

DIN EN 18054



ICS 67.050

Einsprüche bis 2024-04-16

Entwurf

**Lebensmittelauthentizität –
Bestimmung von C- und/oder N-Isotopenverhältnissen in Lebensmitteln
mittels Elementaranalyse mit Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie
(EA-IRMS);
Deutsche und Englische Fassung prEN 18054:2024**

Food authenticity –
Determination of C and/or N isotope ratios in food by Elemental Analyser –
Isotope Ratio Mass Spectrometry (EA-IRMS);
German and English version prEN 18054:2024

Authenticité des aliments –
Détermination des rapports isotopiques C et/ou N dans les aliments par analyseur
élémentaire –
spectrométrie de masse à rapport isotopique (EA-IRMS);
Version allemande et anglaise prEN 18054:2024

Anwendungswarnvermerk

Dieser Entwurf mit Erscheinungsdatum 2024-02-16 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

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

Stellungnahmen werden erbeten

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

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

Gesamtumfang 65 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 18054:2024) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 460 „Lebensmittelauthentizität“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Arbeitskreis NA 057-08-02-06 AK „Stabilisotopenanalyse“ 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.

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

**Lebensmittelauthentizität – Bestimmung von C- und/oder N-Isotopenverhältnissen
in Lebensmitteln mittels Elementaranalyse mit
Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (EA-IRMS)**

Food authenticity – Determination of C and/or N isotope ratios in food by Elemental Analyser – Isotope Ratio Mass Spectrometry (EA-IRMS)

Authenticité des aliments – Détermination des rapports isotopiques C et/ou N dans les aliments par analyseur élémentaire – spectrométrie de masse à rapport isotopique (EA-IRMS)

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Kurzbeschreibung	8
4.1 Allgemeines	8
4.2 Einführung der Probe	8
4.3 Flash-Verbrennung und Reduktion	8
4.3.1 Allgemeines	8
4.3.2 Anorganischer Stickstoff	9
4.4 Gastrennung	9
4.5 Messung mit Massenspektrometer	9
4.6 Korrekturen der anfänglichen Isotopen-Delta-Werte	10
4.7 Normierung	10
5 Reagenzien	10
6 Prüfeinrichtung	11
7 Durchführung	11
7.1 Voraussetzungen	11
7.2 Probenvorbereitung	12
7.3 Sequenzplanung	12
7.4 Prüfungen des Messgeräts	13
7.4.1 Allgemeines	13
7.4.2 Hintergründe	13
7.4.3 Stabilität des Arbeitsgases	13
7.4.4 Linearität (Änderung der Amplitude in Abhängigkeit vom gemessenen Isotopen-Delta-Werts) des Arbeits-/Flaschengases	13
7.4.5 Kalibrierung des „Magnetsprungs“ (nur bei Dual-Isotopen-Delta-Messungen)	14
7.5 Instrumentelles Verfahren	14
7.6 Datenverarbeitung	14
7.6.1 Allgemeines	14
7.6.2 Zurückweisung von einzelnen Durchläufen innerhalb einer Sequenz	15
7.6.3 Aufzuzeichnende Daten	15
7.6.4 Bewertung von und Korrekturen an rohen Isotopen-Delta-Werten	15
7.6.5 Zurückweisung von einzelnen Proben innerhalb einer Sequenz	17
7.6.6 Zurückweisung ganzer Sequenzen	18
8 Präzision	18
8.1 Allgemeines	18
8.2 Wiederholpräzision	18
8.3 Vergleichpräzision	19
8.4 Unsicherheit	20
Anhang A (informativ) Ringversuch-Verfahrensvalidierung	21
A.1 Untersuchungsplan und Verfahrensleistung	21
A.2 Datenverarbeitung	21
A.3 Ergebnisse für $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$	21
A.4 Ergebnisse für $\delta^{15}\text{N}_{\text{Air-N}_2}$	23
Anhang B (informativ) Beispiel für die Datenverarbeitung	26
B.1 Allgemeines	26
B.2 Anforderungen	26
B.3 Beschreibung	26
B.4 Prüfdatensatz	26

B.5	Überprüfung der Ausgangsdaten	28
B.5.1	Unzureichende Chromatographie	28
B.5.2	Peak-Fläche	28
B.5.3	Differenz im Isotopen-Delta-Wert der Parallelprobe	28
B.6	Datenverarbeitung	29
B.6.1	Allgemeines	29
B.6.2	Eingabe von Daten	29
B.6.3	Korrektur der Blindprobe	29
B.6.4	Korrektur der Masse/Linearität	29
B.6.5	Korrektur von Memory/Carryover	30
B.6.6	Korrektur der Drift	30
B.6.7	Normierung	30
B.7	Beispielsergebnisse	31
	Literaturhinweise	32

Bilder

Bild A.1	Standardabweichungen der Wiederholpräzision und Vergleichpräzision des Kohlenstoff-Isotopen-Delta-Werts gegen den Massenanteil des Kohlenstoffs, in Prozent	23
Bild A.2	Standardabweichungen der Wiederholpräzision und Vergleichpräzision des Stickstoff-Isotopen-Delta-Werts gegen den Massenanteil des Stickstoffs, in Prozent	25

Tabellen

Tabelle 1	Massenanteile und Wiederholpräzision von Isotopen-Delta-Werten für Kohlenstoff und Stickstoff aus exemplarischen Lebensmittelmatrices, die in die Ringversuch-Verfahrensvalidierung einbezogen wurden	18
Tabelle 2	Massenanteile und Vergleichpräzision von Isotopen-Delta-Werten für Kohlenstoff und Stickstoff aus exemplarischen Lebensmittelmatrices, die in die Ringversuch-Verfahrensvalidierung einbezogen wurden	19
Tabelle A.1	Ergebnisse der Ringversuch-Verfahrensvalidierung für Kohlenstoff-Isotopen-Delta-Werte	22
Tabelle A.2	Ergebnisse der Ringversuch-Verfahrensvalidierung für Stickstoff-Isotopen-Delta-Werte	24
Tabelle B.1	Prüfdatensatz	27

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 18054:2024) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 460 „Lebensmittelauthentizität“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument bildet die Grundlage für die Analyseverfahren. Der Aufbau der erforderlichen Prüfeinrichtung hängt weitgehend von deren Konstruktionsprinzipien ab, und die spezifischen Empfehlungen der Hersteller müssen eingehalten werden. Es soll als Rahmen dienen, in dem der Analytiker seine eigene analytische Arbeit in Übereinstimmung mit dem Standardverfahren festlegen kann.

Einleitung

Das Verhältnis der stabilen Isotope von Kohlenstoff und Stickstoff wird häufig als Isotopen-Delta-Wert (δ) ausgedrückt, wobei es sich um das Verhältnis zwischen dem schwereren und dem leichteren Isotop des Elements in einer bestimmten Probe im Vergleich zu demselben Verhältnis in einer vereinbarten Referenz handelt.

Das Verhältnis der stabilen Isotope des Kohlenstoffs kann Informationen über den Stoffwechselweg der Photosynthese liefern, der die Grundlage der Nahrungskette für das betreffende biologische Material bildet. Der Unterschied zwischen dem Calvin-Benson-Zyklus bei C_3 -Pflanzen und dem Hatch-Slack-Zyklus bei C_4 -Pflanzen während der Photosynthese führt zum Beispiel zu einem messbaren Unterschied im Verhältnis von ^{13}C zu ^{12}C bei den Zuckern und anderen nachfolgenden Molekülen der Biosynthese.

Das Verhältnis der stabilen Stickstoffisotope variiert auch zwischen den einzelnen Lebensmittelgruppen. Das Verhältnis von ^{15}N zu ^{14}N nimmt mit der trophischen Ebene aufgrund der bevorzugten Exkretion von ^{14}N -haltigen Molekülen wie Harnstoff oder Harnsäure zu. Das Stickstoff-Isotopenverhältnis im Pflanzenmaterial wird auch durch die Art der Düngung beeinflusst.

Die Analyse des Verhältnisses stabiler Isotope in Lebensmitteln ermöglicht es, Informationen über die biologische und geografische Herkunft sowie über Verfälschungen und die Echtheit zu erhalten. So kann beispielsweise die Verfälschung von Honig aus C_3 -Pflanzen mit raffinierten Zuckern aus C_4 -Pflanzen nachgewiesen werden, ebenso wie der Unterschied zwischen Mais (eine C_4 -Pflanze) und Weizen oder anderen mit Getreide gefütterten Hühnern.

Dieses Dokument betrifft instrumentelle Verfahren zur Bestimmung von Isotopen-Delta-Werten von Kohlenstoff und/oder Stickstoff in Lebensmitteln.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument behandelt die instrumentelle Analyse von Lebensmitteln mittels Elementaranalysator und einem Isotopenverhältnis-Massenspektrometer (EA-IRMS) zur Bestimmung des C- und/oder N-Isotopenverhältnisses.

Die nach diesem Dokument ermittelten Isotopenverhältnisse werden als $\delta_{13}\text{C}$ und/oder $\delta_{15}\text{N}$ -Werte relativ zu internationalen Messnormalen ausgedrückt.

Die Probenvorbereitung ist in diesem Dokument nicht enthalten. Es wird davon ausgegangen, dass die Lebensmittelprobe wie erforderlich vorbehandelt und homogenisiert wurde.

Auch die Auswertung der erhaltenen Isotopen-Delta-Werte wird in diesem Dokument nicht behandelt. Die Anwendung dieses Protokolls führt nur zu Isotopen-Delta-Werten für die Probenmaterialien.

Es können feste und/oder flüssige Probenmaterialien nach diesem Dokument analysiert werden.

Obwohl auch andere instrumentelle Techniken zur Bestimmung von $\delta^{13}\text{C}$ - und/oder $\delta^{15}\text{N}$ -Werten in Lebensmitteln angewendet werden können, werden diese anderen Techniken von diesem Dokument nicht abgedeckt.

2 Normative Verweisungen

Es gibt keine normativen Verweisungen in diesem Dokument.

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

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

- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: verfügbar unter <https://www.electropedia.org/>

3.1

Isotopen-Delta-Wert

δ

Verhältnis von stabilen Isotopen eines Materials, ausgedrückt im Verhältnis zu einer Referenz entsprechend dem Beispielsausdruck unter Verwendung von Kohlenstoff:

$$\delta_{\text{ref}}(^{13}\text{C}/^{12}\text{C}) = \frac{R_{\text{sample}}(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})}{R_{\text{ref}}(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})} - 1 \quad (1)$$

Anmerkung 1 zum Begriff: $_{\text{ref}}$ ist die Referenz.

Anmerkung 2 zum Begriff: Ein ähnlicher Ausdruck kann für den Stickstoff-Isotopen-Delta-Wert unter Verwendung von $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ anstelle von $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ erstellt werden.

Anmerkung 3 zum Begriff: Die Termini $\delta_{\text{ref}}(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})$ und $\delta_{\text{ref}}(^{15}\text{N}/^{14}\text{N})$ werden häufig vom korrekten IUPAC-Format in $\delta^{13}\text{C}_{\text{ref}}$ und $\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}}$ geändert. In diesem Dokument werden aus Gründen der Vertrautheit die letztgenannten Ausdrücke verwendet.

Anmerkung 4 zum Begriff: Um die internationale Vergleichbarkeit von Isotopen-Delta-Werten sicherzustellen, wird für jedes Isotopenverhältnis eine gemeinsame Referenz verwendet. Diese Referenz ist ein internationales Messnormal, das vereinbarungsgemäß zugeordnet wird und dessen Isotopen-Delta-Wert genau gleich null ist.

Anmerkung 5 zum Begriff: Isotopen-Delta-Werte, die im Vergleich zu einer gemeinsamen Referenz berichtet werden, werden als auf der gleichen Skala liegend bezeichnet. Der Name der Skala entspricht in der Regel dem der Referenz.

Anmerkung 6 zum Begriff: Die Isotopen-Delta-Werte für die natürliche Isotopenhäufigkeit von Kohlenstoff und Stickstoff in Lebensmitteln sind klein und werden in Promille (‰) und nicht in ihrer ursprünglichen Form angegeben.

3.2

Vienna Pee Dee Belemnite

VPDB

internationales Messnormal für $\delta^{13}\text{C}$

Anmerkung 1 zum Begriff: VPDB ist ein virtuelles Carbonat.

Anmerkung 2 zum Begriff: Die Kohlenstoff-Isotopenzusammensetzung von VPDB wird definiert durch den genauen Isotopen-Delta-Wert, der dem Calciumcarbonat-Referenzmaterial NBS19 zugeordnet wurde, von $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} = +1,95 \text{ ‰}$.

Anmerkung 3 zum Begriff: Um die Rückführbarkeit auf die VPDB-Skala sicherzustellen, werden die Isotopen-Delta-Werte von Kohlenstoff mit zwei oder mehr Referenzmaterialien normiert, um Skalierungseffekte während der Messung (7.6.4.5) [1] zu berücksichtigen.

3.3

Luftstickstoff

Luft-N₂

internationales Messnormal für $\delta^{15}\text{N}$

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Luft-N₂-Stickstoff-Isotopen-Delta-Skala wird durch die exakten Isotopen-Delta-Werte definiert, die dem Luftstickstoff und dem Kaliumnitrat-Referenzmaterial USGS32 mit $\delta^{15}\text{N}_{\text{Air-N}_2} = 0$ und $+180 \text{ ‰}$ zugeordnet sind [1,2].

Anmerkung 2 zum Begriff: Um die Rückführbarkeit auf die Luft-N₂-Skala sicherzustellen, werden die Isotopen-Delta-Werte von Stickstoff mit zwei oder mehr Referenzmaterialien normiert, um Skalierungseffekte während der Messung zu berücksichtigen (7.6.4.5) [1].

3.4

Probengas

Analytgas, das durch Umwandlung des Probenmaterials im Elementaranalysator erhalten wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Das Probengas ist Kohlendioxid (CO₂) für die $\delta^{13}\text{C}$ -Bestimmung und Stickstoffgas (N₂) für die $\delta^{15}\text{N}$ -Bestimmung.

3.5

Arbeitsgas

Gas, das aus demselben Molekül besteht wie das Analytgas (d.h. CO₂ oder N₂), aber direkt aus einer Hochdruckgasflasche in das Massenspektrometer eingeleitet und nicht aus einem festen/flüssigen Probenmaterial innerhalb des Elementaranalysators erzeugt wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Wird auch als „Flaschengas“ oder „Überwachungsgas“ oder fälschlicherweise als „Referenzgas“ bezeichnet.

Anmerkung 2 zum Begriff: Ein Isotopen-Delta-Wert mit einem Arbeitsgas innerhalb seiner Rückführungskette auf das internationale Messnormal erfordert eine Normalisierung mit Referenzmaterialien mit bekanntem Isotopen-Delta-Wert, die in der gleichen Sequenz analysiert werden, bevor der Isotopen-Delta-Wert auf der internationalen Skala liegt.

3.6

Sequenz

Abfolge

kontinuierlicher Satz von Analysen, einschließlich Referenzmaterialien für die Normierung, QS/QK- Materialien (QS/QK-Materialien), verfahrensbezogener Blindproben und Proben, die zusammen vorbereitet und analysiert werden

Anmerkung 1 zum Begriff: Auch als „Charge“ bezeichnet.

4 Kurzbeschreibung

4.1 Allgemeines

Ein Sektorfeld-Massenspektrometer (Isotopenverhältnis- Massenspektrometer, IRMS) ermöglicht die Messung von Isotopenverhältnissen mit sehr hoher Präzision in einfachen Gasen.

Vor der Bestimmung der Kohlenstoff- und Stickstoffisotopensignatur von festen oder flüssigen Proben müssen diese in CO₂- und/oder N₂-Gas umgewandelt werden.

Dies erfolgt in einem Elementaranalysator (EA) durch Hochtemperaturverbrennung und anschließende Umwandlungs-, Reinigungs- und Trennschritte.

4.2 Einführung der Probe

Homogenisiertes Probenmaterial sollte in Zinnkapseln, -schiffchen oder -folie eingewogen, versiegelt und dann in das Probenkarusell eines Autosamplers geladen werden. Die Autosampler sollten eine kontaminationsfreie Einführung der Kapseln in den Verbrennungsreaktor ermöglichen. Flüssige Proben bis zu einer bestimmten Viskosität können mit dem Flüssigkeitsautosampler über luftdichte Septen injiziert werden. Diejenigen mit höherer Viskosität können in glattwandige Zinnkapseln eingewogen und mit geeigneten Vorrichtungen verschlossen werden.

4.3 Flash-Verbrennung und Reduktion

4.3.1 Allgemeines

In der EA wird das Probenmaterial quantitativ oxidiert, um eine Isotopen-Fraktionierung zu vermeiden. Dies geschieht in einem Reaktor aus Quarz oder Stahl, der kontinuierlich mit hochreinem He-Trärgas gespült wird. Die Reaktortemperatur wird in der Regel zwischen 900 °C und 1 200 °C entsprechend den Angaben des Herstellers aufrechterhalten.

Um eine vollständige Verbrennung der Probe sicherzustellen, wird O₂-Gas in den Heliumstrom injiziert („O₂-Puls“). Das O₂ muss in stöchiometrischem Überschuss vorhanden sein, um eine vollständige Oxidation der Probe zu erreichen. Allerdings muss das ungenutzte O₂ durch Reduktion entfernt werden, um zu verhindern, dass O₂ in das Trennsystem und/oder das IRMS gelangt.

Die vollständige Oxidation wird durch einen Oxidationskatalysator erleichtert. Der Reaktor enthält in der Regel [Kupfer(II)-, Chrom(III)- oder W(VI)-Oxide] und einen Scavenger zur Bindung von Schwefel und Halogenen [Kobalt(II, III)-Oxid und/oder Silber], wobei die Hersteller für bestimmte Anwendungen eine Vielzahl von Varianten empfehlen.

Die Reaktionswärme wird durch die Oxidation der Zinnkapseln, -schiffchen oder -folien unterstützt, wodurch die Temperatur auf etwa 1 800 °C ansteigt (Schnellbrennen).

Die Verbrennung führt zur Entstehung der folgenden Gase: N₂, NO_x, CO₂ und H₂O. Andere Nebenprodukte wie z. B. Halogene und Schwefeloxide werden, wie bereits zuvor erwähnt, mit einem Scavenger entfernt.

Nicht brennbare Stoffe verbleiben in Form von Asche im Reaktor.

Die Reduktion von NO_x zu N₂ erfolgt bei niedrigeren Temperaturen, entweder in einem kühleren Teil eines einzelnen Rohrs oder in einem separaten Ofen, der in der Regel zwischen 600 °C und 850 °C gehalten wird. Dabei wird auch überschüssiger Sauerstoff entfernt. Der Reduktionsprozess beruht in der Regel auf hochreinem elementarem Kupfer oder Wolfram, und auch hier werden für bestimmte Anwendungen verschiedene Varianten empfohlen.

Im Anschluss an den/die Verbrennungs-/Reduktionsreaktor(en) sollte ein Wasserabscheider vorhanden sein, um die bei der Verbrennung entstehende Feuchtigkeit zu entfernen.

4.3.2 Anorganischer Stickstoff

Herkömmliche Verbrennungsverfahren, die zur Erzeugung von N₂ für Isotopenmessungen verwendet werden, sind nicht quantitativ für Materialien, die Stickstoff in hohen Oxidationsstufen enthalten, insbesondere Nitrate [3,4].

Dies kann zu einer Abweichung der Ergebnisse des Stickstoff-Isotopenverhältnisses führen, und es wird empfohlen, die Umwandlung durch thermische Zersetzung im Gegensatz zur Verbrennung durchzuführen.

Die EA-Konfiguration für die Analyse von Nitraten ist die gleiche wie für die Verbrennung, außer dass empfohlen wird, den „O₂-Puls“ zu deaktivieren und den Zeitpunkt des Verfahrens leicht zu ändern, so dass sich die Proben bei hoher Temperatur zersetzen und nicht verbrennen.

Der Nettoeffekt ist eine Verringerung der Menge an NO_x gegenüber N₂, die bei der thermischen Umwandlung der Proben in Gas erzeugt wird.

4.4 Gastrennung

Die N₂ und CO₂-Gase werden entweder durch eine Gaschromatographiesäule (GC) oder durch ein „Purge-and-Trap“-System getrennt [5].

Beim Purge-and-Trap-Verfahren strömt Stickstoff direkt durch das System, während andere entstehende Gase (CO₂ usw.) in einem oder mehreren Sorptionsrohren (praktisch kurze GC-Säulen) gesammelt werden. Diese Traps werden dann nacheinander erhitzt, um die Gase in das MS zu entlassen.

Wenn nur die Stickstoff-Isotopenverhältnisse zu bestimmen sind, kann das CO₂ aus dem Gasstrom mit einer chemischen Falle entfernt werden, die Natronkalk oder Natriumhydroxid auf einem Siliziumdioxid-Substrat enthält. Diese Reagenzien bilden bei der Absorption von CO₂ Wasser und sollten zwischen zwei Wasserfallen platziert werden.

Die Probengase, insbesondere CO₂, können vor der Überführung in das IRMS durch einen zusätzlichen Heliumgasstrom im Trägerstrom verdünnt werden.

4.5 Messung mit Massenspektrometer

Die Gasmoleküle werden in einer Elektronenstoß-Ionenquelle (EI) ionisiert, und die Hauptisotopologen-Ionen des Molekülions werden gemessen.

Nach der Beschleunigung durch ein statisches elektrisches Feld werden die Ionen durch ihren Impuls getrennt. Der Separator ist in der Regel ein Elektromagnet, obwohl auch Dauermagnete verwendet wurden.

Die Ionen werden in einer Reihe von Detektoren (meist Faraday-Becher) nachgewiesen, die gleichzeitig die gewünschten Ionen auffangen.

ANMERKUNG Die Faraday-Becher sammeln Ionen mit m/z -Werten von 44, 45 und 46 bei der Messung des Kohlenstoff-Isotopenverhältnisses von CO₂ und Ionen mit m/z -Werten von 28, 29 und 30 bei der Messung des Stickstoff-Isotopenverhältnisses von N₂.

Üblicherweise berechnet die IRMS-Gerätesoftware automatisch Isotopen-Delta-Rohwerte, die für die nachfolgende Datenverarbeitung verwendet werden können. Dieses Verfahren umfasst die Integration der Peak-Signale der Probe und des Arbeitsgases aus den Faraday-Kollektoren, die Berechnung der Verhältnisse dieser integrierten Ionenströme, die Korrektur von Isobarenstörungen, sofern erforderlich (z. B. die Korrektur des Beitrags von $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$ zum m/z 45-Signal) und die Umwandlung der korrigierten Verhältnisse in Isotopen-Delta-Rohwerte. Der Anwender muss möglicherweise verschiedene Parameter festlegen, wie z. B. bekannte/zugeordnete Isotopen-Delta-Werte des Arbeitsgases.

4.6 Korrekturen der anfänglichen Isotopen-Delta-Werte

Innerhalb der anfänglichen Isotopen-Delta-Werte können mehrere Effekte vorhanden sein. Diese umfassen Beiträge von Blindproben, Drift im Isotopen-Delta-Wert mit der Zeit innerhalb einer Sequenz, einen Massen- (oder Linearitäts-) Effekt, bei dem der für ein Material erhaltene Isotopen-Delta-Wert von der Menge des analysierten Elements abhängt, oder Speicher-/Verschleppungs-Effekte.

Die Notwendigkeit der Anwendung dieser Korrekturen sollte durch die Einbeziehung von verfahrensbezogenen Blindproben und Qualitätskontrollmaterialien in jede Analysensequenz bestimmt werden. Weitere Einzelheiten zu diesen Korrekturen sind in 7.6.4 enthalten.

4.7 Normierung

Die Analyse von Referenzmaterialien innerhalb derselben Sequenz wie die Proben ermöglicht die Verknüpfung der gemessenen Isotopen-Delta-Werte für die Proben mit dem internationalen Messnormal der Isotopen-Delta-Skala. Wenn Skalenkontraktionseffekte auftreten, müssen diese auch durch Referenzmaterialien mit sehr unterschiedlichen Isotopenverhältnissen korrigiert werden – ein Prozess, der als „Normierung“ bezeichnet wird. Weitere Einzelheiten sind in 7.6.4.5 enthalten.

Normierte Isotopen-Delta-Werte sind das Ergebnis der Anwendung dieses Dokuments.

ANMERKUNG Die Normierung kann auch als Kalibrierung bezeichnet werden.

5 Reagenzien

Sofern nicht anders angegeben, werden nur Reagenzien von anerkannter analytischer Qualität verwendet.

5.1 Helium-Trägergas ($\geq 99,99\%$).

ANMERKUNG He-Gas geringerer Reinheit kann vor der Einleitung in das EA-IRMS-Gerät direkt gereinigt werden.

5.2 Sauerstoff-Gas ($\geq 99,95\%$).

ANMERKUNG Die erforderliche Reinheit des Sauerstoffs wird vom Hersteller des Geräts angegeben.

5.3 Oxidations- und Reduktionsreagenzien für EA-Reaktoren.

Üblicherweise Kupfer(II)-, Chrom(III)- oder Wolfram(VI)-Oxide, Kobalt(II, III)-Oxid (mit/ohne Silber), elementares Kupfer.

5.4 Auffangmaterialien für die Gasreinigung.

Üblicherweise Magnesiumperchlorat oder Phosphorpentoxid zum Auffangen von Wasser; Natronkalk oder Natriumhydroxid auf einem Siliziumsubstrat zum Auffangen von CO_2 .

5.5 Zinnkapseln, -schiffchen oder -folien.

ANMERKUNG Für Flüssigkeiten werden „glattwandige“ Zinnkapseln verwendet.

5.6 Referenzmaterialien (RM) für die Normierung und Qualitätskontrolle/-sicherung (QK/QS).

Jede Analysensequenz muss Parallelproben von mindestens zwei verschiedenen Referenzmaterialien enthalten, die für die Normierung der Messergebnisse auf die Berichtsskala verwendet werden.

Die für die Normalisierung verwendeten Referenzmaterialien müssen auf die Berichtsskala rückführbar sein. Die IUPAC führt eine Liste von Referenzmaterialien mit nachgewiesener Rückführbarkeit auf die internationalen Messnormale der Isotopen-Delta-Werte [1]. Da die IUPAC-Liste nicht regelmäßig aktualisiert wird, können andere Referenzmaterialien verwendet werden, bei denen eine Rückverfolgbarkeit entweder direkt auf das internationale Messnormal oder auf andere Referenzmaterialien innerhalb des IUPAC-Berichts nachweisbar ist.

Wenn möglich, sollten die Referenzmaterialien für die Normierung nach dem Prinzip der identischen Behandlung (PIT, en: principle of identical treatment) [6] an die zu analysierenden Proben Matrix-angepasst sein. Wenn keine Matrix-angepassten Referenzmaterialien verfügbar sind, sollten organische Referenzmaterialien für die Normierung von organischen Proben und anorganische Referenzmaterialien für die Normierung von anorganischen Proben verwendet werden.

Sofern möglich, sollten die Referenzmaterialien den erwarteten Isotopen-Delta-Bereich der Proben abdecken, so dass die Normierung durch Interpolation und nicht durch Extrapolation erfolgen kann.

ANMERKUNG Wenn dies nicht möglich ist, ist die durch die Extrapolation verursachte zusätzliche Unsicherheit umso geringer, je größer der erfasste Bereich des Isotopen-Deltas ist.

Für die Qualitätskontrolle (QK) und die Qualitätssicherung (QS) werden innerhalb jeder Messequenz zusätzliche Referenzmaterialien benötigt. Diese sollten für jedes unterschiedliche Probenmaterial ein exakt an die Matrix angepasstes Material enthalten. Diese Referenzmaterialien können im Handel erhältlich sein, wenn nicht, müssen sie *intern* bestimmt werden [7].

6 Prüfeinrichtung

6.1 Hochpräzise Mikrowaage

ANMERKUNG Die Waage muss in der Lage sein, einige Zehn bis mehrere Hundert Mikrogramm eines Materials abzuwiegen und muss eine Fehlergrenze von höchstens 0,1 mg aufweisen.

6.2 Werkzeuge zur Handhabung der Kapseln (z. B. Pinzetten).

6.3 Werkzeuge zur Handhabung der Proben (z. B. Spatel).

6.4 EA-IRMS-Messgerät.

7 Durchführung

7.1 Voraussetzungen

- Ausreichend homogenisiertes Probenmaterial, um mindestens eine Doppelanalyse für jedes Element von Interesse zu ermöglichen:
 - Üblicherweise werden mindestens 40 µg des interessierenden Elements (C oder N) für jede Parallelprobe benötigt. Die genaue Menge hängt von der Konfiguration des Messgeräts, dem Verdünnungsfaktor und der Einstellung des Messgeräts ab.
 - Wenn die Elementzusammensetzung des Probenmaterials nicht bekannt ist, sollten mehrere Prüfmengen analysiert werden, um die erforderliche Materialmenge zu bestimmen.

- Wenn nicht genügend Material vorhanden ist, um eine getrennte Analyse von $\delta^{13}\text{C}$ und $\delta^{15}\text{N}$ zu ermöglichen, können beide Isotopen-Delta-Werte aus einer einzigen Analyse bestimmt werden, statt aus getrennten Analysen.
 - Die Dual-Isotopen-Delta-Analyse kann eine geringere Präzision aufweisen und erfordert eine sorgfältige Kalibrierung des Magnetsprungs zwischen den Gaskonfigurationen (siehe 7.4.5).
- Referenzmaterialien (RM), die für die Normierung, QK und QS zur Verfügung stehen (siehe 5.6).

7.2 Probenvorbereitung

Das homogene Probenmaterial, die Referenzmaterialien für die Normierung und für die QK/QS sollten genau in Zinnkapseln, -schiffchen oder -folien eingewogen werden, so dass jedes Material in Bezug auf das/die interessierende(n) Element(e) (C oder N) in ungefähr gleicher Menge vorliegt.

Werkzeuge, die zur Handhabung von Zinnkapseln und Probenmaterialien verwendet werden, sollten vor dem Gebrauch und zwischen den unterschiedlichen Materialien gereinigt werden.

Die Zinnkapseln müssen dann fest in eine Würfel- oder Kugelform gepresst werden, um das Material im Inneren zu schützen. Das Zusammenpressen kann mit einer Pinzette oder einem ähnlichen Werkzeug erfolgen.

Die erforderliche Menge des Elements ist abhängig von der Gerätekonfiguration, dem angewendeten Verdünnungsfaktor, der Einstellung des Messgeräts usw., aber im Allgemeinen reichen mindestens 40 µg bis einige hundert Mikrogramm des Elements aus. Die Menge des Elements sollte zu Signalamplituden innerhalb des validierten Bereichs führen.

Wenn die Elementzusammensetzung des Probenmaterials nicht bekannt ist, sollte diese durch einige Prüfanalysen verschiedener Mengen des Materials bestimmt werden.

Für die Isotopenanalyse von Kohlenstoff und Stickstoff müssen die Referenzmaterialien für die Normierung in Bezug auf die anorganische und organische Beschaffenheit der Proben an die Matrix angepasst werden.

Es sollten verfahrensbezogene Blindproben vorbereitet werden. Bei Materialien, die in Blechkapseln, -schiffchen oder -folien eingewogen werden, handelt es sich einfach um leere Zinnbehälter. Alle Zinnkapseln, -schiffchen oder -folien, die in einer einzigen Sequenz verwendet werden, sollten aus einer einzigen Charge stammen, so dass die Blindproben repräsentativ sind.

Wenn ein Autosampler für flüssige Proben zur Verfügung steht, können einige flüssige Proben direkt in den EA-IRMS injiziert werden und müssen nicht in Zinnkapseln überführt werden. Flüssigkeiten, die für die direkte Einführung zu viskos sind, können in glattwandige Zinnkapseln überführt werden.

7.3 Sequenzplanung

Jede Sequenz sollte verfahrensbezogene Blindproben, Referenzmaterialien zur Normierung, QK/QS-Materialien, die in regelmäßigen Abständen über die Sequenz verteilt sind, und Probenmaterialien enthalten.

Jedes Material (Referenzmaterial, Probe, QK usw.) sollte (mindestens) doppelt analysiert werden. Parallelproben von Probenmaterialien sollten innerhalb der Sequenz nebeneinander liegen.

Referenzmaterialien für die Normierung sollten am Anfang und am Ende einer jeden Sequenz enthalten sein.

Materialien, die für QK/QS-Zwecke verwendet werden, sollten in die Sequenz so einbezogen werden, als handele es sich um Proben. Mindestens ein solches Material sollte während der Sequenz regelmäßig analysiert werden, um die Leistung des Messgeräts zu bestimmen und eine Drift zu erkennen.

Alle Materialien innerhalb einer einzelnen Analysensequenz sollten nach dem Prinzip der identischen Behandlung behandelt werden [6,8].

ANMERKUNG Eine Beispielsequenz ist im FIRMS-Leitfaden für gute Praxis für IRMS [9] enthalten.

7.4 Prüfungen des Messgeräts

7.4.1 Allgemeines

Die folgenden Prüfungen der Messgeräte sollten regelmäßig (z. B. vor jeder Analysesequenz) zufriedenstellend durchgeführt werden. Im Allgemeinen müssen die Spezifikationen des Geräteherstellers eingehalten werden. Wenn keine Leitlinien verfügbar sind, sollten bei der Verifizierung des Verfahrens Schwellenwerte für eine zulässige Leistung festgelegt werden.

7.4.2 Hintergründe

Wie im FIRMS-Leitfaden für gute Praxis der Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie [9] beschrieben, sollten die Hintergrundwerte der verschiedenen Gase in den Messgeräten überwacht und aufgezeichnet werden. Dazu gehören die Ionenströme von m/z 18, 28, 32, 40 und 44, die jeweils Wasser-, Stickstoff/Kohlenmonoxid-, Sauerstoff-, Argon- und Kohlendioxid-Ionen entsprechen.

Da die Hintergrundwerte für diese Signale zwischen Laboratorien, Messgeräten, Gasreinheiten usw. variieren, müssen die akzeptablen Schwellenwerte für diese Signale während der Verifizierung des Verfahrens festgelegt werden.

7.4.3 Stabilität des Arbeitsgases

Eine interne Präzisions- oder Stabilitätskontrolle muss täglich oder vor der Probenanalyse durchgeführt werden. Gas aus einer Druckgasflasche wird über eine geeignete Schnittstelle in die Ionenquelle geleitet, um mehrere messbare Peaks zu erzeugen. Dies erfolgt üblicherweise durch die Erfassung von 10 Gasimpulsen.

Die Standardabweichung der Isotopen-Delta-Werte dieser Gasimpulse sollte bestimmt und mit den Schwellenwerten verglichen werden, die entweder aus den Empfehlungen des Messgeräteherstellers oder aus der Verifizierung des Verfahrens hervorgegangen sind.

In der Regel sind Standardabweichungen von $\pm 0,1 \text{ ‰}$ oder besser sowohl für $\delta^{13}\text{C}$ - als auch für $\delta^{15}\text{N}$ -Werte erforderlich.

7.4.4 Linearität (Änderung der Amplitude in Abhängigkeit vom gemessenen Isotopen-Delta-Werts) des Arbeits-/Flaschengases

In ähnlicher Weise sollte die Linearitätsprüfung nach der Stabilitätsprüfung durchgeführt werden, um festzustellen, ob eine Änderung der Peakintensität die gemessenen $\delta^{13}\text{C}$ - und/oder $\delta^{15}\text{N}$ -Werte signifikant verändert.

Dies wird erreicht, indem die Intensität des Flaschengases während einer Erfassung von 10 Gasimpulsen so verändert wird, dass sie den erwarteten Intensitätsbereich der zu analysierenden Proben abdeckt. Alternativ können auch zunehmende Mengen eines einzelnen Materials analysiert werden, die die erwarteten Probenmengen abdecken.

Idealerweise sollte die Standardabweichung der Messung bei der Linearitätsprüfung dieselbe wie bei der Stabilitätsprüfung sein, d. h. in der Größenordnung von $\pm 0,1 \text{ ‰}$ liegen. Die Messgerätehersteller können eine Schwellenlinearität festlegen.

Wenn die Überprüfung der Linearität eine größere Standardabweichung ergibt, muss diese korrigiert werden (z. B. durch Einstellung der Quelle, siehe den FIRMS-Leitfaden für gute Praxis für weitere Vorschläge [9]), bevor eine Sequenz von Analysen durchgeführt wird.

Durch sorgfältiges Einwiegen aller Materialien in die gleiche Sequenz, so dass sich in jeder Zinnkapsel ungefähr die gleiche Menge des interessierenden Elements befindet, wird das Auftreten des Linearitätseffekts während der Analyse minimiert.

7.4.5 Kalibrierung des „Magnetsprungs“ (nur bei Dual-Isotopen-Delta-Messungen)

Um $\delta^{13}\text{C}$ - und/oder $\delta^{15}\text{N}$ -Werte innerhalb einer Einzelanalyse zu messen, muss das IRMS-Messgerät während der Messung zwischen zwei Ionen-Reihen wechseln. Dies wird erreicht, indem entweder die Magnetfeldstärke („Magnetsprung“) oder die Beschleunigungsspannung geändert wird, um die erforderlichen Ionen in die Faraday-Becher zu fokussieren. Der Prozess ist in der Regel in der Gerätesoftware automatisiert und verschiedene Systeme haben unterschiedliche Lösungen.

Einige Systeme führen vor jeder Messung eine Peak-Zentrierung für ein Gas, z. B. für N_2 , durch. Beim Wechsel zum anderen Element wird ein „Magnetsprung“ durchgeführt. Die Kalibrierung dieses „Magnetsprungs“ sollte entsprechend den Empfehlungen des Herstellers überprüft werden (z. B. vor jeder Sequenz).

Andere Systeme bestimmen vor jeder Messung die Peak-Mitte der beiden Elemente, so dass der „Magnetsprung“ vor jedem Durchlauf kalibriert wird. Auch in diesem Fall muss die Linearität der Peak-Mitten gegenüber dem Magnetfeld (d. h. die Massenkalisierung) entsprechend den Empfehlungen des Herstellers (z. B. wöchentlich) bewertet werden.

7.5 Instrumentelles Verfahren

Die Einrichtung des EA-IRMS-Messgeräts sollte entsprechend den Empfehlungen des Herstellers erfolgen, einschließlich:

- Temperatur und Menge der Reagenzien in den Verbrennungs- und/oder Reduktionsreaktoren;
- Zusammensetzung der Gasreinigungsfallen;
- Dauer und Zeitpunkt der Sauerstoffimpulse (außer bei der Analyse von anorganischem N, wo solche Impulse ausgesetzt werden sollten);
- Durchflussrate des Helium-Träbergases.

Der Oxidationsreaktor muss vorkonditioniert werden: Es müssen die Betriebsbedingungen (Temperatur, Durchfluss) erreicht werden, und es muss Zeit zur Verfügung stehen, um eingeschlossene Luftblasen auszuspülen und einen stabilen Zustand zu erreichen (Äquilibration).

Für jedes innerhalb einer Sequenz analysierte Element muss der Verdünnungsfaktor für die Probengase (d. h. CO_2 und N_2) nicht für jedes Gas gleich sein, sondern sollte innerhalb einer Sequenz konstant sein.

Die Intensität der Arbeitgasimpulse sollte mit einer Genauigkeit von $\pm 20\%$ an die erwartete Intensität der Probengaspeaks angepasst werden.

Arbeitgasimpulse sollten vor und/oder nach den Probengaspeaks eingeleitet werden.

Die vorbereiteten Zinnkapseln sollten entsprechend der Analysesequenzplanung in den Autosampler geladen und die Analysesequenz begonnen werden.

7.6 Datenverarbeitung

7.6.1 Allgemeines

Ein Beispiel für eine Datenverarbeitungsvorlage wurde bereitgestellt (Anhang B).

7.6.2 Zurückweisung von einzelnen Durchläufen innerhalb einer Sequenz

7.6.2.1 Unzureichende Chromatographie

Analysen, die im Ergebnis Probengaspeaks aufweisen, die Fronting, Tailing, überladene Signale bei einem der überwachten m/z -Werte (d. h. $m/z = 44$, 45 oder 46 für CO_2 und $m/z = 28$ oder 30 für N_2) oder eine instabile Basislinie aufweisen, sollten verworfen werden. Arbeitsgaspeaks, die eine unzureichende Peakform aufweisen, sollten ebenfalls ausgeschlossen werden.

7.6.2.2 Peak-Fläche

Wenn die Elementzusammensetzung des Materials bekannt ist, sollte die erhaltene Peak-Fläche mit der Fläche verglichen werden, die ausgehend von der Menge des interessierenden Elements erwartet wird. Fällt die Peak-Fläche unter 90 % des erwarteten Wertes, so ist dies ein Hinweis auf eine unvollständige Umwandlung des Probenmaterials in das Analytgas. Da eine unvollständige Umwandlung zu einer Fraktionierung führt, sollten die betroffenen Analysen verworfen werden.

ANMERKUNG Peak-Flächen können entweder aus dem Detektor des EA oder aus den Signalen des Massenspektrometers ermittelt werden.

7.6.3 Aufzuzeichnende Daten

Für jede Analyse innerhalb einer Sequenz sollten die folgenden Daten für die nachfolgenden Berechnungen aufgezeichnet werden:

- Isotopen-Delta-Wert gegen einen Arbeitsstandard (Hochdruckgas oder internes Referenzmaterial), d. h. „roher“ Isotopen-Delta-Wert;
 - Wenn das Arbeitsgas zur Ableitung des „rohen“ Isotopen-Delta-Werts verwendet wird, sollte die Anzahl der verwendeten Arbeitsgas-Peaks den Leitlinien des Herstellers entsprechen.

ANMERKUNG Dieser „rohe“ Isotopen-Delta-Wert wird üblicherweise durch die Software des Messgerätes bestimmt und enthält für Isotopen-Delta-Werte von Kohlenstoff eine Korrektur für ^{17}O . Der Korrekturalgorithmus und die angewendeten Parameter werden aufgezeichnet.

- Peakfläche für Probengas und Menge der zusätzlichen Verdünnung;
- Position innerhalb der Sequenz;
- Identität und zugewiesene Werte und Unsicherheiten für Referenzmaterialien, die für die Normierung und für die QK oder QS verwendet werden.

7.6.4 Bewertung von und Korrekturen an rohen Isotopen-Delta-Werten

7.6.4.1 Blindprobe

Die Ergebnisse der verfahrensbezogenen Blindproben innerhalb jeder Analysensequenz sollten untersucht werden, um die Peak-Fläche und den Isotopen-Delta-Wert der Blindprobe zu bestimmen.

Alternativ können zwei Referenzmaterialien mit sehr unterschiedlichen Isotopen-Delta-Werten auf verschiedenen Mengenniveaus innerhalb der Sequenz analysiert und zwei simultane Gleichungen gelöst werden, um sowohl die Isotopenzusammensetzung als auch die Menge der Blindprobe zu bestimmen [8,9].

Die Schwellenwerte für Blindproben sollten während der Verifizierung des Verfahrens bestimmt werden. Wenn der Beitrag der Blindprobe unter einem niedrigeren Schwellenwert liegt als der des Probengases, ist eine Blindprobenkorrektur nicht erforderlich.

Bei Beiträgen der Blindproben zwischen dem unteren und dem oberen Schwellenwert sollte für alle Analysen innerhalb der Sequenz eine Blindprobenkorrektur durchgeführt werden. Dies sollte anhand des Massenbilanzansatzes erfolgen, der im FIRMS-Leitfaden für gute Praxis für IRMS [9] beschrieben ist.

$$\delta_{\text{blk corr}} = \frac{\delta_{\text{meas}} \times A_{\text{meas}} - \delta_{\text{blk}} \times A_{\text{blk}}}{A_{\text{meas}} - A_{\text{blk}}} \quad (2)$$

Dabei ist

$\delta_{\text{blk corr}}$ ist der Blindproben-korrigierte Isotopen-Delta-Wert der Probe;

δ_{meas} ist der anfängliche Isotopen-Delta-Wert der Probe;

δ_{blk} ist der Isotopen-Delta-Wert der Blindprobe;

A_{meas} ist die Peak-Fläche des Probengases;

A_{blk} ist die Peak-Fläche der Blindprobe.

Bei Beiträgen der Blindproben über dem oberen Schwellenwert sollte die gesamte Sequenz zurückgewiesen werden, da eine übermäßige Blindprobe in der Regel ein Hinweis auf eine Kontamination ist.

ANMERKUNG Wurden bei verschiedenen Analysen innerhalb derselben Sequenz unterschiedliche Verdünnungsmengen eingesetzt, werden die erhaltenen Peak-Flächen vor der Untersuchung der Blindprobe auf ein gemeinsames Verdünnungsniveau normiert.

7.6.4.2 Masse/Linearität

Die Peak-Flächen des Probengases sollten untersucht werden.

Wenn die Materialien in Bezug auf das interessierende Element in gleichen Mengen analysiert wurden (7.2), sollte es selbst bei einem signifikanten Linearitätseffekt bei QK-Materialien mit unterschiedlichen Mengenniveaus keine signifikanten Auswirkungen auf die Ergebnisse geben.

Liegt ein großer Linearitätseffekt vor und gibt es abweichende Analyseergebnisse in Bezug auf die Peak-Fläche, sollten diese verworfen werden.

7.6.4.3 Memory/Carryover

EA-IRMS-Analysen, die die in Abschnitt 7.3 beschriebene Sequenzplanung verwenden, sollten kein Probe-zu-Probe-Memory oder Carryover aufweisen.

Memory/Carryover-Effekte treten vor allem dann auf, wenn aufeinanderfolgende Probenmaterialien entweder einen großen Unterschied im Isotopen-Delta-Wert (z. B. zwischen zwei Referenzmaterialien, die zur Normierung verwendet werden) oder einen großen Unterschied in der Probenmasse (z. B. wenn eine Blindprobe auf eine andere Materialart folgt) aufweisen. Der Memory-Effekt zeigt sich dann am deutlichsten bei den zweiten Analysen.

Wenn während der gesamten Sequenz ein signifikanter Memory/Carryover-Effekt auftritt, sollte die gesamte Sequenz zurückgewiesen werden.

7.6.4.4 Drift

Drift resultiert üblicherweise aus Änderungen der Umgebungsbedingungen der Ionenquelle des Massenspektrometers, Änderungen der relativen Mengen an Hintergrundgasen und Änderungen der Verbrennungsleistung (z. B. aufgrund von Ascheablagerungen innerhalb des Reaktors).

Die Isotopen-Delta-Werte, die für QK-Materialien während der gesamten Sequenz erhalten wurden, sollten auf alle Anzeichen von Drift untersucht werden.

EA-IRMS-Analysen, die die in 7.3 beschriebene Sequenzplanung verwenden, sollten keine Drift des Isotopen-Delta-Wertes für Analysen desselben Materials an verschiedenen Positionen innerhalb der Sequenz aufweisen, insbesondere wenn Referenzmaterialien für die Normierung am Anfang und Ende der Sequenz angeordnet sind.

Wenn eine signifikante Drift vorliegt, so dass sich der Isotopen-Delta-Wert des QK-Materials um mehr als die zugehörige Unsicherheit ändert, könnte entweder (1) die Sequenz zurückgewiesen werden oder (2) eine Driftkorrektur aus den Ergebnissen des QK-Materials bestimmt und auf alle Analysen innerhalb der Sequenz angewendet werden.

ANMERKUNG 1 Die Drift innerhalb einer Sequenz muss kein lineares Verhalten aufweisen. Jedes an QK-Ergebnisse angepasste Modell wird auf Signifikanz getestet.

ANMERKUNG 2 Es wird der Beitrag jeder angewendeten Driftkorrektur zur Messunsicherheit bewertet.

7.6.4.5 Normierung

Die erwarteten/zugewiesenen Isotopen-Delta-Werte für die zur Normierung innerhalb der Sequenz zu verwendenden Referenzmaterialien sollten zusammen mit den erhaltenen Messergebnissen für diese Materialien zur Korrektur aller gemessenen Isotopen-Delta-Werte innerhalb der Sequenz auf die entsprechende Isotopen-Delta-Skala verwendet werden.

Dies wird durch die Bestimmung der Steigung und des Schnittpunkts der Regressionsgeraden erreicht, die die wahren (d. h. bekannten oder erwarteten Werte) und die gemessenen Isotopen-Delta-Werte für die Referenzmaterialien verbindet. Diese Parameter werden dann auf die gemessenen Isotopen-Delta-Werte aller innerhalb derselben Sequenz analysierten Materialien angewendet, um normierte Proben-Delta-Werte zu erhalten, die auf das internationale Messnormal rückführbar sind.

Zum Beispiel werden die Referenzmaterialien für die Normierung verwendet, um die Parameter a und b in dem folgenden Ausdruck durch Regressionsanalyse zu bestimmen:

$$\delta_{\text{true(RMs)}} = (a \times \delta_{\text{meas(RMs)}}) + b \quad (3)$$

ANMERKUNG 1 Eine grafische Darstellung der bekannten/zugewiesenen Isotopen-Delta-Werte von Referenzmaterialien (d. h. $\delta_{\text{true(RMs)}}$) gegen die gemessenen Werte innerhalb der Sequenz (d. h. $\delta_{\text{meas(RMs)}}$) hat eine Steigung von a und einen Schnittpunkt von b .

Die Parameter a und b können dann verwendet werden, um die normierten Isotopen-Delta-Werte der anderen Materialien innerhalb der Sequenz aus ihren gemessenen Isotopen-Delta-Werten zu bestimmen:

$$\delta_{\text{true(sample)}} = (a \times \delta_{\text{meas(sample)}}) + b \quad (4)$$

ANMERKUNG 2 Wenn nur zwei Referenzmaterialien für die Normierung verwendet wurden, kann der folgende äquivalente Ausdruck direkt verwendet werden:

$$\delta_{\text{norm(sample)}} = \delta_{\text{true(RM1)}} + \left[(\delta_{\text{meas(sample)}} - \delta_{\text{meas(RM1)}}) \times \left(\frac{\delta_{\text{true(RM1)}} - \delta_{\text{true(RM2)}}}{\delta_{\text{meas(RM1)}} - \delta_{\text{meas(RM2)}}} \right) \right] \quad (5)$$

Dabei beziehen Referenzmaterial 1 und Referenzmaterial 1 auf die beiden für die Normierung verwendeten Referenzmaterialien.

7.6.5 Zurückweisung von einzelnen Proben innerhalb einer Sequenz

Wenn die normierten Isotopen-Delta-Werte für aufeinanderfolgende Analysen von Parallelproben eines einzelnen Materials innerhalb einer Sequenz erheblich voneinander abweichen, sollten die Analysen verworfen und

die Probe erneut analysiert werden. Bei der Verifizierung des Verfahrens sollten Schwellenwerte für akzeptable Abweichungen festgelegt werden (d. h. eine akzeptierte Differenz zwischen oder Standardabweichung zwischen aufeinanderfolgenden Analysen von Parallelproben desselben Materials).

7.6.6 Zurückweisung ganzer Sequenzen

Wie in 7.6.4.1, 7.6.4.3 und 7.6.4.4 beschrieben, sollten Sequenzen mit Analysen, die übermäßige Blindproben, Memory/Carryover-Effekte und/oder Drift aufweisen, verworfen werden.

Die erhaltenen Isotopen-Delta-Werte für die innerhalb jeder Sequenz analysierten QK-Materialien sollten überprüft werden, z. B. durch Anwendung von Kontrolltabellen und unter Beachtung der Westgard-Regeln [9,10].

Wenn nach dem Ausschluss einzelner Analysen, die außerhalb des akzeptablen Bereichs der Probenmasse (7.6.4.2) liegen, nicht genügend Parallelproben normierter Referenzmaterialien verbleiben, kann die Normierung nicht angewendet werden und die Sequenz sollte verworfen werden.

Wenn die Normierungskurve des erwarteten Isotopen-Delta-Werts gegenüber dem erhaltenen Isotopen-Delta-Wert für die Referenzmaterialien einen schlechten Korrelationskoeffizienten aufweist (Schwellenwert, der bei der Verifizierung des Verfahrens zu bestimmen ist), dann sollte die Sequenz zurückgewiesen werden.

8 Präzision

8.1 Allgemeines

Einzelheiten zum Ringversuch zur Schätzung der Präzision des Verfahrens sind in Anhang A zusammengefasst. Es wurde eine repräsentative Auswahl von Matrixmaterialien für Lebensmittel einbezogen.

8.2 Wiederholpräzision

Die Standard-Wiederholpräzision für Kohlenstoff-Isotopen-Delta-Werte, die auf Lebensmittel anzuwenden ist, beträgt 0,15 ‰. Dies entspricht einer Wiederholgrenze von 0,42 ‰. Für Stickstoff-Isotopen-Delta-Werte beträgt die Standard-Wiederholpräzision für Lebensmittel 0,20 ‰, was einer Wiederholgrenze von 0,56 ‰ entspricht. Diese Werte für die Wiederholpräzision sind aus der Ringversuch-Verfahrensvalidierung abgeleitet (Anhang A).

Die absolute Differenz zwischen zwei einzelnen Prüfergebnissen, die an identischem Prüfmaterial durch einen Bearbeiter mit derselben Geräteausstattung innerhalb der kürzest möglichen Zeitspanne erhalten wurden, wird die Wiederholgrenze r in nicht mehr als in 5 % der Fälle überschreiten.

Spezifische Grenzwerte für die Wiederholpräzision von Lebensmittelmatrixen, die in die Ringversuch-Verfahrensvalidierung einbezogen wurden, sind zusammen mit den Massenanteilen von C und N in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1 — Massenanteile und Wiederholpräzision von Isotopen-Delta-Werten für Kohlenstoff und Stickstoff aus exemplarischen Lebensmittelmatrixen, die in die Ringversuch-Verfahrensvalidierung einbezogen wurden

Material	C-Massenanteil	$r(\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}})$	N-Massenanteil	$r(\delta^{15}\text{N}_{\text{Air-N}_2})$
	%	‰	%	‰
reines Ethanol	52,2	0,24	0	nicht ermittelt
reine Essigsäure	40,0	0,19	0	nicht ermittelt
Honig	33,2	0,13	nicht ermittelt	nicht ermittelt
Zucker	41,1	0,29	0	nicht ermittelt
Olivöl	74,3	0,36	nicht ermittelt	nicht ermittelt