

**DIN EN 17252**

ICS 67.060

Einsprüche bis 2018-06-27

**Entwurf****Lebensmittel –****Bestimmung von Phomopsin A in Lupinensamen und Lupinenerzeugnissen mit LC-MS/MS;****Deutsche und Englische Fassung prEN 17252:2018****Foodstuffs –**

Determination of phomopsin A in lupin seeds and lupin derived products by LC-MS/MS;  
German and English version prEN 17252:2018

**Produits alimentaires –**

Détermination de la teneur en phomopsine A dans les graines de lupin et les produits dérivés par CL-SM/SM;

Version allemande et anglaise prEN 17252:2018

**Anwendungswarnvermerk**

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2018-04-27 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](http://www.din.de/go/entwuerfe) bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter [www.entwuerfe.normenbibliothek.de](http://www.entwuerfe.normenbibliothek.de), sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an [nal@din.de](mailto:nal@din.de) möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter [www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe](http://www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe) oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter [www.dke.de/stellungnahme](http://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 38 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

## Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17252:2018) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige deutsche/nationale Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-01-03 AA „Biotoxine“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

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

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

ISO 5725 (all parts)      siehe DIN ISO 5725 (alle Teile)

## Nationaler Anhang NA (informativ)

### Literaturhinweise

DIN ISO 5725 (alle Teile), *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Meßverfahren und Meßergebnissen*

## **Lebensmittel — Bestimmung von Phomopsin A in Lupinensamen und Lupinenerzeugnissen mit LC-MS/MS**

*Produits alimentaires — Détermination de la teneur en phomopsine A dans les graines de lupin et les produits dérivés par CL-SM/SM*

*Foodstuffs — Determination of phomopsin A in lupin seeds and lupin derived products by LC-MS/MS*

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm

Dokument-Untertyp:

Dokument-Stage: CEN-Umfrage

Dokument-Sprache: D

STD Version 2.9d

## Inhalt

|                                                                             | Seite |
|-----------------------------------------------------------------------------|-------|
| Europäisches Vorwort .....                                                  | 3     |
| Einleitung .....                                                            | 4     |
| 1 Anwendungsbereich .....                                                   | 5     |
| 2 Normative Verweisungen .....                                              | 5     |
| 3 Begriffe .....                                                            | 5     |
| 4 Kurzbeschreibung .....                                                    | 5     |
| 5 Chemikalien .....                                                         | 5     |
| 6 Geräte und Ausrüstung .....                                               | 7     |
| 7 Verfahren .....                                                           | 8     |
| 8 Berechnung .....                                                          | 10    |
| 9 Präzision .....                                                           | 10    |
| 10 Prüfbericht .....                                                        | 11    |
| Anhang A (informativ) Präzisionsdaten .....                                 | 12    |
| Anhang B (informativ) Beispiele von extrahierten Ionenchromatogrammen ..... | 13    |
| Literaturverzeichnis .....                                                  | 17    |

## Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 17252:2018) 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 wurde im Rahmen eines Normungsauftrages erarbeitet, den die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelszone CEN erteilt haben.

## Einleitung

Phomopsine sind Mykotoxine, die vom Pilz *Diaporthe toxica* gebildet werden. Es gibt mehrere Phomopsine, von denen Phomopsin A das wichtigste toxische Kongener ist. Der Hauptwirt dieses Pilzes sind Lupinen (*Lupinus L.*). Lupinensamen werden als Lebensmittelzutat verwendet und daher kann Phomopsin A in Lebensmittelzutaten und Lebensmitteln, die Lupinensamen oder Lupinenmehl enthalten, auftreten.

**WARNUNG 1 — Sofern Arbeitsschritte mit gefährlichen Chemikalien durchgeführt werden, sind geeignete Vorsichts- und Schutzmaßnahmen zu treffen. Die EU-Chemikalienverordnung hinsichtlich gefährlicher Stoffe, (EG) Nr. 1907/2006 [3] (in ihrer letzten Fassung), sowie geeignete nationale Erklärungen sollten berücksichtigt werden.**

**WARNUNG 2 — 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.**

## 1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm beschreibt ein Verfahren zur Bestimmung von Phomopsinen in Lupinensamen und Lupinenerzeugnissen mit Flüssigchromatographie und Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS). Es gibt mehrere Phomopsine, z. B. Phomopsin A, B, C und D, aber das Verfahren behandelt nur die quantitative Bestimmung von Phomopsin A, da Vergleichssubstanzen für die anderen Phomopsine nicht im Handel erhältlich sind.

Das Verfahren wurde für Phomopsin A in natürlich kontaminierten Lupinensamen, Lupinenmehl und Knäckebrot in Gehalten von etwa 5 µg/kg bis 60 µg/kg validiert.

## 2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

EN ISO 3696, *Wasser für analytische Laborzwecke — Spezifikation und Prüfverfahren (ISO 3696)*

## 3 Begriffe

Es werden keine Begriffe in diesem Dokument angegeben.

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

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

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

## 4 Kurzbeschreibung

Phomopsine werden aus dem homogenisierten Probenmaterial durch Schütteln mit einem Gemisch aus Acetonitril/Wasser/Essigsäure (80 + 19 + 1, v + v + v) extrahiert. Nach dem Zentrifugieren wird ein Aliquot des Extrakts mit Wasser verdünnt, gegebenenfalls filtriert und mit Flüssigchromatographie und Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) untersucht. Für die Quantifizierung wird eine Matrix-angepasste Kalibrierung auf mehreren Konzentrationsstufen verwendet.

## 5 Chemikalien

Falls nicht anders festgelegt, werden nur Chemikalien von anerkannter Analysenreinheit und Wasser der Qualität 1 nach EN ISO 3696 verwendet. Die Lösemittel müssen, wenn nicht anders festgelegt, von geeignetem Reinheitsgrad für die LC-Analyse sein.

**5.1 Wasser**, deionisiert.

**5.2 Wasser**, LC-MS-Qualität.

**5.3 Acetonitril**, p.a.

**5.4 Methanol**, LC-MS-Qualität.

**5.5 Essigsäure**, Reinheit größer als  $w \geq 98 \%$ .

#### 5.6 Ammoniumformiat, p.a.

#### 5.7 Extraktionslösung Acetonitril/Wasser/Essigsäure, (80 + 19 + 1, v + v + v).

800 ml Acetonitril (5.3) werden mit 190 ml Wasser (5.1 oder 5.2) und 10 ml Essigsäure (5.4) in einer 1 000-ml-Flasche gemischt. Diese Lösung ist bei Raumtemperatur aufbewahrt 3 Monate stabil.

#### 5.8 Phomopsin A, isoliert aus *Phomopsis leptostromiformis*.

#### 5.9 Phomopsin A-Stammlösung (STD 1), Massenkonzentration $\rho = 500$ mg/l.

5 mg bis 6 mg der Phomopsin A-Vergleichssubstanz (5.8) werden genau in eine 30-ml-Braunglasflasche eingewogen. Eine Lösung mit einer Massenkonzentration von 500 mg/l wird in Methanol (5.4) hergestellt. Das Gewicht und die Reinheit der Vergleichssubstanz müssen berücksichtigt werden. Diese Lösung ist im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt 3 Monate stabil.

#### 5.10 Phomopsin A-Standardlösung (STD 2), $\rho = 10$ mg/l.

100 µl Stammlösung (STD 1) (5.9) werden in einen kalibrierten 5-ml-Messkolben pipettiert und mit Methanol (5.4) aufgefüllt. Diese Lösung ist im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt 3 Monate stabil.

#### 5.11 Phomopsin A-Standardlösung (STD 3), Massenkonzentration $\rho = 250$ µg/l.

250 µl Standardlösung (STD 2) (5.10) werden in einen kalibrierten 10-ml-Messkolben pipettiert und mit Methanol (5.4) aufgefüllt.

#### 5.12 Zwischenlösungen zur Herstellung der Matrix-angepassten Standardlösungen.

Verschiedene Volumina der Phomopsin A -Standardlösung (5.11) und Methanol (5.4) werden nach Tabelle 1 in sieben Glasfläschchen (6.9) eingebracht. Der Schraubverschluss wird verschlossen und der Inhalt gemischt. Diese Lösungen werden für jede Analysenreihe frisch hergestellt.

**Tabelle 1 — Zwischenlösungen von Phomopsin A in Methanol**

| Zwischenlösung | Standardlösung<br>STD 3 (5.11) | Methanol | Massenkonzentration |
|----------------|--------------------------------|----------|---------------------|
| Nr.            | µl                             | µl       | µg/l                |
| 1              | 25                             | 975      | 6,25                |
| 2              | 50                             | 950      | 12,5                |
| 3              | 100                            | 900      | 25                  |
| 4              | 200                            | 800      | 50                  |
| 5              | 350                            | 650      | 87,5                |
| 6              | 500                            | 500      | 125                 |
| 7              | 650                            | 350      | 162,5               |

#### 5.13 Matrix-angepasste Kalibrierlösungen.

Matrix-angepasste Kalibrierlösungen werden in Glasfläschchen (6.9) nach Tabelle 2 hergestellt.

Die Matrix-angepassten Kalibrierlösungen dürfen auch direkt in Autosamplерfläschchen mit Einsätzen oder Filtervials hergestellt werden. In diesem Fall werden die in Tabelle 2 angegebenen Volumina proportional reduziert.

Nachdem einmal gezeigt wurde, dass Linearität besteht, kann die Anzahl der Kalibrierpunkte an die lokalen Bedürfnisse und Anforderungen angepasst werden.

**Tabelle 2 — Matrix-angepasste Kalibrierlösungen von Phomopsin A im Blindextrakt aus der Matrix**

| <b>Kalibrier-<br/>lösung</b> | <b>Massen-<br/>konzentration</b> | <b>Blind-<br/>extrakt</b> | <b>Phomopsin A<br/>Zwischenlösungen<br/>(5.12) nach Tabelle 1</b> | <b>Wasser (5.2)</b> | <b>Entspricht<br/>Massenanteil in<br/>der Probe</b> |
|------------------------------|----------------------------------|---------------------------|-------------------------------------------------------------------|---------------------|-----------------------------------------------------|
| Nr.                          | µg/l                             | µl                        | µl                                                                | µl                  | µg/kg                                               |
| 0                            | 0                                | 975                       | 0                                                                 | 500                 | 0                                                   |
| 1                            | 0,3125                           | 500                       | 50 µl Nr. 1                                                       | 500                 | 2,5                                                 |
| 2                            | 0,625                            | 450                       | 50 µl Nr. 2                                                       | 500                 | 5,0                                                 |
| 3                            | 1,25                             | 450                       | 50 µl Nr. 3                                                       | 500                 | 10,0                                                |
| 4                            | 2,5                              | 450                       | 50 µl Nr. 4                                                       | 500                 | 20,0                                                |
| 5                            | 4,375                            | 450                       | 50 µl Nr. 5                                                       | 500                 | 35,0                                                |
| 6                            | 6,25                             | 450                       | 50 µl Nr. 6                                                       | 500                 | 50,0                                                |
| 7                            | 8,125                            | 450                       | 50 µl Nr. 7                                                       | 500                 | 65,0                                                |

## **6 Geräte und Ausrüstung**

Übliche Laborglasgeräte insbesondere die Folgenden:

- 6.1 Konische Zentrifugenröhrchen aus Polypropylen mit Schraubverschluss**, 50 ml mit Deckel.
- 6.2 Messkolben**, 5 ml und 10 ml.
- 6.3 Analysenwaage**, Fehlergrenze: 0,1 mg.
- 6.4 Laborwaage**, Fehlergrenze: 0,01 g.
- 6.5 Pipetten**, z. B. 10 µl bis 1 000 µl, geeignet für organische Lösemittel.
- 6.6 Einstellbare mechanische vertikale oder horizontale Schüttler oder Überkopfschüttler**
- 6.7 Laborschüttler**.
- 6.8 Zentrifuge** geeignet für eine relative Zentrifugalkraft von 3 500 *g*.
- 6.9 Fläschchen**, 1,5 ml bis 2 ml, für Zwischenlösungen (5.12), aus Glas oder Polypropylen, mit Schraubverschluss.
- 6.10 Spritzenfilter**, 0,20 µm bis 0,45 µm, Nylon oder PTFE (zur optionalen Filtration von Extrakten).
- 6.11 Autosampler-Fläschchen**, von geeigneter Größe für den verwendeten Autosampler, z. B. Glas mit Einsätzen, Filtervials (Polytetrafluorethylen (PTFE) 0,45 µm), mit Bördelkappe oder gleichwertig.

## 6.12 LC-MS/MS-System mit folgenden Komponenten:

**6.12.1 LC-Pumpe**, geeignet für einen binären Gradienten mit dem für die Trennsäule geeigneten Durchfluss mit ausreichender Genauigkeit.

**6.12.2 Injektionssystem**, das ein geeignetes Volumen der Injektionslösung mit ausreichender Genauigkeit injiziert und Kreuzkontamination unter 0,1 % ermöglicht.

**6.12.3 LC-Säule**, geeignet, Phomopsin A mit einem Retentionsfaktor von mindestens zwei und einer Basislinientrennung zu erhalten, damit der Phomopsin-A-Peak von allen anderen Peaks unterschieden werden kann. Beispiele für geeignete Säulen sind in Anhang B aufgelistet.

**6.12.4 Säulen-Ofen**, der eine konstante Temperatur aufrechterhalten kann.

**6.12.5 Tandem-Massenspektrometer (MS/MS)**, geeignet für die Ionisation von Phomopsinen mit ausgewählter Reaktionsüberwachung (en: selected reaction monitoring, SRM) mit einem ausreichend großen dynamischen Bereich.

Jede Ionisationsquelle, die ausreichende Signale liefert, darf verwendet werden.

**6.12.6 Datenauswertungssystem.**

## 7 Verfahren

### 7.1 Probenvorbereitung

Die Laborprobe wird fein gemahlen, homogenisiert und bis zur Untersuchung im Dunkeln aufbewahrt.

### 7.2 Extraktion

5 g homogenisierte Probe (Einwaage) werden auf 0,01 g in ein 50 ml Zentrifugenröhrchen (6.1) eingewogen.

An diesem Punkt werden alle Dotierungen für Qualitätskontrollzwecke hinzugefügt (z. B. Wiederfindungsbestimmungen), z. B. 100 µl Standardlösung STD 3 (5.11) zu einer Probe von 5 g, dies ergibt eine Aufstockung von 5 µg/kg.

20,0 ml Extraktionslösung (5.7) werden in das Röhrchen gegeben, dieses wird verschlossen und kräftig von Hand oder mit dem Laborschüttler (6.7) geschüttelt.

Die Röhrchen werden in einen mechanischen Schüttler (6.6) gestellt und etwa 60 min mit einer Geschwindigkeit extrahiert, die eine vollständige Suspension und Vermischung der Probe im Extraktionslösemittel sicherstellt.

Die Röhrchen werden 10 min bei etwa 3 500 g (6.8) zentrifugiert.

Bei Bedarf wird ein Teil des klaren Extrakts in ein sauberes Fläschchen übertragen und für mögliche Wiederholungen bis zu sieben Tagen im Kühlschrank bei 4 °C gelagert.

### 7.3 Vorbereitung der Probenmesslösungen

Entweder werden 500 µl des Extrakts (7.2) in ein Fläschchen (6.9) gegeben, mit 500 µl Wasser (5.2) versetzt und gemischt (6.7) oder 200 µl des Extrakts werden in ein Filtrivial (6.11) gegeben und mit 200 µl Wasser (5.2) ohne die Lösung zu Filtrieren versetzt.

Der Extrakt wird im Kühlschrank bei 4 °C gekühlt.

Wenn der Extrakt im Fläschchen (6.9) nach dem Abkühlen trüb ist, wird er durch einen Spritzenfilter (6.10) gefiltert oder zentrifugiert. Bei Verwendung von Filterfläschchen wird die Filtereinheit im Fläschchen heruntergedrückt.

## **7.4 LC-MS/MS Analyse**

### **7.4.1 Allgemeines**

Die analytischen Parameter (Auswahl des Ionisationsmodus, Auswahl der Massen von Vorläufer- und Produkt-Ionen, Optimierung von Conespannungen und Kollisionsenergien) werden durch Infusion und Injektion der Phomopsin-A-Standardlösungen optimiert.

Die Kombination von Trennsäule, Zusammensetzung der mobilen Phase, Gradienteneinstellung und Injektionsvolumen muss so gewählt werden, dass es zu einer annehmbaren Trennung und verlässlichen Ergebnissen bei den entsprechenden Gehalten führt, mit ausreichender Selektivität um eine möglichst geringe Rate an falsch negativen Ergebnissen zu gewährleisten.

Beispiele für Geräte und Geräteeinstellungen, die dies gezeigt haben sowie extrahierte Ionenchromatogramme sind in Anhang B aufgeführt.

### **7.4.2 Mess-Serienzusammensetzung und Analysensequenz**

Um die Kontaminationsfreiheit des Systems zu zeigen, wird eine Messreihe immer mit einem Reagenzienblindwert gestartet. Dann werden die Kalibrierlösungen, gefolgt von einem Reagenzienblindwert; injiziert, um auf mögliche Überlagerungen zu prüfen. Anschließend werden die Prüflösungen injiziert. Bei größeren Probensequenzen wird die Kalibrierlösung Nr. 4 (Tabelle 2) (2,5 µg/l) nach jeweils etwa 10 Proben eingespritzt. Am Ende der Sequenz wird die Kalibrierreihe neu eingespritzt.

### **7.4.3 Identifizierung von Phomopsin A**

Das Phomopsin A in den Prüflösungen wird durch Vergleich der Retentionszeiten und der Ionenverhältnisse der Matrix-angepassten Kalibrierlösungen mit denen der Probenmesslösung identifiziert. Phomopsin A gilt als identifiziert, wenn:

- a) der Reagenzienblindwert keinen Peak für das Quantifier-Ion bei einer Retentionszeit von Phomopsin A zeigt, der 30 % des Schwellenwerts (reporting limit) übersteigt;
- b) die Retentionszeit des für die Messlösung beobachteten Peaks sich um weniger als 0,1 min von der durchschnittlichen Retentionszeit unterscheidet, die aus den Kalibrierlösungen berechnet wurde;
- c) das Verhältnis der Fläche der beiden Übergänge (niedrigste Peakfläche/höchste Peakfläche) der für die Messlösung beobachteten Peaks um weniger als 30 % (relativ) vom mittleren Ionenverhältnis der Kalibrierstandards abweicht.

Für die Berechnung des Referenz-Ionenverhältnisses werden nur Signale mit einem S/N > 10 verwendet. Bei höheren Konzentrationen werden Peakflächen, die den linearen Bereich überschreiten, von der Berechnung des Referenz-Ionenverhältnisses ausgeschlossen.

### **7.4.4 Kalibrierung**

Die Peakflächen des Quantifiers (Y-Achse) aller einzelnen Kalibrierlösungen (5.13, Kalibrierlösungen 0 bis 7 nach Tabelle 2) werden gegen die entsprechenden Massenkonzentrationen (µg/l) (X-Achse) aufgetragen. Der Quantifier ist der Übergang, der insgesamt den besten S/N-Wert ergibt. Eine Kalibriergerade mit der (gewichteten) kleinsten quadratischen Regression wird mit allen einzelnen Daten erstellt. Die Kalibriergerade genügt den Anforderungen, wenn die berechnete Massenkonzentration für die einzelnen Kalibrierlösungen mit der Kalibriergleichung innerhalb von 20 % der Ist-Konzentration liegt. Wenn höhere

Abweichungen bzw. eine Nichtlinearität beobachtet werden, müssen die Ursachen identifiziert und die Untersuchungen wenn erforderlich wiederholt werden.

In diesem Verfahren wird anhand von Matrix-angepassten Kalibrierlösungen kalibriert, um Ionen-suppression oder –enhancement auszugleichen, die bei LC-MS/MS-Untersuchungen vorkommen können. Dies ist erforderlich, es sei denn, es hat sich gezeigt, dass die Matrixeffekte nicht signifikant sind und so lange keine isoto-penmarkierten internen Standards erhältlich sind. Für die im Ringversuch getesteten Matrices haben sich Phomopsin-freie Lupinensamen als geeignet für die Kalibrierung gezeigt. Für andere Matrices muss die Eignung der Matrix-angepassten Kalibrierlösungen verifiziert werden.

## 8 Berechnung

Der Massenanteil an Phomopsin A in der Probe,  $w$  in  $\mu\text{g}/\text{kg}$  wird mit linearer Regression nach Gleichung (1) berechnet:

$$w = \frac{A - I}{S} \times \frac{V_e \times D}{m_s} \quad (1)$$

Dabei ist

- $A$  die Fläche des Quantifier-Ions von Phomopsin A in der Probe, in Zähl- oder beliebigen Einheiten;
- $I$  der Schnittpunkt, geschätzt mit der (eventuell gewichteten) Regression aus den Kalibrierdaten;
- $S$  die Steigung, geschätzt mit der (eventuell gewichteten) Regression aus den Kalibrierdaten;
- $m_s$  die Masse der Einwaage in g;
- $V_e$  das Extraktionsvolumen in ml (hier: 20,0 ml);
- $D$  der Verdünnungsfaktor des ursprünglichen Extrakts (üblicherweise 2).

## 9 Präzision

### 9.1 Allgemeines

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

### 9.2 Wiederholpräzision

Die absolute Differenz zwischen zwei einzelnen Ergebnissen, die ein einzelner Bearbeiter an identischem Untersuchungsmaterial mit denselben Geräten innerhalb der kürzesten möglichen Zeitspanne erhält, überschreitet die Wiederholgrenze  $r$  nicht häufiger als in 5 % der Fälle, siehe Tabelle 3.

### 9.3 Vergleichpräzision

Die absolute Differenz zwischen zwei einzelnen Ergebnissen, die zwei Laboratorien für identisches Untersuchungsmaterial erhalten, überschreitet die Vergleichsgrenze  $R$  nicht häufiger als in 5 % der Fälle, siehe Tabelle 3.