenpool der Referenzlaboratorien der Europäischen Unionen enthalten [6].

Die Validität des Verfahrens wurde als bestätigt angenommen, wenn für jede Lebensmittel/Pestizid-Kombination mindestens zwei Laboratorien unabhängig voneinander Validierungsuntersuchungen an derselben Matrix mit zwei identischen Aufstockungslevels mit mindestens fünf Wiederholungen je Level durchgeführt wurden und dabei eine Wiederfindung zwischen 70 % und 120 % erhalten wurde. Des Weiteren musste die relative Standardabweichung kleiner oder gleich 20 % für beide Aufstockgehalte in jedem Laboratorium betragen. FprCEN/TR 17063 enthält alle wichtigen Pestizide, die diese Bedingungen für mindestens eine Matrixgruppe erfüllen.

Tabelle 7 zeigt die bestätigten Präzisionsdaten des Verfahrens für spezifische Analyte und Matrixgruppen.

Tabelle 7 — Präzisionsdaten

Nr.	Analyt	CAS-No.	Matrixgruppe (siehe [2])			
			Hoher Wassergehalt	Hoher Wassergehalt und hoher Säuregehalt	Geringer Wassergehalt und hoher Stärkeanteil	Geringer Wassergehalt und hoher Zuckeranteil
1	2,4-D	94-75-7	x	x	x	x
2	Acephate	30 560-19-1	x	x	x	x
3	Acetamiprid	135 410-20-7	x	x	x	x
4	Acrinathrin	101 007-06-1	x	x	x	x
5	Aldicarb	116-06-3	x	x	x	x
6	Avermectin B1a	65 195-55-3	x	x	x	x
7	Azinphos-methyl	86-50-0	x	x	x	x
8	Azoxystrobin	131 860-33-8	x	x	x	x

Nr.	Analyt	CAS-No.	Matrixgruppe (siehe [2])			
			Hoher Wasser- gehalt	Hoher Wassergehalt und hoher Säuregehalt	Geringer Wassergehalt und hoher Stärkeanteil	Geringer Wassergehalt und hoher Zuckeranteil
9	Benalaxyl	71 626-11-4	x	x	x	x
10	Bifenthrin	82 657-04-3	x	x	x	x
11	Biphenyl	92-52-4	x	x	x	x
12	Bitertanol	70 585-36-3	x			
13	Boscalid	188 425-85-6	x	x	x	x
14	Bromopropylate	18 181-80-1	x	x	x	x
15	Bromoxynil	1 689-84-5	x	x	x	x
16	Bromuconazole	116 255-48-2	x	x	x	x
17	Bupirimate	41 483-43-6	x	x	x	x
18	Buprofezin	69 327-76-0	x	x	x	x
19	Carbaryl	63-25-2	x	x	x	x
20	Carbendazim	10 605-21-7	x	x	x	x
21	Carbofuran	1 563-66-2	x	x	x	x
22	Carbofuran, 3-hydroxy-	16 655-82-6	x	x	x	x
23	Carboxin	5 234-68-4	x	x	x	x
24	Chlorfenapyr	122 453-73-0	x	x	x	x
25	Chlorfenvinphos	470-90-6	x			
26	Chlorpropham	101-21-3	x			
27	Chlorpyrifos (ethyl)	2 921-88-2	x	x		
28	Chlorpyrifos-methyl	5 598-13-0	x	x	x	x
29	Chlorthal-dimethyl	1 861-32-1	x	x	x	x
30	Clofentezine	74 115-24-5	x	x	x	x
31	Clomazone	81 777-89-1	x	x	x	x
32	Clothianidin	210 880-92-5	x	x	x	x
33	Cyazofamid	120 116-88-3	x	x	x	x
34	Cyfluthrin	68 359-37-5	x	x		
35	Cyhalothrin, lambda-	91 465-08-6	x	x		
36	Cymoxanil	57 966-95-7	x	x	x	x
37	Cypermethrin	52 315-07-8	x	x		
38	Cyproconazole	94 361-06-5	x	x	x	x
39	Cyprodinil	121 552-61-2	x	x	x	x
40	DDD, p,p-	72-54-8	x			
41	DDE, p,p-	72-55-9	x			

Nr.	Analyt	CAS-No.	Matrixgruppe (siehe [2])			
			Hoher Wasser- gehalt	Hoher Wassergehalt und hoher Säuregehalt	Geringer Wassergehalt und hoher Stärkeanteil	Geringer Wassergehalt und hoher Zuckeranteil
42	Deltamethrin	52 918-63-5	x			
43	Demeton-S-methyl sulphon	17 040-19-6	x	x	x	x
44	Diazinon	333-41-5	x			
45	Dichlorprop-P	15 165-67-0	x	x	x	x
46	Dichlorvos	62-73-7	x	x	x	x
47	Dicloran	99-30-9	x	x	x	x
48	Dicrotophos	3 735-78-3	x	x	x	x
49	Dieldrin	60-57-1	x	x	x	x
50	Diethofencarb	87 130-20-9	x	x	x	x
51	Difenoconazole	119 446-68-3	x	x	x	x
52	Diflubenzuron	35 367-38-5	x	x	x	
53	Dimethoate	60-51-5	x	x	x	x
54	Dimethomorph	110 488-70-5	x	x	x	
55	Diniconazole	83 657-24-3	x	x	x	x
56	Diphenylamine	122-39-4	x	x		x
57	Diuron	330-54-1	x	x	x	x
58	Endosulfan sulfate	1 031-07-8	x	x	x	x
59	Endosulfan, alpha-	33 213-66-0	x	x	x	x
60	Endosulfan, beta-	33 213-65-9	x	x	x	x
61	Epoxiconazol	133 855-98-8	x	x	x	x
62	Ethofumesate	26 225-79-6	x	x	x	x
63	Ethoprophos	13 194-48-4	x	x	x	x
64	Etofenprox	80 844-07-1	x	x	x	x
65	Etridiazol	2 593-15-9	x	x	x	x
66	Famoxadone	131 807-57-3	x	x	x	x
67	Fenamidone	161 326-34-7	x	x	x	x
68	Fenarimol	60 168-88-9	x	x	x	x
69	Fenazaquin	120 928-09-8	x	x	x	x
70	Fenbuconazole	114 369-43-6	x	x	x	x
71	Fenhexamid	126 833-17-8	x	x	x	x
72	Fenitrothion	122-14-5	x	x	x	x
73	Fenoxycarb	79 127-80-3	x	x	x	x

Nr.	Analyt	CAS-No.	Matrixgruppe (siehe [2])			
			Hoher Wasser- gehalt	Hoher Wassergehalt und hoher Säuregehalt	Geringer Wassergehalt und hoher Stärkeanteil	Geringer Wassergehalt und hoher Zuckeranteil
74	Fenpropathrin	64 257-84-7	x	x	x	x
75	Fenpropidin	67 306-00-7	x	x	x	x
76	Fenpropimorph	67 306-03-0	x	x	x	x
77	Fenpyroximate	111 812-58-9	x	x	x	x
78	Fenthion	55-38-9	x	x	x	x
79	Fenvalerate	51 630-58-1	x	x	x	x
80	Fipronil	120 068-37-3	x	x	x	x
81	Flonicamid	158 062-67-0	x	x	x	x
82	Fluazifop	69 335-91-7	x	x	x	x
83	Fluazifop (P) (free acid)	83 066-88-0	x	x	x	x
84	Fludioxonil	131 341-86-1	x	x	x	x
85	Flufenoxuron	101 463-69-8	x	x	x	x
86	Fluopicolid	239 110-15-7	x	x	x	x
87	Fluquinconazole	136 426-54-5	x			
88	Flusilazole	85 509-19-9	x	x	x	x
89	Flutolanil	66 332-96-5	x	x	x	x
90	Flutriafol	76 674-21-0	x	x	x	x
91	Fluvalinate	69 409-94-5	x			
92	Formetanate	22 259-30-9	x	x	x	x
93	Haloxyfop-P	95 977-29-0	x	x	x	x
94	Hexachlorobenzene (HCB)	118-74-1	x			
95	Hexaconazole	79 983-71-4	x	x	x	x
96	Hexythiazox	78 587-05-0	x	x	x	x
97	Imazalil	35 554-44-0	x	x	x	x
98	Imidacloprid	138 261-41-3	x	x	x	x
99	Indoxacarb	173 584-44-6	x	x	x	x
100	Iprodione	36 734-19-7	x	x	x	x
101	Iprovalicarb	140 923-17-7	x	x	x	x
102	Isofenphos-methyl	99 675-03-3	x	x	x	x
103	Kresoxim-methyl	143 390-89-0	x	x		
104	Linuron	330-55-2	x	x	x	x
105	Lufenuron	103 055-07-8	x	x		

Nr.	Analyt	CAS-No.	Matrixgruppe (siehe [2])			
			Hoher Wassergehalt	Hoher Wassergehalt und hoher Säuregehalt	Geringer Wassergehalt und hoher Stärkeanteil	Geringer Wassergehalt und hoher Zuckeranteil
106	Malaoxon	1 634-78-2	x	x	x	x
107	Malathion	121-75-5	x	x	x	x
108	Mandipropamid	374 726-62-2	x	x	x	x
109	MCPA	94-74-6	x	x	x	x
110	Mepanipyrim	110 235-47-7	x	x	x	x
111	Metalaxyl	57 837-19-1	x	x	x	x
112	Metamitron	41 394-05-2	x	x	x	x
113	Methamidophos	10 265-92-6	x	x	x	x
114	Methidathion	950-37-8	x	x	x	x
115	Methiocarb	2 032-65-7	x	x	x	x
116	Methiocarb-sulfone	2 179-25-1	x		x	x
117	Methiocarb-sulfoxid	2 635-10-1	x	x	x	x
118	Methomyl	16 752-77-5	x	x	x	x
119	Methoxyfenozide	161 050-58-4	x	x	x	x
120	Metolachlor (S-)	51 218-45-2	x	x	x	x
121	Metrafenone	220 899-03-6	x	x	x	x
122	Metribuzin	21 087-64-9	x	x	x	x
123	Monocrotophos	6 923-22-4	x	x	x	x
124	Myclobutanil	88 671-89-0	x	x		
125	Omethoate	1 113-02-6	x	x	x	x
126	Oxadiazon	19 666-30-9	x			
127	Oxadixyl	77 732-09-3	x	x	x	x
128	Oxamyl	23 135-22-0	x	x	x	x
129	Paraaxon-methyl	950-35-6	x	x	x	x
130	Parathion	56-38-2	x			
131	Parathion-methyl	298-00-0	x			
132	Penconazole	66 246-88-6	x	x	x	x
133	Pencycuron	66 063-05-6	x	x	x	x
134	Pendimethalin	40 487-42-1	x	x	x	x
135	Permethrin	52 645-53-1	x			
136	Phenmedipham	13 684-63-4	x	x	x	x
137	Phenylphenol, 2-	90-43-7	x	x	x	x
138	Phosalone	2 310-17-0	x			
139	Phosmet	732-11-6	x			

Nr.	Analyt	CAS-No.	Matrixgruppe (siehe [2])			
			Hoher Wasser- gehalt	Hoher Wassergehalt und hoher Säuregehalt	Geringer Wassergehalt und hoher Stärkeanteil	Geringer Wassergehalt und hoher Zuckeranteil
140	Phoxim	14 816-18-3	x	x	x	x
141	Piperonyl butoxide	51-03-6	x	x	x	x
142	Pirimicarb	23 103-98-2	x	x	x	x
143	Pirimicarb, desmethyl-	30 614-22-3	x	x	x	x
144	Pirimiphos-methyl	29 232-93-7	x	x	x	x
145	Procymidone	32 809-16-8	x	x		
146	Profenofos	41 198-08-7	x	x	x	x
147	Propamocarb hydrochloride	24 579-73-5	x	x	x	x
148	Propargite	2 312-35-8	x	x	x	x
149	Propiconazole	60 207-90-1	x	x	x	x
150	Propoxur	114-26-1	x	x	x	x
151	Propyzamide	23 950-58-5	x	x	x	x
152	Prosulfocarb	52 888-80-9	x	x	x	x
153	Prothiofos	34 643-46-4	x			
154	Pymetrozine	123 312-89-0			x	x
155	Pyraclostrobin	175 013-18-0	x	x	x	x
156	Pyridaben	96 489-71-3	x	x		
157	Pyrifenox	88 283-41-4	x	x	x	x
158	Pyrimethanil	53 112-28-0	x	x	x	x
159	Pyriproxyfen	95 737-68-1	x	x	x	x
160	Quinalphos	13 593-03-8	x	x	x	x
161	Quinoxifen	124 495-18-7	x	x	x	x
162	Quintozone (PCNB)	82-68-8	x	x	x	x
163	Spinosyn A	131 929-60-7	x	x	x	x
164	Spinosyn D	131 929-63-0	x	x	x	x
165	Spirodiclofen	148 477-71-8	x	x	x	x
166	Spiroxamine	118 134-30-8	x	x	x	x
167	Tebuconazole	107 534-96-3	x	x	x	x
168	Tebufenozide	112 410-23-8	x	x	x	x
169	Tebufenpyrad	119 168-77-3	x	x	x	x
170	Teflubenzuron	83 121-18-0	x			
171	Tefluthrin	79 538-32-2	x	x	x	x
172	Tepraloxydim	149 979-41-9	x	x	x	x

Nr.	Analyt	CAS-No.	Matrixgruppe (siehe [2])			
			Hoher Wassergehalt	Hoher Wassergehalt und hoher Säuregehalt	Geringer Wassergehalt und hoher Stärkeanteil	Geringer Wassergehalt und hoher Zuckeranteil
173	Tetraconazole	112 281-77-3	x	x	x	x
174	Tetradifon	116-29-0	x	x	x	x
175	Tetramethrin	51 384-90-4	x			
176	Thiabendazole	148-79-8	x	x	x	x
177	Thiacloprid	111 988-49-9	x	x	x	x
178	Thiamethoxam	153 719-23-4	x	x	x	x
179	Tolclofos-methyl	57 018-04-9	x	x	x	x
180	Tolyfluanid	731-27-1	x	x		x
181	Triadimefon	43 121-43-3	x	x	x	x
182	Triadimenol	55 219-65-3	x			x
183	Triazophos	24 017-47-8	x			
184	Tricyclazole	41 814-78-2	x			
185	Trifloxystrobin	141 517-21-7	x	x	x	x
186	Triflumizole	68 694-11-1	x	x	x	x
187	Triflumuron	64 628-44-0	x	x	x	x
188	Trifluralin	1 582-09-8	x			
189	Vinclozolin	50 471-44-8	x	x	x	x
190	Zoxamide	156 052-68-5	x	x	x	x

7 Absicherungsverfahren

Die Absicherung des Gehaltes Quantität umfasst die Untersuchung einer zweiten Einwaage und muss durchgeführt werden, wenn die erste Untersuchung eine vermutliche Grenzwertüberschreitung anzeigt. Mehr Information über die Absicherung der Identität ist in [2] enthalten.

8 Präzision

Einzelheiten über den Ringversuch zur Ermittlung der Präzision des Verfahrens sind in FprCEN/TR 17063 zusammengefasst. Die Werte aus dem Ringversuch sind nicht unbedingt auf andere Konzentrationsbereiche der Pestizide und Matrices anwendbar als die in FprCEN/TR 17063 angegebenen.

9 Prüfbericht

Der Prüfbericht muss mindestens die folgenden Angaben enthalten:

- alle notwendigen Informationen zur Identifizierung der Probe;
- eine Verweisung auf diese Europäische Norm;
- die Ergebnisse und die Einheiten, in denen sie angegeben werden;
- das Datum und die Art der Probenahme (wenn bekannt);
- das Datum des Probeneingangs im Labor;
- das Datum der Untersuchung;
- alle Besonderheiten, die während der Untersuchung festgestellt wurden;
- alle Arbeitsschritte, die nicht in diesem Verfahren beschrieben sind, wahlweise vorgenommen wurden und das Ergebnis möglicherweise beeinflusst haben.

Anhang A (informativ)

Beschreibung der Module

A.1 Chemikalien aller Extraktions- (E) Reinigungs- C) und Stabilisierungsmodule (S)

A.1.1 Allgemeines und Sicherheitsaspekte

Wenn nicht anders angegeben, werden Chemikalien bekannter Reinheit verwendet. Jede Vorsichtsmaßnahme muss ergriffen werden, um mögliche Kontamination von Wasser, Lösemittel, Sorbentien oder anorganischen Salzen zu vermeiden.

WARNUNG — Bei der Anwendung dieser Europäischen Norm ist es möglich, dass gefährliche Substanzen, Arbeitsgänge und Geräte angewendet werden. Diese Norm erhebt nicht den Anspruch, dass alle mit ihrer Anwendung verbundenen Sicherheitsprobleme angesprochen werden. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieser Norm, geeignete Vorkehrungen für den Arbeits- und Gesundheitsschutz zu treffen und vor der Anwendung festzulegen, welche einschränkenden Vorschriften gelten.

HAFTUNGSAUSSCHLUSSEKLÄRUNG — In dieser Norm werden verschiedenen Produkte und Geräte mit Herstellerbezeichnung angeführt, die handelsüblich und für das beschriebene Verfahren geeignet sind. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieser Europäischen Norm und bedeutet keine Anerkennung der genannten Produkte durch CEN. Gleichwertige Produkte dürfen verwendet werden, wenn sie nachweisbar zu identischen Ergebnissen führen.

A.1.2 Interne Standard- und Qualitätskontrollstandardlösungen in Acetonitril, $\rho = 10 \mu\text{g/ml}$ bis $50 \mu\text{g/ml}$:

Tabelle A.1 listet mögliche interne Standards (ISTDs) und Qualitätskontroll-(QC)-Standardlösungen auf, die in diesem Verfahren verwendet werden dürfen. Die vorgeschlagen Konzentrationswerte (CISTD) beziehen sich auf die ISTD-Lösungen, die im ersten Extraktionsschritt zugegeben werden sollten. Diese Lösung ($C_{\text{ISTD}}^{\text{cal mix}}$) sollte dann für die Herstellung der Standardlösung geeignet verdünnt werden.

A.1.3 Acetonitril, HPLC Reinheitsgrad.

A.1.4 Magnesiumsulfat wasserfrei, gekörnt, z. B. Fluka Nr. 63135:

Im Magnesiumsulfat enthaltene Phthalate dürfen im Muffelofen bei 550°C (z. B. über Nacht) entfernt werden.

A.1.5 Natriumchlorid.

A.1.6 Dinatriumhydrogencitrat Sesquihydrat.

A.1.7 Trinatriumcitrat Dihydrat.

A.1.8 Puffer-Salzgemisch für die zweite Extraktion und Verteilung:

$4 \text{ g} \pm 0,2 \text{ g}$ wasserfreies Magnesiumsulfat (A.1.4), $1 \text{ g} \pm 0,05 \text{ g}$ Natriumchlorid (A.1.5), $1 \text{ g} \pm 0,05 \text{ g}$ Trinatriumcitrat Dihydrat (A.1.7) und $0,5 \text{ g} \pm 0,03 \text{ g}$ Dinatriumhydrogencitrat Sesquihydrat (A.1.6) werden in ein Zentrifugenröhrchen (A.2.4) eingewogen. Diese Mengen beziehen sich auf etwa 10 ml Wasser

in der Probe. Es dürfen auch kommerziell erhältliche Puffer-Salzgemische mit dieser Zusammensetzung verwendet werden.

ANMERKUNG Es wird empfohlen, eine hinreichende Anzahl an Puffersalz-Mischungen im Voraus vorzubereiten, damit die Extraktionsreihe schnell und ohne Unterbrechungen durchgeführt werden kann.

A.1.9 Natriumhydroxid-Lösung, Stoffmengenkonzentration $c = 5 \text{ mol/l}$:

2 g Natriumhydroxid werden in etwa 5 ml Wasser gelöst und auf 10 ml verdünnt.

A.1.10 Kaltes Wasser ($< 4 \text{ °C}$).

A.1.11 Trockeneis.

A.1.12 Schwefelsäure, $c = 2,5 \text{ mol/l}$ (5 N):

25 g konzentrierte Schwefelsäure (18 mol/l) werden in 50 ml Wasser gelöst und auf 100 ml aufgefüllt.

A.1.13 Magnesiumsulfat wasserfrei, feinkörnig:

Im Magnesiumsulfat enthaltene Phthalate dürfen gegebenenfalls im Muffelofen bei 550 °C (z. B. über Nacht) entfernt werden.

A.1.14 Amino-Phase mit primären und sekundären Aminogruppen: z. B. Bondesil-PSA[®] 40 μm , Varian Nr. 12213023¹⁾:

Andere Aminosorbentien dürfen verwendet werden, es können jedoch Untersuchungen erforderlich sein, um die Gleichwertigkeit insbesondere bezüglich Analytverluste und des pH-Wertes der Endextrakte nachzuweisen.

A.1.15 C18-Festphase, C18-Umkehrphasen-Adsorbens, Octadecyl, endcapped (ODS ec/C18 ec), z. B. Agilent 5982-5752 oder Macherey-Nagel 730611¹⁾.

A.1.16 Sorbens aus graphitisiertem Kohlenstoff (en: graphitised carbon black, GCB), z. B. Supelco Supelclean Envi-Carb^{®1)} SPE-Bulk Packing, Nr. 57210U.

Andere graphitisierte Kohlenstoffsorbentien dürfen verwendet werden, es sind jedoch möglicherweise Untersuchungen erforderlich, um die Gleichwertigkeit insbesondere bezüglich Analytverluste und des pH-Wertes der Endextrakte nachzuweisen.

A.1.17 Ameisensäure-Lösung in Acetonitril, Volumenkonzentration $\varphi = 5 \text{ ml Ameisensäure/100 ml}$:

0,5 ml konzentrierte Ameisensäure (Massenanteil $w > 95 \text{ %}$) werden mit 10 ml Acetonitril (A.1.3) gemischt.

1) Bondesil PSA[®] ist ein Produkt, das von Varian, Inc. (Palo Alto, CA, USA) geliefert wird. Envi Carb[®] ist ein Produkt, das von Supelco geliefert wird. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieser Europäischen Norm und bedeutet keine Anerkennung der genannten Produkte durch CEN. Gleichwertige Produkte dürfen verwendet werden, wenn sie nachweisbar zu identischen Ergebnissen führen.

Tabelle A.1 — Mögliche interne Standardlösungen (ISTDs) oder Qualitätskontrollstandardlösungen (QC)

Wirkstoff	Log P ^a	Chlor- atome	ρ^b [µg/ml] C _{ISTD}	GC				LC	
				ECD	NPD	FPD	MS/MS or MSD EI (+)	MS/MS ESI (+)	MS/MS ESI (-)
Mögliche interne Standards									
PCB 18 ^{c,d}	5,55	3	50	+++	—	—	++	—	—
PCB 28 ^{c,d}	5,62	3	50	+++	—	—	++	—	—
PCB 52 ^{c,d}	6,09	4	50	+++	—	—	++	—	—
Triphenylphosphate ^d	4,59	—	20	—	+++	+++	+++	+++	—
Tris-(1,3-dichlorisopro- pyl)-phosphate	3,65	6	50	+++	+++	+++	+++	+++	+
Triphenylmethane ^d	5,37	—	10	—	—	—	+++	—	—
2,4-D ¹³ C ₆ (ring)	je nach pH	2	10	—	—	—	—	—	+++
Chlorpyrifos D10 (diethyl D10) ^d	4,7	3	10	+++	+++	+++	+++	+++	—
Diuron D6 (dimethyl D6)	2,9	2	10	—	—		—	+++	—
Diazinon D10 (diethyl D10)	3,8	-	20	++	+++	+++	+++	+++	—
Metalaxyl D6 (dimethyl D6)	1,65	0	10	—	++	—	+++	+++	—
N,N'-Bis-4-nitro- phenyl) urea (BNPU) ^e	3,76	-	10	—	—	—	—	—	+++
Mögliche Qualitätskontrollstandardlösungen (dürfen in der selben Mischung wie die anderen ISTDs enthalten sein oder bei einem anderen Schritt zugefügt werden, um Störungen und Fehler zu identifizieren und lokalisieren)									
PCB 138 ^{d,f}	6,83	6	50	+++	—	—	+++	—	—
PCB 153 ^{d,f}	7,75	6	50	+++	—	—	+++	—	—
Anthracen (oder D10 Anthracen) ^{e,g}	4,45	—	100	—	—	—	—	—	—
a Octanol/Wasser Verteilungskoeffizient b Vorgeschlagene Konzentration; Lösemittel: Acetonitril c Nicht geeignet, wenn Graphitkohle während der Reinigung verwendet wird d Nicht geeignet für die Extraktion von Erntegütern mit hohem Fettgehalt unter Verwendung von Modul E6 e Bestandteil von Nicarbazin f Wiederfindungsraten von PCB 138 und 153 erniedrigen sich mit höherem Fettgehalt der Probe. Wenn die Wiederfindung dieser internen Standards > 70 % beträgt, sind die Verluste von fettlöslichen Pestiziden im akzeptablen Bereich. g Wenn die Wiederfindung von Anthracen > 70 % beträgt, sind die Verluste von planaren Pestiziden während der Reinigung mit Graphitkohle im akzeptablen Bereich.									

A.2 Geräte aller Extraktions- (E) Reinigungs- (C) und Stabilisierungsmodule (S)

Übliche Laborgeräte und insbesondere Folgendes:

A.2.1 Zentrifugenröhrchen mit Schraubdeckeln, 50 ml: z. B. a) aus Polytetrafluorethylen mit Schraubdeckeln oder b) 50 ml Polypropylen-Zentrifugenröhrchen zur einmaligen Verwendung mit Schraubdeckeln.

A.2.2 Lösemittel-Dispenser für Acetonitril, 10 ml, für das Dosieren des Extraktionslösemittels.

A.2.3 Automatische Pipetten, geeignet für das Handhaben von Volumen von 10 µl bis 100 µl, 200 µl bis 1000 µl und 1 ml bis 10 ml, oder 10 ml graduierte Pipetten aus Glas.

A.2.4 Polypropylen-Einmal-Zentrifugenröhrchen mit Schraubdeckeln, 10 ml oder 12 ml.

A.2.5 Schüttler, Horizontal- oder Vertikalschüttler, 200 min⁻¹.

A.2.6 Zentrifuge, geeignet für die verwendeten Zentrifugenröhrchen (A.2.1, A.2.4), die mindestens eine relative Zentrifugalbeschleunigung von 3 000 g erreichen kann.

A.2.7 Hochtouriger Dispergierstab, der Stabdurchmesser sollte passend für die Öffnungen der Zentrifugenröhrchen (A.2.1) sein.

A.2.8 Zerkleinerungsgerät, z. B. Stephan UM 5 universal.

A.2.9 Temperierbarer Schüttler, z. B. AGYTAX SR1 CP57 (Fa. Cirtalab, Spanien).

A.2.10 Gefrierschrank, zum Einsatz bei –18 °C bis –25 °C).

A.2.11 Injektionsgläschen, 1,5 ml, geeignet für GC und LC Autosampler, falls erforderlich mit Mikro-einsätzen.

A.2.12 Schraubdeckelgläschen, 10 ml oder 20 ml mit Schraubverschluss für die Aufbewahrung nicht verwendeten Endextrakts, falls erforderlich.

A.2.13 Vortex-Mischer.

A.3 Beschreibung der Extraktionsmodule (E)

A.3.1 Modul E1: Extraktion von 10 g Probe ohne Wasserzusatz mit Acetonitril

A.3.1.1 Kurzbeschreibung

Dieses Extraktionsmodul wird für Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit einem Wassergehalt > 80 % verwendet, wie Obst, Gemüse und Säfte. Tabelle 6 zeigt die Lebensmittel auf, für die dieses Extraktionsmodul vorzugsweise verwendet wird. Das homogene Untersuchungsmaterial wird (möglichst) in gefrorenem Zustand mit Acetonitril extrahiert. Nach Zugabe von Magnesiumsulfat, Natriumchlorid sowie Citratsalzen zum Puffern (auf pH 5 bis pH 5,5) wird die Mischung noch einmal kräftig geschüttelt und danach zur Phasentrennung zentrifugiert. Ein Aliquot der Acetonitrilphase wird abgetrennt und gegebenenfalls gereinigt (Module C).

A.3.1.2 Durchführung

A.3.1.2.1 Einwaage

Eine repräsentative Einwaage von 10,0 g ± 0,1 g (m_s) der gemischten homogenen Probe wird in ein 50-ml-Zentrifugenröhrchen (A.2.1) eingewogen.

A.3.1.2.2 Optionale ISTD-Zugabe

Eine definierte kleine Menge der ISTD-Lösung (A.1.2) ($V_{\text{ISTD}}^{\text{S}}$, z. B. 100 µl) mit einer oder mehreren der Verbindungen in den exemplarisch gegebenen Mengen (C_{ISTD}) aus Tabelle A.1 wird zugegeben

A.3.1.2.3 Erste Extraktion

10,0 ml Acetonitril (A.1.3) (V_{Ex}) werden zugegeben. Das Zentrifugenröhrchen wird dicht verschlossen und das Gemisch 15 min ggf. mithilfe eines Schüttlers (A.2.5) kräftig geschüttelt.

Bei nicht ausreichend zerkleinerten Untersuchungsproben kann die Extraktion durch einen Homogenisierstab (A.2.7) (z. B. Ultra-Turrax) unterstützt werden. Hierzu wird der Homogenisierstab in die Probe/Acetonitrilmischung getaucht und diese wird etwa 2 min mit hoher Drehzahl gemischt. Sollte bereits eine ISTD-Lösung zugegeben worden sein, ist das Abspülen des Homogenisierstabes nicht notwendig. Trotzdem muss er vor der nächsten Probe sorgfältig gereinigt werden, um Kreuzkontamination zu vermeiden.

Proben (außer trockene Proben mit Wassergehalten von < 20 %) sollten in gefrorenem Zustand oder während des Auftauens extrahiert werden. Sollten Proben bei Raumtemperatur extrahiert werden, muss sichergestellt werden, dass keine signifikanten Verluste der Analyten erfolgen.

A.3.1.2.4 Zweite Extraktion und Verteilung

Die aus A.3.1.2.3 erhaltene Suspension wird mit dem vorbereiteten Puffer-Salzgemisch (A.1.8) versetzt. Das Zentrifugenröhrchen wird fest verschlossen und der Inhalt sofort 1 min kräftig von Hand bzw. 3 min mit einem Schüttler (A.2.5) geschüttelt und anschließend 5 min in einer Zentrifuge bei > 3 000 g zentrifugiert.

Die überstehende Acetonitrilphase wird unverzüglich abgetrennt und der Rohextrakt nach einem geeigneten Reinigungsmodul C weiterbehandelt.

In Gegenwart von Wasser neigt Magnesiumsulfat zur Bildung von Klumpen, die schnell hart werden können. Das kann vermieden werden, indem das Zentrifugenröhrchen unmittelbar nach der Zugabe der Salzmischung einige Sekunden kräftig geschüttelt wird. Die einminütige oder dreiminütige Extraktion des gesamten Ansatzes darf nach der Salzzugabe zu sämtlichen Proben parallel durchgeführt werden.

A.3.1.3 Auswertung

Die Massenkonzentration der Probe im Rohextrakt $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ gibt an, aus welcher Masse Untersuchungsmaterial die Pestizidrückstände in einem bestimmten Extraktvolumen extrahiert wurden. Üblicherweise wird $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ in g/ml angegeben und nach Gleichung (A.1) berechnet:

$$\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}(\text{g/ml}) = \frac{m_{\text{S}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.1})$$

Dabei ist

m_{S} die Masse der Einwaage, in g;

V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml).

Die Massenkonzentration des ISTD im Rohextrakt $\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Rohextrakt}}$ wird nach Gleichung (A.2) berechnet:

$$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Rohextrakt}}(\mu\text{g/ml}) = \frac{\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}} \times V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.2})$$

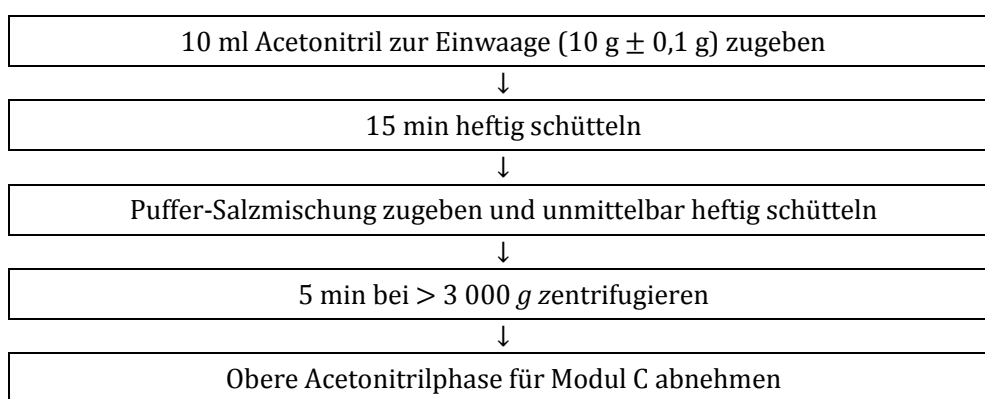
Dabei ist

$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ die Massenkonzentration der zugesetzten ISTD-Lösung, in $\mu\text{g/ml}$;

$V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ das zugesetzte Volumen der zugesetzten ISTD-Lösung, in ml;

V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml).

A.3.1.4 Ablaufschema von Modul E1



A.3.2 Modul E2: Extraktion von 10 g Einwaage ohne Wasserzusatz mit Acetonitril, unter Zugabe von (a) 0,6 ml oder (b) 0,2 ml 5 mol/l Natriumhydroxid-Lösung

A.3.2.1 Kurzbeschreibung

Dieses Extraktionsmodul wird für saures Pflanzenmaterial und saure Lebensmittel mit einem Wassergehalt von über 80 % verwendet. Bei stark sauren Lebensmitteln ($\text{pH} < 3$) wie Zitronen werden 0,6 ml 5 mol/l Natronlauge zugesetzt, bei weniger sauren Lebensmitteln wie Himbeeren 0,2 ml. Tabelle 6 zeigt die Lebensmittel auf, für die dieses Extraktionsmodul vorzugsweise verwendet wird.

Das homogenisierte Untersuchungsmaterial wird (möglichst) in gefrorenem Zustand mit Acetonitril extrahiert. Nach Zugabe von Natriumhydroxid-Lösung, Magnesiumsulfat, Natriumchlorid sowie von und Citratsalzen zum Puffern (auf pH 5 bis pH 5,5) wird die Mischung noch einmal kräftig geschüttelt und zur Phasentrennung zentrifugiert. Ein Aliquot der organischen Phase wird abgetrennt und gegebenenfalls gereinigt (Module C).

A.3.2.2 Durchführung

A.3.2.2.1 Einwaage

Eine repräsentative Einwaage von $10,0 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ (m_s) der gemischten homogenisierten Probe wird in ein 50-ml-Zentrifugenröhrchen (A.2.1) eingewogen.

A.3.2.2.2 Optionale ISTD-Zugabe

Eine definierte kleine Menge der ISTD-Lösung (A.1.2) (V_{ISTD}^S , z. B. 100 μl) in mit einer oder mehreren der Verbindungen aus Tabelle A.1 zugeben.

A.3.2.2.3 Erste Extraktion

10,0 ml Acetonitril (A.1.3) (V_{Ex}) und entweder a) 0,6 ml (Modul E2a) oder b) 0,2 ml (Modul E2b) der 5 mol/l Natriumoxidlösung (A.1.9) werden nach Tabelle 6 zugegeben. Das Zentrifugenröhrchen wird dicht verschlossen und das Gemisch 15 min ggf. mithilfe eines Schüttlers (A.2.5) kräftig geschüttelt.

Bei nicht ausreichend zerkleinerten Untersuchungsproben kann die Extraktion durch einen Homogenisierstab (A.2.7) (z. B. Ultra-Turrax) unterstützt werden. Hierzu wird der Homogenisierstab in die Probe/Acetonitrilmischung getaucht und diese wird etwa 2 min mit hoher Drehzahl gemischt. Sollte bereits eine ISTD-Lösung zugegeben worden sein, ist das Abspülen des Homogenisierstabes nicht notwendig. Trotzdem muss er vor der nächsten Probe sorgfältig gereinigt werden, um Kreuzkontamination zu vermeiden.

Proben (außer trockene Proben mit Wassergehalten von unter 20 %) sollten in gefrorenem Zustand oder während des Auftauens extrahiert werden. Sollten Proben bei Raumtemperatur extrahiert werden, muss sichergestellt werden, dass keine signifikanten Verluste der Analyten erfolgen.

A.3.2.2.4 Zweite Extraktion und Verteilung

Die aus A.3.2.2.3 erhaltene Suspension wird mit dem vorbereiteten Puffer-Salzgemisch (A.1.8) versetzt. Das Zentrifugenröhrchen wird fest verschlossen und der Inhalt sofort 1 min kräftig von Hand bzw. 3 min mit einem Schüttler (A.2.5) geschüttelt und anschließend 5 min in einer Zentrifuge bei $> 3\,000\,g$ zentrifugiert.

Die überstehende Acetonitrilphase wird unverzüglich abgetrennt und der Rohextrakt nach einem geeigneten Reinigungsmodul C weiterbehandelt.

In Gegenwart von Wasser neigt Magnesiumsulfat zur Bildung von Klumpen, die schnell hart werden können. Das kann vermieden werden, indem das Zentrifugenröhrchen unmittelbar nach der Zugabe der Salzmischung einige Sekunden kräftig geschüttelt wird. Die einminütige oder dreiminütige Extraktion des gesamten Ansatzes darf nach der Salzzugabe zu sämtlichen Proben parallel durchgeführt werden.

A.3.2.3 Auswertung

Die Massenkonzentration der Probe im Rohextrakt $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ gibt an, aus welcher Masse Untersuchungsmaterial die Pestizidrückstände in einem bestimmten Extraktvolumen extrahiert wurden. Üblicherweise wird $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ in g/ml angegeben und nach Gleichung (A.3) berechnet:

$$\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}(\text{g/ml}) = \frac{m_{\text{Probe}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.3})$$

Dabei ist

m_{Probe} die Masse der Einwaage, in g;

V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml).

Die Massenkonzentration des ISTD im Rohextrakt $\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Rohextrakt}}$ wird nach Gleichung (A.4) berechnet:

$$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Rohextrakt}} (\mu\text{g/ml}) = \frac{\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}} \times V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.4})$$

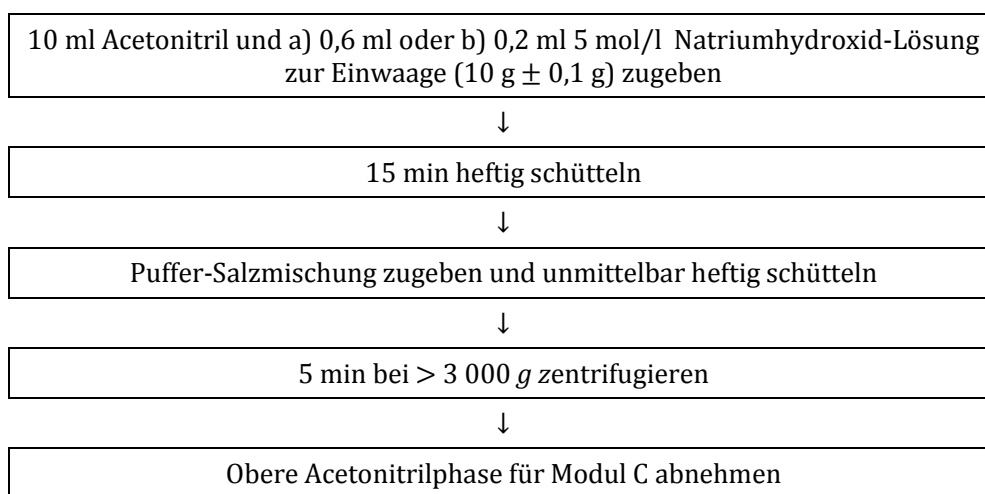
Dabei ist

$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ die Massenkonzentration der zugesetzten ISTD-Lösung, in $\mu\text{g/ml}$;

$V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ das zugesetzte Volumen der zugesetzten ISTD-Lösung, in ml;

V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml).

A.3.2.4 Ablaufschema von Modul E2



A.3.3 Modul E3: Extraktion von 10 g Probe mit Acetonitril nach Zusatz von (a) 2,5 ml oder (b) 4,5 ml Wasser

A.3.3.1 Kurzbeschreibung

Dieses Extraktionsmodul wird für Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit einem geringeren Wassergehalt (Wassergehalt zwischen 40 % und 80 %) verwendet, wie zum Beispiel Bananen oder frische Datteln. Tabelle 6 zeigt die Lebensmittel auf, für die dieses Extraktionsmodul vorzugsweise verwendet wird.

Das homogenisierte Untersuchungsmaterial wird durch Wasserzusatz auf einen ungefähren Wassergehalt von 10 g im Extraktionsansatz ergänzt. Es wird (möglichst) in gefrorenem Zustand mit Acetonitril extrahiert. Nach Zugabe von Magnesiumsulfat, Natriumchlorid sowie Citratsalzen zum Puffern (auf pH 5 bis pH 5,5) wird die Mischung noch einmal kräftig geschüttelt und zur Phasentrennung zentrifugiert. Ein Aliquot der organischen Phase wird abgetrennt und gegebenenfalls gereinigt (Modul C).

A.3.3.2 Durchführung

A.3.3.2.1 Einwaage und Wasserzugabe

Eine repräsentative Einwaage von $10,0 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ (m_s) der gemischten homogenisierten Probe wird in ein 50-ml-Zentrifugenröhrchen (A.2.1) eingewogen.

Für Proben mit Wassergehalten zwischen 40 % und 80 % wird eine ausreichende Menge an kaltem Wasser (A.1.10) zugegeben, so dass ein Gesamtwassergehalt von rund 10 g resultiert. Je nach Lebensmittel (vergleiche Tabelle 6) werden dazu a) 2,5 ml (Modul E3a) oder b) 4,5 ml (Modul E3b) Wasser zugesetzt.

A.3.3.2.2 Optionale ISTD-Zugabe

Eine definierte kleine Menge der ISTD-Lösung (A.1.2 (V_{ISTD}^S , z. B. 100 μl) mit einer oder mehrerer der Verbindungen in den exemplarisch gegebenen Mengen C_{ISTD} nach Tabelle A.1 wird zugegeben.

A.3.3.2.3 Erste Extraktion

10,0 ml Acetonitril (A.1.3) (V_{Ex}) werden zugegeben. Das Zentrifugenröhrchen wird dicht verschlossen und das Gemisch 15 min ggf. mithilfe eines Schüttlers (A.2.5) kräftig geschüttelt.

Bei nicht ausreichend zerkleinerten Untersuchungsproben kann die erste Extraktion durch einen Homogenisierstab (A.2.7) (z. B. Ultra-Turrax) unterstützt werden. Hierzu wird der Homogenisierstab in die Probe/Acetonitrilmischung getaucht und diese wird etwa 2 min mit hoher Drehzahl gemischt. Sollte bereits eine ISTD-Lösung zugegeben worden sein, ist das Abspülen des Homogenisierstabes nicht notwendig. Trotzdem muss er vor der nächsten Probe sorgfältig gereinigt werden, um Kreuzkontamination zu vermeiden.

Proben (außer trockene Proben mit Wassergehalten von $< 20 \%$) sollten in gefrorenem Zustand oder während des Auftauens extrahiert werden. Sollten Proben bei Raumtemperatur extrahiert werden, muss sichergestellt werden, dass keine signifikanten Verluste der Analyten erfolgen.

A.3.3.2.4 Zweite Extraktion und Verteilung

Die aus A.3.2.2.3 erhaltene Suspension wird mit dem vorbereiteten Puffer-Salzgemisch (A.1.8) versetzt. Das Zentrifugenröhrchen wird fest verschlossen und der Inhalt sofort 1 min kräftig von Hand bzw. 3 min mit einem Schüttler (A.2.5) geschüttelt und anschließend 5 min in einer Zentrifuge bei $> 3\,000 \text{ g}$ zentrifugiert.

Die überstehende Acetonitrilphase wird unverzüglich abgetrennt und der Rohextrakt nach einem geeigneten Reinigungsmodul C weiterbehandelt.

In Gegenwart von Wasser neigt Magnesiumsulfat zur Bildung von Klumpen, die schnell hart werden können. Das kann vermieden werden, indem das Zentrifugenröhrchen unmittelbar nach der Zugabe der Salzmischung einige Sekunden kräftig geschüttelt wird. Die einminütige oder dreiminütige Extraktion des gesamten Ansatzes darf nach der Salzzugabe zu sämtlichen Proben parallel durchgeführt werden.

A.3.3.3 Auswertung

Die Massenkonzentration der Probe im Rohextrakt $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ gibt an, aus welcher Masse Untersuchungsmaterial die Pestizidrückstände in einem bestimmten Extraktvolumen extrahiert wurden. Üblicherweise wird $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ in g/ml angegeben und nach Gleichung (A.5) berechnet:

$$\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}(\text{g/ml}) = \frac{m_{\text{Probe}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.5})$$

Dabei ist

m_{Probe} die Masse der Einwaage der Probe, in g;

V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml).

Die Massenkonzentration des ISTD im Rohextrakt $\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Rohextrakt}}$ wird nach Gleichung (A.6) berechnet:

$$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Rohextrakt}}(\mu\text{g/ml}) = \frac{\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}} \times V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.6})$$

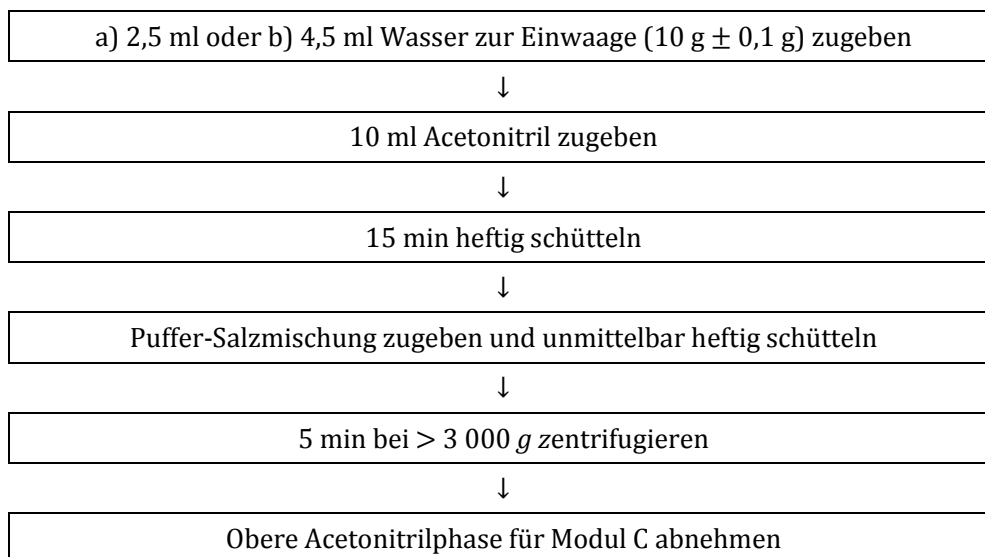
Dabei ist

$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ die Massenkonzentration der zugesetzten ISTD-Lösung, in $\mu\text{g/ml}$;

$V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ das zugesetzte Volumen der zugesetzten ISTD-Lösung, in ml;

V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml).

A.3.3.4 Ablaufschema von Modul E3



A.3.4 Modul E4: Homogenisieren der Probe unter Wasserzugabe, Extraktion von 13,5 g des Homogenats mit Acetonitril

A.3.4.1 Kurzbeschreibung

Dieses Extraktionsmodul wird für Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit einem Wassergehalt zwischen 15 % und 40 % verwendet, wie Trockenfrüchte und ähnliche Erzeugnisse. Tabelle 6 zeigt die Lebensmittel auf, für die dieses Extraktionsmodul vorzugsweise verwendet wird.

Das Untersuchungsmaterial wird nach Wasserzugabe homogenisiert. Das Homogenat wird (möglichst) in gefrorenem Zustand mit Acetonitril extrahiert. Nach Zugabe von Magnesiumsulfat, Natriumchlorid sowie Citratsalzen zum Puffern (auf pH 5 bis pH 5,5) wird die Mischung noch einmal kräftig geschüttelt und zur Phasentrennung zentrifugiert. Ein Aliquot der organischen Phase wird abgetrennt und gegebenenfalls gereinigt (Module C).

A.3.4.2 Durchführung

A.3.4.2.1 Homogenisierung und Einwaage

Zu 500 g gefrorenem Trockenobst werden 850 g kaltes Wasser (A.1.10) zugegeben und es wird (wenn möglich unter Zugabe von Trockeneis (A.1.11) mit einem leistungsstarken Zerkleinerungsgerät (A.2.8) homogenisiert.

Eine repräsentative Einwaage von $13,5 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ des Homogenats (entspricht einer Einwaage von 5,0 g (m_{Probe}) wird in ein 50-ml-Zentrifugenröhrchen (A.2.1) eingewogen.

A.3.4.2.2 Optionale ISTD-Zugabe

Eine definierte kleine Menge der ISTD-Lösung (A.1.2) ($V_{\text{ISTD}}^{\text{S}}$, z. B. 100 μl) mit einer oder mehreren der Verbindungen in den exemplarisch gegebenen Mengen (C_{ISTD}) aus Tabelle A.1 wird zugegeben.

A.3.4.2.3 Erste Extraktion

10,0 ml Acetonitril (A.1.3) (V_{Ex}) werden zugegeben. Das Zentrifugenröhrchen wird dicht verschlossen und das Gemisch 15 min ggf. mithilfe eines Schüttlers (A.2.5) kräftig geschüttelt.

Bei nicht ausreichend zerkleinerten Untersuchungsproben kann die erste Extraktion durch einen Homogenisierstab (A.2.7) (z. B. Ultra-Turrax) unterstützt werden. Hierzu wird der Homogenisierstab in die Probe/Acetonitrilmischung getaucht und diese wird etwa 2 min mit hoher Drehzahl gemischt. Sollte bereits eine ISTD-Lösung zugegeben worden sein, ist das Abspülen des Homogenisierstabes nicht notwendig. Trotzdem muss er vor der nächsten Probe sorgfältig gereinigt werden, um Kreuzkontamination zu vermeiden.

Proben (außer trockene Proben mit Wassergehalten $< 20 \%$) sollten in gefrorenem Zustand oder während des Auftauens extrahiert werden. Sollten Proben bei Raumtemperatur extrahiert werden, muss sichergestellt werden, dass keine signifikanten Verluste der Analyten erfolgen.

A.3.4.2.4 Zweite Extraktion und Verteilung

Die aus A.3.4.2.3 erhaltene Suspension wird mit dem vorbereiteten Puffer-Salzgemisch (A.1.8) versetzt. Das Zentrifugenröhrchen wird fest verschlossen und der Inhalt sofort 1 min kräftig von Hand bzw. 3 min mit einem Schüttler (A.2.5) geschüttelt und anschließend 5 min in einer Zentrifuge bei $> 3\,000 \text{ g}$ zentrifugiert.

Die überstehende Acetonitrilphase wird unverzüglich abgetrennt und der Rohextrakt nach einem geeigneten Reinigungsmodul C weiterbehandelt.

In Gegenwart von Wasser neigt Magnesiumsulfat zur Bildung von Klumpen, die schnell hart werden können. Das kann vermieden werden, indem das Zentrifugenröhrchen unmittelbar nach der Zugabe der Salzmischung einige Sekunden kräftig geschüttelt wird. Die einminütige oder dreiminütige Extraktion des gesamten Ansatzes darf nach der Salzzugabe zu sämtlichen Proben parallel durchgeführt werden.

A.3.4.3 Auswertung

Die Massenkonzentration der Probe im Rohextrakt $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ gibt an, aus welcher Masse Untersuchungsmaterial die Pestizidrückstände in einem bestimmten Extraktvolumen extrahiert wurden. Üblicherweise wird $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ in g/ml angegeben und nach Gleichung (A.7) berechnet:

$$\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}(\text{g/ml}) = \frac{m_{\text{Probe}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.7})$$

Dabei ist

m_{Probe} die Masse der Einwaage, in g;

V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml).

Die Massenkonzentration des ISTD im Rohextrakt $\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Rohextrakt}}$ wird nach Gleichung (A.8) berechnet:

$$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Rohextrakt}}(\mu\text{g/ml}) = \frac{\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}} \times V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.8})$$

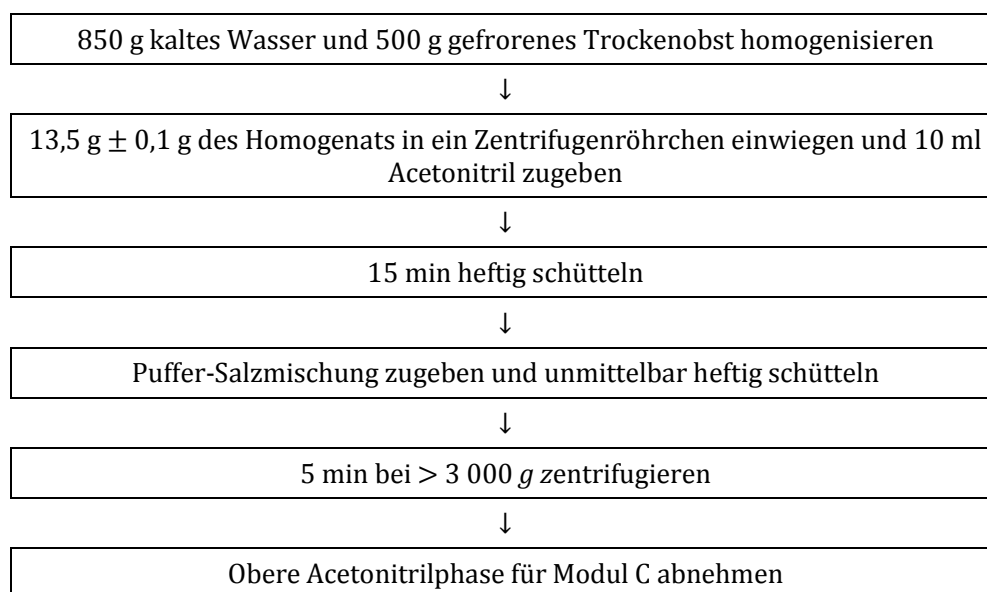
Dabei ist

$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ die Massenkonzentration der zugesetzten ISTD-Lösung, in $\mu\text{g/ml}$;

$V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ das zugesetzte Volumen der zugesetzten ISTD-Lösung, in ml;

V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml).

A.3.4.4 Ablaufschema von Modul E4



A.3.5 Modul E5: Extraktion von 5 g Einwaage mit Acetonitril nach Zusatz von 10 ml Wasser

A.3.5.1 Kurzbeschreibung

Dieses Extraktionsmodul wird für Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit geringem Wassergehalt (< 15 %), wie Getreide, Getreideerzeugnisse und Honig verwendet. Tabelle 6 zeigt die Lebensmittel auf, für die dieses Extraktionsmodul vorzugsweise verwendet wird.

Das homogene Untersuchungsmaterial wird mit 10 ml Wasser versetzt und mit Acetonitril extrahiert. Nach Zugabe von Magnesiumsulfat, Natriumchlorid sowie Citratsalzen zum Puffern (auf pH 5 bis pH 5,5) wird die Mischung noch einmal kräftig geschüttelt und zur Phasentrennung zentrifugiert. Ein Aliquot der organischen Phase wird abgetrennt und gegebenenfalls gereinigt (Module C).

A.3.5.2 Durchführung

A.3.5.2.1 Einwaage und Wasserzugabe

Eine repräsentative Einwaage von $5,0 \text{ g} \pm 0,05 \text{ g}$ (m_s) der gemischten homogenen Probe wird in ein 50-ml-Zentrifugenröhrchen (A.2.1) eingewogen und 10,0 ml kaltes Wasser (A.1.10) zugegeben. Die Auswirkung der verlängerten Quellzeit Verweilzeit sollte geprüft werden.

A.3.5.2.2 Optionale ISTD-Zugabe

Eine definierte kleine Menge der ISTD-Lösung (A.1.2) (V_{ISTD}^S , z. B. 100 μl) mit einer oder mehreren der Verbindungen in den exemplarisch gegebenen Mengen (C_{ISTD}) aus Tabelle A.1 wird zugegeben.

A.3.5.2.3 Erste Extraktion

10,0 ml Acetonitril (A.1.3) (V_{Ex}) werden zugegeben. Das Zentrifugenröhrchen wird dicht verschlossen und das Gemisch 15 min ggf. mithilfe eines Schüttlers (A.2.5) kräftig geschüttelt.

Bei nicht ausreichend zerkleinerten Untersuchungsproben kann die erste Extraktion durch einen Homogenisierstab (A.2.7) (z. B. Ultra-Turrax) unterstützt werden. Hierzu wird der Homogenisierstab in die Probe/Acetonitrilmischung getaucht und diese wird etwa 2 min mit hoher Drehzahl gemischt. Sollte bereits eine ISTD-Lösung zugegeben worden sein, ist das Abspülen des Homogenisierstabes nicht notwendig. Trotzdem muss er vor der nächsten Probe sorgfältig gereinigt werden, um Kreuzkontamination zu vermeiden.

Proben (außer trockene Proben mit Wassergehalten < 20 %) sollten in gefrorenem Zustand oder während des Auftauens extrahiert werden. Sollten Proben bei Raumtemperatur extrahiert werden, muss sichergestellt werden, dass keine signifikanten Verluste der Analyten erfolgen.

A.3.5.2.4 Zweite Extraktion und Verteilung

Die aus A.3.5.2.3 erhaltene Suspension wird mit dem vorbereiteten Puffer-Salzgemisch (A.1.8) versetzt. Das Zentrifugenröhrchen wird fest verschlossen und der Inhalt sofort 1 min kräftig von Hand bzw. 3 min mit einem Schüttler (A.2.5) geschüttelt und anschließend 5 min in einer Zentrifuge bei > 3 000 g zentrifugiert.

Die überstehende Acetonitrilphase wird unverzüglich abgetrennt und der Rohextrakt nach einem geeigneten Reinigungsmodul C weiterbehandelt.

In Gegenwart von Wasser neigt Magnesiumsulfat zur Bildung von Klumpen, die schnell hart werden können. Das kann vermieden werden, indem das Zentrifugenröhrchen unmittelbar nach der Zugabe der Salzmischung einige Sekunden kräftig geschüttelt wird. Die einminütige oder dreiminütige Extraktion des gesamten Ansatzes darf nach der Salzzugabe zu sämtlichen Proben parallel durchgeführt werden.

A.3.5.3 Auswertung

Die Massenkonzentration der Probe im Rohextrakt $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ gibt an, aus welcher Masse Untersuchungsmaterial die Pestizidrückstände in einem bestimmten Extraktvolumen extrahiert wurden. Üblicherweise wird $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ in g/ml angegeben und nach Gleichung (A.9) berechnet:

$$\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}(\text{g/ml}) = \frac{m_{\text{Probe}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.9})$$

Dabei ist

m_{Probe} die Masse der Einwaage, in g;

V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml).

Die Massenkonzentration des ISTD im Rohextrakt $\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Rohextrakt}}$ wird durch Gleichung (A.10) berechnet:

$$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Rohextrakt}}(\mu\text{g/ml}) = \frac{\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}} \times V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.10})$$

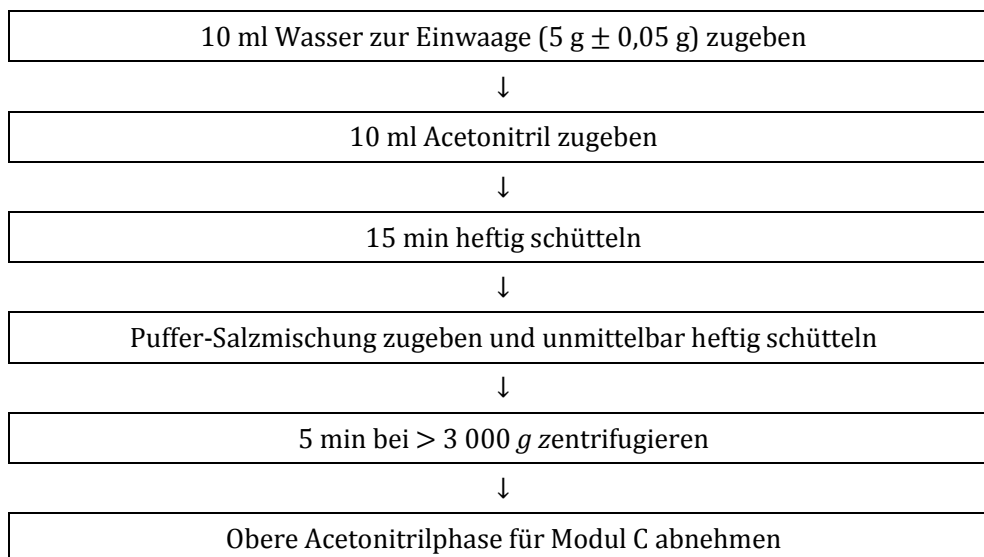
Dabei ist

$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ die Massenkonzentration der zugesetzten ISTD-Lösung, in $\mu\text{g/ml}$;

$V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ das zugesetzte Volumen der zugesetzten ISTD-Lösung, in ml;

V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml):

A.3.5.4 Ablaufschema von Modul E5



A.3.6 Modul E6: Extraktion von 5 g Einwaage mit Acetonitril nach Zusatz von 6 ml Wasser

A.3.6.1 Kurzbeschreibung

Dieses Extraktionsmodul wird für Pflanzenmaterial und -lebensmittel mit mittlerem Wassergehalt (zwischen 45 % und 80 %) und hoher Matrixbelastung oder hohem Fettgehalt (> 5 %) verwendet, wie zum Beispiel Knoblauch oder Avocado. Tabelle 6 zeigt die Lebensmittel auf, für die dieses Extraktionsmodul vorzugsweise verwendet wird.

Das homogene Untersuchungsmaterial (5 g) wird mit 6,0 ml Wasser versetzt, um auf einen ungefähren Wassergehalt von 10 g im Extraktionsansatz zu kommen. Es wird (möglichst) in gefrorenem Zustand mit Acetonitril extrahiert. Nach Zugabe von Magnesiumsulfat, Natriumchlorid sowie Citratsalzen zum Puffern (auf pH 5 bis pH 5,5) wird die Mischung noch einmal kräftig geschüttelt und zur Phasentrennung zentrifugiert. Ein Aliquot der organischen Phase wird abgetrennt und gegebenenfalls gereinigt (Module C).

A.3.6.2 Durchführung

A.3.6.2.1 Einwaage und Wasserzugabe

Eine repräsentative Einwaage von $5,0 \text{ g} \pm 0,05 \text{ g}$ (m_s) der gemischten homogenisierten Probe wird in ein 50-ml-Zentrifugenröhrchen (A.2.1) eingewogen. Zur Einwaage werden 6,0 ml kaltes Wasser (A.1.10) gegeben.

A.3.6.2.2 Optionale ISTD-Zugabe

Eine definierte kleine Menge der ISTD-Lösung (A.1.2) (V_{ISTD}^S , z. B. 100 μl) mit einer oder mehrerer der Verbindungen in den exemplarisch gegebenen Mengen (C_{ISTD}) aus Tabelle A1 wird zugegeben.

A.3.6.2.3 Erste Extraktion

10,0 ml Acetonitril (A.1.3) (V_{Ex}) werden zugegeben. Das Zentrifugenröhrchen wird dicht verschlossen und das Gemisch 15 min ggf. mithilfe eines Schüttlers (A.2.5) kräftig geschüttelt.

Bei nicht ausreichend zerkleinerten Untersuchungsproben kann die erste Extraktion durch einen Homogenisierstab (A.2.7) (z. B. Ultra-Turrax) unterstützt werden. Hierzu wird der Homogenisierstab in die Probe/Acetonitrilmischung getaucht und diese wird etwa 2 min mit hoher Drehzahl gemischt. Sollte bereits eine ISTD-Lösung zugegeben worden sein, ist das Abspülen des Homogenisierstabes nicht notwendig. Trotzdem muss er vor der nächsten Probe sorgfältig gereinigt werden, um Kreuzkontamination zu vermeiden.

Proben (außer trockene Proben mit Wassergehalten < 20 %) sollten in gefrorenem Zustand oder während des Auftauens extrahiert werden. Sollten Proben bei Raumtemperatur extrahiert werden, muss sichergestellt werden, dass keine signifikanten Verluste der Analyten erfolgen.

A.3.6.2.4 Zweite Extraktion und Verteilung

Die aus A.3.6.2.3 erhaltene Suspension wird mit dem vorbereiteten Puffer-Salzgemisch (A.1.8) versetzt. Das Zentrifugenröhrchen wird fest verschlossen und der Inhalt sofort 1 min kräftig von Hand bzw. 3 min mit einem Schüttler (A.2.5) geschüttelt und anschließend 5 min in einer Zentrifuge bei > 3 000 g zentrifugiert.

Die überstehende Acetonitrilphase wird unverzüglich abgetrennt und der Rohextrakt nach einem geeigneten Reinigungsmodul C weiterbehandelt.

In Gegenwart von Wasser neigt Magnesiumsulfat zur Bildung von Klumpen, die schnell hart werden können. Das kann vermieden werden, indem das Zentrifugenröhrchen unmittelbar nach der Zugabe der Salzmischung einige Sekunden kräftig geschüttelt wird. Die einminütige oder dreiminütige Extraktion des gesamten Ansatzes darf nach der Salzzugabe zu sämtlichen Proben parallel durchgeführt werden.

A.3.6.3 Auswertung

Die Massenkonzentration der Probe im Rohextrakt $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ gibt an, aus welcher Masse Untersuchungsmaterial die Pestizidrückstände in einem bestimmten Extraktvolumen extrahiert wurden. Üblicherweise wird $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ in g/ml angegeben und nach Gleichung (A.11) berechnet:

$$\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}(\text{g/ml}) = \frac{m_{\text{Probe}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.11})$$

Dabei ist

m_{Probe} die Masse der Einwaage, in g;

V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml).

Die Massenkonzentration des ISTD im Rohextrakt $\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Rohextrakt}}$ wird nach Gleichung (A.12) berechnet:

$$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Rohextrakt}}(\mu\text{g/ml}) = \frac{\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}} \times V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.12})$$

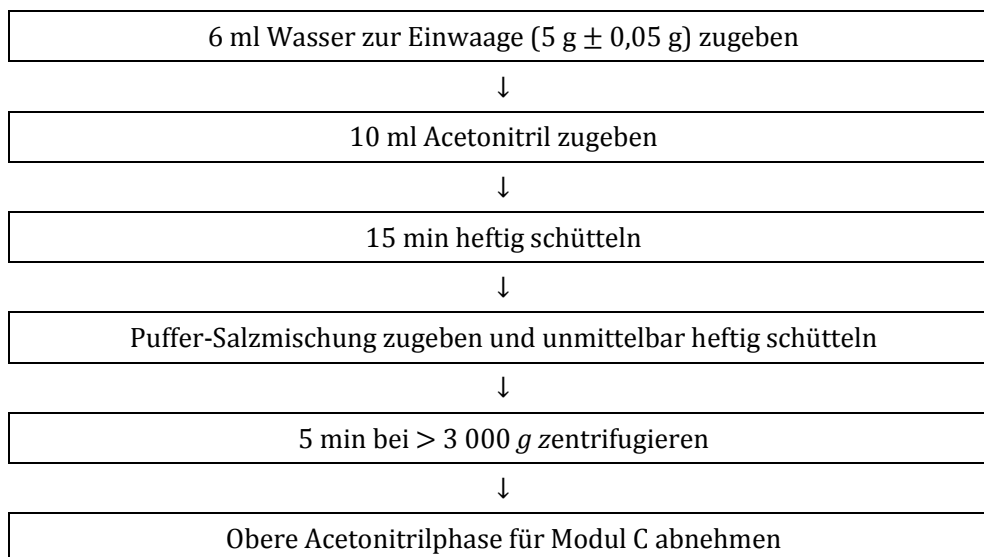
Dabei ist

$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ die Massenkonzentration der zugesetzten ISTD-Lösung, in $\mu\text{g/ml}$;

$V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ das zugesetzte Volumen der zugesetzten ISTD-Lösung, in ml;

V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml).

A.3.6.4 Ablaufschema von Modul E6



A.3.7 Modul E7: Extraktion von 2 g Einwaage mit Acetonitril nach Zusatz von 10 ml Wasser

A.3.7.1 Kurzbeschreibung

Dieses Extraktionsmodul wird für Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit sehr geringem Wassergehalt ($< 10\%$) und hoher Matrixbelastung, wie Gewürzen, Kaffee, Tabak oder Tee verwendet. Es wird außerdem für gefriergetrocknete Produkten, bei denen das Rohprodukt mehr als 80 % Wasser enthält, verwendet. Tabelle 6 zeigt die Lebensmittel auf, für die dieses Extraktionsmodul vorzugsweise verwendet wird.

Das homogene Untersuchungsmaterial (2 g) wird mit 10,0 ml Wasser versetzt und mit Acetonitril extrahiert. Nach Zugabe von Magnesiumsulfat, Natriumchlorid sowie Citratsalzen zum Puffern (auf pH 5 bis pH 5,5) wird die Mischung noch einmal kräftig geschüttelt und zur Phasentrennung zentrifugiert. Ein Aliquot der organischen Phase wird abgetrennt und gegebenenfalls gereinigt (Module C).

A.3.7.2 Durchführung

A.3.7.2.1 Einwaage und Wasserzugabe

Eine repräsentative Einwaage von $2,0\text{ g} \pm 0,02\text{ g}$ (m_S) der gemischten homogenen Probe wird in ein 50-ml-Zentrifugenröhrchen (A.2.1) eingewogen und 10 ml kaltes Wasser (A.1.10) zugegeben. Die Auswirkung der verlängerten Quelldauer sollte geprüft werden.

A.3.7.2.2 Optionale ISTD-Zugabe

Eine definierte kleine Menge der ISTD-Lösung (A.1.2) (V_{ISTD}^S , z. B. 100 μl) mit einer oder mehrerer der Verbindungen in den exemplarisch gegebenen Mengen (C_{ISTD}) aus Tabelle A1 wird zugegeben.

A.3.7.2.3 Erste Extraktion

10,0 ml Acetonitril (A.1.3) (V_{Ex}) werden zugegeben. Das Zentrifugenröhrchen wird dicht verschlossen und das Gemisch 15 min ggf. mithilfe eines Schüttlers (A.2.5) kräftig geschüttelt.

Bei nicht ausreichend zerkleinerten Untersuchungsproben kann die erste Extraktion durch einen Homogenisierstab (A.2.7) (z. B. Ultra-Turrax) unterstützt werden. Hierzu wird der Homogenisierstab in die Probe/Acetonitrilmischung getaucht und diese wird etwa 2 min mit hoher Drehzahl gemischt. Sollte bereits eine ISTD-Lösung zugegeben worden sein, ist das Abspülen des Homogenisierstabes nicht notwendig. Trotzdem muss er vor der nächsten Probe sorgfältig gereinigt werden, um Kreuzkontamination zu vermeiden.

Proben (außer trockene Proben mit Wassergehalte $< 20\%$) sollten in gefrorenem Zustand oder während des Auftauens extrahiert werden. Sollten Proben bei Raumtemperatur extrahiert werden, muss sichergestellt werden, dass keine signifikanten Verluste der Analyten erfolgen.

A.3.7.2.4 Zweite Extraktion und Verteilung

Die nach A.3.7.2.3 erhaltene Suspension wird mit dem vorbereiteten Puffer-Salzgemisch (A.1.8) versetzt. Das Zentrifugenröhrchen wird fest verschlossen und der Inhalt sofort 1 min kräftig von Hand bzw. 3 min mit einem Schüttler (A.2.5) geschüttelt und anschließend 5 min in einer Zentrifuge bei $> 3\,000\text{ g}$ zentrifugiert.

Die überstehende Acetonitrilphase wird unverzüglich abgetrennt und der Rohextrakt nach einem geeigneten Reinigungsmodul C weiterbehandelt.

In Gegenwart von Wasser neigt Magnesiumsulfat zur Bildung von Klumpen, die schnell hart werden können. Das kann vermieden werden, indem das Zentrifugenröhrchen unmittelbar nach der Zugabe der Salzmischung einige Sekunden kräftig geschüttelt wird. Die einminütige oder dreiminütige Extraktion des gesamten Ansatzes darf nach der Salzzugabe zu sämtlichen Proben parallel durchgeführt werden.

A.3.7.3 Auswertung

Die Massenkonzentration der Probe im Rohextrakt $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ gibt an, aus welcher Masse Untersuchungsmaterial die Pestizidrückstände in einem bestimmten Extraktvolumen extrahiert wurden. Üblicherweise wird $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ in g/ml angegeben und nach Gleichung (A.13) berechnet:

$$\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}(\text{g/ml}) = \frac{m_{\text{Probe}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.13})$$

Dabei ist

m_{Probe} die Masse der Einwaage, in g;

V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml).

Die Massenkonzentration des ISTD im Rohextrakt $\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Rohextrakt}}$ wird nach Gleichung (A.14) berechnet:

$$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Rohextrakt}}(\mu\text{g/ml}) = \frac{\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}} \times V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.14})$$

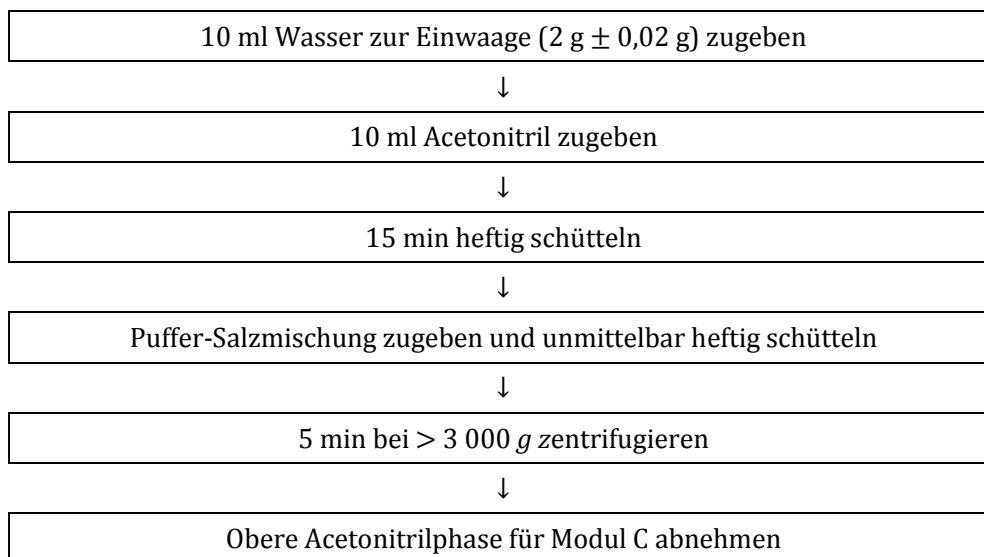
Dabei ist

$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ die Massenkonzentration der zugesetzten ISTD-Lösung, in $\mu\text{g/ml}$;

$V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ das zugesetzte Volumen der zugesetzten ISTD-Lösung, in ml;

V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml).

A.3.7.4 Ablaufschema von Modul E7



A.3.8 Modul E8: Extraktion von 10 g Einwaage mit Acetonitril ohne Wasserzusatz unter simultaner alkalischer Hydrolyse basenlabiler Ester und Konjugate

A.3.8.1 Kurzbeschreibung

Dieses Extraktionsmodul wird für die Bestimmung von sauren Pestiziden benutzt, deren Rückstandsdefinitionen neben den freien Säuren auch Ester und/oder Konjugate einbeziehen, welche in Einklang mit den Rückstandsuntersuchungen zur Festlegung der Rückstandshöchstgehalte alkalisch hydrolysiert werden können oder müssen. Dieses Extraktionsmodul gibt die Referenz-Hydrolysebedingungen für Ester und/oder der Konjugate von 2,4-D, 2,4-DB, Clopyralid, Dichlorprop(-P), Fluazifop(-P), Fluroxypyr, Haloxyfop sowie MCPA/MCPB an. Die meisten praxisrelevanten Ester der genannten Stoffe werden unter diesen Hydrolysebedingungen praktisch quantitativ hydrolysiert. Dieses Extraktionsmodul ist zurzeit nicht anwendbar auf Konjugate von 6 OH- und 8 OH-Bentazon, Dicamba und Pyridat. Er wird für pflanzliche Produkte und Lebensmittel verwendet, die laut Tabelle 6 nach den Modulen E1, E2a oder E2b extrahiert werden.

Das homogene Untersuchungsmaterial wird bei stark sauren Proben (übliche Extraktion nach E2a, z. B. Zitronen und Limetten) nach Zusatz von Acetonitril sowie 1 mmol NaOH je g Probe und bei allen übrigen Probenmaterialien nach Zusatz von 0,5 mmol NaOH je g Probe bei 40 °C extrahiert. Nach Zugabe von Schwefelsäure (zur Neutralisation), Magnesiumsulfat, Natriumchlorid sowie von Citratsalzen zum Puffern (auf pH 5 bis pH 5,5) wird die Mischung noch einmal kräftig geschüttelt und danach zentrifugiert. Ein Aliquot der organischen Phase wird abgetrennt und gegebenenfalls gereinigt. Die Module C2, C3, C4 und C5 dürfen nicht verwendet werden, da die freigesetzten Säuren durch das PSA-Sorbens Verluste erleiden können.

A.3.8.2 Durchführung

A.3.8.2.1 Einwaage

Eine repräsentative Einwaage von $10,0 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ (m_{Probe}) der gemischten homogenen Probe wird in ein 50-ml-Zentrifugenröhrchen (A.2.1) eingewogen.

Da der Säuregehalt von Zitronen oder Limetten bei der Neutralisation zu berücksichtigen ist, kann die Einwaage stark saurer Lebensmittel nur reduziert werden, wenn gleichzeitig das Volumen der NaOH-Lösung proportional verringert wird.

A.3.8.2.2 Optionale ISTD-Zugabe

Eine definierte kleine Menge der ISTD-Lösung (A.1.2) ($V_{\text{ISTD}}^{\text{Sample}}$, z. B. 100 µl) mit einer oder mehrerer der Verbindungen in den exemplarisch gegebenen Mengen (C_{ISTD}) aus Tabelle A1 wird zugegeben.

A.3.8.2.3 Erste Extraktion und Hydrolyse

10,0 ml Acetonitril (A.1.3) (V_{Ex}) werden zugegeben. Dann werden 2,0 ml 5 mol/l NaOH-Lösung (A.1.9) für sehr saure Lebensmittel (üblicherweise nach Modul E2a extrahiert) oder 1,0 ml 5 mol/l NaOH-Lösung (A.1.9) für alle anderen Lebensmittel zugegeben. Das Zentrifugenröhrchen wird dicht verschlossen und 30 min bei 40 °C mit einem temperierbaren Schüttler (A.2.9) geschüttelt. Zur Neutralisation bei sehr sauren Lebensmitteln werden 1,4 ml 5 mol/l Schwefelsäure (A.1.12) und bei allen anderen Lebensmitteln 1,0 ml 5 mol/l Schwefelsäure zugegeben.

Bei nicht ausreichend zerkleinerten Untersuchungsproben kann die erste Extraktion durch einen Homogenisierstab (A.2.7) (z. B. Ultra-Turrax) unterstützt werden. Hierzu wird der Homogenisierstab in die Probe/Acetonitrilmischung getaucht und diese wird etwa 2 min mit hoher Drehzahl gemischt. Sollte bereits eine ISTD-Lösung zugegeben worden sein, ist das Abspülen des Homogenisierstabes nicht notwendig. Trotzdem muss er vor der nächsten Probe sorgfältig gereinigt werden, um Kreuzkontamination zu vermeiden.

A.3.8.2.4 Zweite Extraktion und Verteilung

Die nach A.3.8.2.3 erhaltene Suspension wird mit dem vorbereiteten Puffer-Salzgemisch (A.1.8) versetzt. Das Zentrifugenröhrchen wird fest verschlossen und der Inhalt sofort 1 min kräftig von Hand bzw. 3 min mit einem Schüttler (A.2.5) geschüttelt und anschließend 5 min in einer Zentrifuge bei > 3 000 g zentrifugiert.

Die überstehende Acetonitrilphase wird unverzüglich abgetrennt und der Rohextrakt nach Reinigungsmodul C0 oder C1 weiterbehandelt.

In Gegenwart von Wasser neigt Magnesiumsulfat zur Bildung von Klumpen, die schnell hart werden können. Das kann vermieden werden, indem das Zentrifugenröhrchen unmittelbar nach der Zugabe der Salzmischung einige Sekunden kräftig geschüttelt wird. Die einminütige oder dreiminütige Extraktion des gesamten Ansatzes darf nach der Salzzugabe zu sämtlichen Proben parallel durchgeführt werden.

A.3.8.3 Auswertung

Die Massenkonzentration der Probe im Rohextrakt $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ gibt an, welcher Masse Untersuchungsmaterial die Pestizidrückstände in einem bestimmten Extraktvolumen entsprechen. Üblicherweise wird $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ in g/ml angegeben und nach Gleichung (A.15) berechnet:

$$\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}(\text{g/ml}) = \frac{m_{\text{Probe}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.15})$$

Dabei ist

m_{Probe} die Masse der Einwaage, in g;

V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml).

Die Massenkonzentration des ISTD im Rohextrakt $\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Rohextrakt}}$ wird nach Gleichung (A.16) berechnet:

$$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Rohextrakt}}(\mu\text{g/ml}) = \frac{\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}} \times V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.16})$$

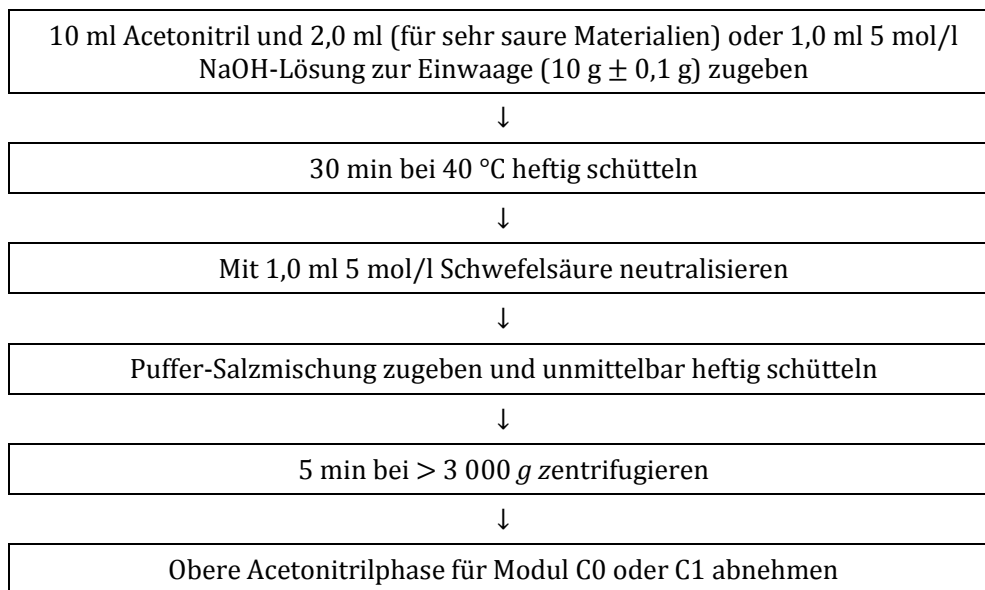
Dabei ist

$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ die Massenkonzentration der zugesetzten ISTD-Lösung, in $\mu\text{g/ml}$;

$V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ das zugesetzte Volumen der zugesetzten ISTD-Lösung, in ml;

V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml).

A.3.8.4 Ablaufschema von Modul E8



A.3.9 Modul E9: Extraktion von 2 g bis 5 g Probe mit Acetonitril nach Zusatz von Wasser unter simultaner alkalischer Hydrolyse basenlabiler Ester und Konjugate

A.3.9.1 Kurzbeschreibung

Dieses Extraktionsmodul wird für die Bestimmung von sauren Pestiziden benutzt, deren Rückstandsdefinitionen neben den freien Säuren auch Ester und/oder Konjugate einbeziehen, welche in Einklang mit den Rückstandsuntersuchungen zur Festlegung der Rückstandshöchstgehalte alkalisch hydrolysiert werden können oder müssen. Das hier beschriebene Modul gibt die Referenzbedingungen für die Hydrolyse der Ester und/oder der Konjugate von 2,4-D, 2,4-DB, Clopyralid, Dichlorprop(-P), Fluazifop(-P), Fluroxypyr, Haloxypop sowie MCPA/MCPB an. Die meisten praxisrelevanten Ester der genannten Stoffe werden unter diesen Hydrolysebedingungen praktisch quantitativ hydrolysiert. Dieses Extraktionsmodul ist nicht anwendbar auf Konjugate von 6-OH und 8-OH Bentazon, Dicamba und Pyridat. Es wird für pflanzliche Produkte und Lebensmittel verwendet, für die nach Tabelle 6 üblicherweise die Extraktionsmodule E5, E6 und E7 verwendet werden.

Das homogene Untersuchungsmaterial wird nach Zusatz von Acetonitril sowie 1,0 mmol NaOH je Gramm Probe (bei 5 g Einwaage) bzw. 2,5 mmol NaOH je Gramm Probe (bei 2 g Einwaage) bei 40 °C extrahiert. Nach Zugabe von Schwefelsäure (zur Neutralisation), Magnesiumsulfat, Natriumchlorid sowie von Citratsalzen zum Puffern (auf pH 5 bis pH 5,5), wird die Mischung noch einmal kräftig geschüttelt und zur Phasentrennung zentrifugiert. Ein Aliquot der organischen Phase wird abgetrennt und gegebenenfalls gereinigt (Modul C1). Die Module C2, C3, C4 und C5 sind nicht zu verwenden, da die freigesetzten Säuren durch das PSA-Sorbens Verluste erleiden können.

A.3.9.2 Durchführung

A.3.9.2.1 Einwaage

Für Lebensmittel, die üblicherweise nach Modul E5 oder E6 extrahiert werden, wird eine repräsentative Einwaage von 5,0 g ± 0,05 g bzw. für Lebensmittel, die üblicherweise nach Modul E7 extrahiert werden, 2,0 g ± 0,02 g der gemischten homogenen Probe (m_{Probe}) in ein 50-ml-Zentrifugenröhrchen (A.2.1) eingewogen.

A.3.9.2.2 Optionale ISTD-Zugabe

Eine definierte kleine Menge der ISTD-Lösung (A.1.2) (V_{ISTD}^S , z. B. 100 µl) mit einer oder mehrerer der Verbindungen in den exemplarisch gegebenen Mengen (C_{ISTD}) nach Tabelle A1 wird zugegeben.

A.3.9.2.3 Hydrolyse und erste Extraktion

10,0 ml Wasser (A.1.10) werden für Lebensmittel zugegeben, die üblicherweise nach Modul E5 oder E7 extrahiert werden, bzw. 6 ml Wasser für solche, die üblicherweise nach Modul E6 extrahiert werden.

10,0 ml Acetonitril (A.1.3) (V_{Ex}) und 1,0 ml 5 mol/l NaOH-Lösung (A.1.9) werden zugegeben. Das Zentrifugenröhrchen wird dicht verschlossen und 30 min bei 40 °C mit einem temperierbaren Schüttler (A.2.9) geschüttelt. Zur Neutralisation wird 1,0 ml 5 mol/l Schwefelsäure (A.1.12) zugegeben.

Bei nicht ausreichend zerkleinerten Untersuchungsproben kann die Extraktion durch einen Homogenisierstab (A.2.7) (z. B. Ultra-Turrax) unterstützt werden. Hierzu wird der Homogenisierstab in die Probe/Acetonitrilmischung getaucht und diese wird etwa 2 min mit hoher Drehzahl gemischt. Sollte bereits eine ISTD-Lösung zugegeben worden sein, ist das Abspülen des Homogenisierstabes nicht notwendig. Trotzdem muss er vor der nächsten Probe sorgfältig gereinigt werden, um Kreuzkontamination zu vermeiden.

A.3.9.2.4 Zweite Extraktion und Verteilung

Die nach A.3.9.2.3 erhaltene Suspension wird mit dem vorbereiteten Puffer-Salzgemisch (A.1.8) versetzt. Das Zentrifugenröhrchen wird fest verschlossen und der Inhalt sofort kurz geschüttelt. Danach wird 1 min bis 3 min kräftig von Hand oder mithilfe eines Schüttlers (A.2.5 oder A.2.9) geschüttelt und anschließend 5 min in einer Zentrifuge bei > 3 000 g zentrifugiert.

Die überstehende Acetonitrilphase wird unverzüglich abgetrennt und der Rohextrakt nach der Arbeitsvorschrift des Moduls C0 oder C1 weiterbehandelt.

In Gegenwart von Wasser neigt Magnesiumsulfat zur Bildung von Klumpen, die schnell hart werden können. Das kann vermieden werden, indem das Zentrifugenröhrchen unmittelbar nach der Zugabe der Salzmischung einige Sekunden kräftig geschüttelt wird. Die einminütige oder dreiminütige Extraktion des gesamten Ansatzes darf nach der Salzzugabe zu sämtlichen Proben parallel durchgeführt werden.

A.3.9.3 Auswertung

Die Massenkonzentration der Probe im Rohextrakt $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ gibt an, welcher Masse Untersuchungsmaterial die Pestizidrückstände in einem bestimmten Extraktvolumen entsprechen. Üblicherweise wird $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ in g/ml angegeben und nach Gleichung (A.17) berechnet:

$$\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}(\text{g/ml}) = \frac{m_{\text{Probe}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.17})$$

Dabei ist

m_{Probe} die Masse der Einwaage, in g;

V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml).

Die Massenkonzentration des ISTD im Rohextrakt $\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Rohextrakt}}$ wird nach Gleichung (A.18) berechnet:

$$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Rohextrakt}}(\mu\text{g/ml}) = \frac{\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}} \times V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.18})$$

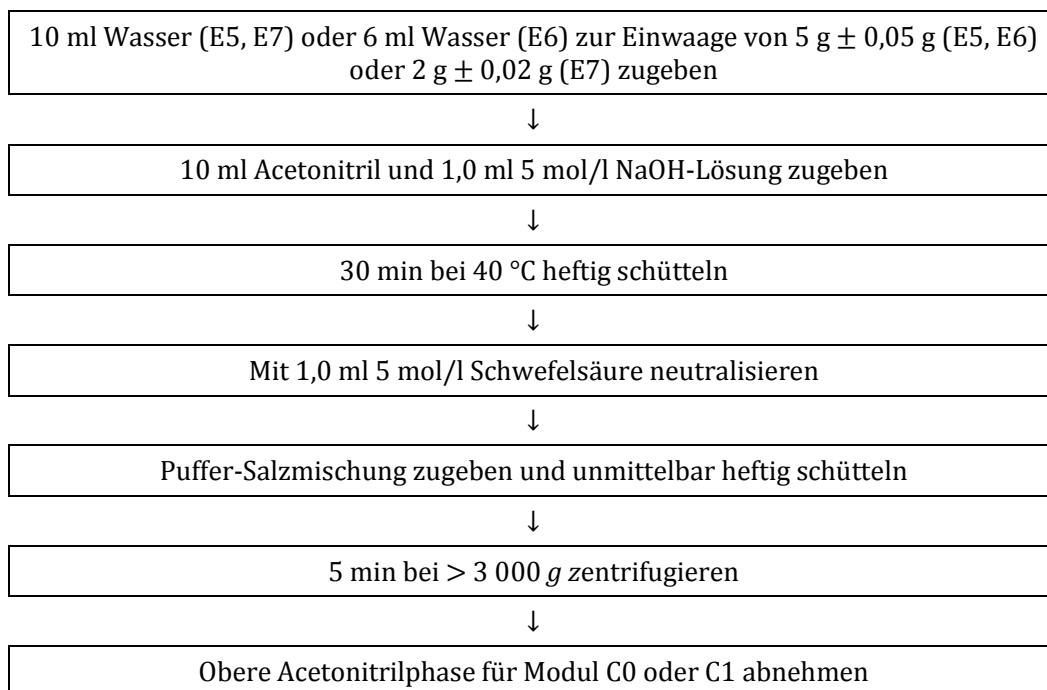
Dabei ist

$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ die Massenkonzentration der zugesetzten ISTD-Lösung, in $\mu\text{g/ml}$;

$V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ das zugesetzte Volumen der zugesetzten ISTD-Lösung, in ml;

V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml).

A.3.9.4 Ablaufschema von Modul E9



A.4 Beschreibung der Reinigungsmodule (C)

A.4.1 Modul C0: Keine Reinigung

A.4.1.1 Kurzbeschreibung

Dieses Modul wird bei Extrakten aus E1 bis E9 angewendet, wenn basenempfindliche und saure Pestizide ($pK_S < 5$) bestimmt werden sollen, die an das in den Modulen C2 bis C5 verwendete PSA-Sorbens binden können. Es kann ebenso zur Untersuchung Proben eingesetzt werden, die eine geringe Matrixbelastung aufweisen. Tabelle 6 zeigt die Lebensmittel auf, für die dieses Reinigungsmodul vorzugsweise verwendet wird.

Der Rohextrakt aus E1 bis E9 wird ohne weitere Reinigung zur Extraktstabilisierung weitergeführt (S Module), aber er kann ggf. verdünnt werden.

A.4.1.2 Durchführung

Zur Reduktion von Matrixeffekten kann bei ausreichender Empfindlichkeit des Detektionsverfahrens ein Aliquot des Rohextrakts (V_1) mit einem definierten Volumen an Wasser oder Acetonitril/Wasser (V_2) auf ein resultierendes Gesamtvolumen ($V_1 + V_2$) verdünnt werden. Sollte eine Extraktstabilisierung notwendig sein, wird der möglicherweise verdünnte Extrakt unverzüglich nach Modul S1 weiterbehandelt.

A.4.1.3 Auswertung

Die Massenkonzentration der Probe im Endextrakt $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Endextrakt}}$ gibt an, aus welcher Masse Untersuchungsmaterial die Pestizidrückstände in einem bestimmten Extraktvolumen extrahiert wurden. Üblicherweise wird $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Endextrakt}}$ in g/ml angegeben und nach Gleichung (A.19) berechnet:

$$\rho_{\text{Probe}}^{\text{Endextrakt}}(\text{g/ml}) = \rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}} \times \frac{V_1}{(V_1 + V_2)} \quad (\text{A.19})$$

Dabei ist

- $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ die Massenkonzentration des Rohextrakts, in g/ml;
- V_1 das eingesetzte Aliquot des Rohextrakts, in ml;
- V_2 das zugegebene Volumen an Wasser bzw. Acetonitril/Wasser, in ml.

Die Massenkonzentration des ISTD im Endextrakt $\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Endextrakt}}$ wird nach Gleichung (A.20) berechnet:

$$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Endextrakt}}(\mu\text{g/ml}) = \frac{\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}} \times V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}}{V_{\text{Ex}}} \times \frac{V_1}{(V_1 + V_2)} \quad (\text{A.20})$$

Dabei ist

- $\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ die Massenkonzentration der zugesetzten ISTD-Lösung, in $\mu\text{g/ml}$;
- $V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ das zugesetzte Volumen der zugesetzten ISTD-Lösung, in ml;
- V_{Ex} das Volumen der organischen Phase nach Extraktion, in ml (üblicherweise 10 ml);
- V_1 das eingesetzte Aliquot des Rohextrakts, in ml;
- V_2 das zugegebene Volumen an Wasser bzw. Acetonitril/Wasser, in ml.

A.4.1.4 Ablaufschema von Modul C0

Verdünnen (wenn zutreffend) und in Modul S anwenden

A.4.2 Modul C1: Reinigung durch Ausfrieren von mitextrahierten Fett-, Wachs- und Zuckeranteilen

A.4.2.1 Kurzbeschreibung

Dieses Modul wird bei Extrakten aus E2, E5, E6, E8 und E9 zur Reduktion des Fettes in fettreicheren Extrakten angewendet. Es kann auch in Kombination mit anderen Reinigungsschritten (C2, C3 und C5) angewendet werden. Tabelle 6 zeigt die Lebensmittel auf, für die dieses Reinigungsmodul vorzugsweise verwendet wird.

Der Rohextrakt aus den Modulen E2, E5, E6, E8 und E9 wird durch Ausfrieren von Fett befreit. Das resultierende Extrakt kann nach den Modulen C2, C3 oder C5 gereinigt oder zur Extraktstabilisierung (Modul S) weitergeführt werden.

A.4.2.2 Durchführung

Ein Aliquot von 8 ml der Acetonitrilphase aus den Modulen E2, E5 oder E6 wird in ein Zentrifugenröhrchen (A.2.4) überführt und über Nacht (bei Mehl sind 2 h ausreichend) im Tiefkühlschrank (A.2.10) gelagert, wobei der größte Teil der Fett- oder Wachsanteile erstarrt und ausfällt. Von dem noch kalten Extrakt werden (ggf. nach einer kurzen Zentrifugation) 6 ml zur weiteren Aufreinigung nach den Modulen C2, C3 oder C5 oder zur Extraktstabilisierung (Modul S) entnommen.

ANMERKUNG Des Weiteren hilft Ausfrieren dabei, einige zusätzliche Probeextrakte mit geringerer Löslichkeit in Acetonitril, wie z. B. Zucker, teilweise zu entfernen.

Zur Reduktion von Matrixeffekten kann bei ausreichender Empfindlichkeit des Detektionsverfahrens ein Aliquot des Rohextrakts (V_1), mit einem definierten Volumen an Wasser bzw. Acetonitril/Wasser (V_2) auf ein resultierendes Gesamtvolumen ($V_1 + V_2$) verdünnt werden.

Sollte eine Extraktstabilisierung notwendig sein, wird der gereinigte Extrakt unverzüglich nach Modul S1 weiterbehandelt.

A.4.2.3 Auswertung

Die Massenkonzentration der Probe im Endextrakt $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Endextrakt}}$ gibt an, aus welcher Masse Untersuchungsmaterial die Pestizidrückstände in einem bestimmten Extraktvolumen extrahiert wurden. Üblicherweise wird $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Endextrakt}}$ in g/ml angegeben und nach Gleichung (A.21) berechnet:

$$\rho_{\text{Probe}}^{\text{Endextrakt}}(\text{g/ml}) = \rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}} \times \frac{V_1}{(V_1 + V_2)} \quad (\text{A.21})$$

Dabei ist

- $\rho_{\text{Probe}}^{\text{Rohextrakt}}$ die Massenkonzentration des Rohextrakts, in g/ml;
- V_1 das eingesetzte Aliquot des Rohextrakts, in ml;
- V_2 das zugegebene Volumen an Wasser bzw. Acetonitril/Wasser, in ml.