

DIN EN 18082



ICS 67.120.01

Einsprüche bis 2024-07-24

Entwurf

**Tierische Lebensmittel –
Multiverfahren zur Bestimmung von Pestizidrückständen mit LC nach
Acetonitril-Extraktion/Verteilung und Reinigung mit dispersiver SPE;
Deutsche und Englische Fassung prEN 18082:2024**

Foods of animal origin –

Multimethod for the determination of pesticide residues using LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE;
German and English version prEN 18082:2024

Aliments d'origine animale –

Multiméthode de détermination des résidus de pesticides par analyse LC après extraction/partitionnement à l'acétonitrile et nettoyage par SPE dispersif;
Version allemande et anglaise prEN 18082:2024

Anwendungswarnvermerk

Dieser Entwurf mit Erscheinungsdatum 2024-05-24 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 88 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Das Dokument prEN 18082:2024 wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige nationale Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-01-08 AA „Pestizide“ 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.

Tierische Lebensmittel – Multiverfahren zur Bestimmung von Pestizidrückständen mit LC nach Acetonitril-Extraktion/Verteilung und Reinigung mit dispersiver SPE

Foods of animal origin – Multimethod for the determination of pesticide residues using LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE

Aliments d'origine animale – Multiméthode de détermination des résidus de pesticides par analyse LC après extraction/partitionnement à l'acétonitrile et nettoyage par SPE dispersif

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Begriffe	5
4 Kurzbeschreibung	5
5 Vorbereitung und Lagerung der Proben	5
5.1 Allgemeines	5
5.2 Laborprobe	6
5.3 Teilweise präparierte Untersuchungsprobe	6
5.4 Untersuchungsprobe	6
5.5 Einwaage	6
6 Durchführung	6
7 Auswertung der Ergebnisse	7
7.1 Identifizierung und Quantifizierung	7
7.2 Kalibrierung	8
7.3 Berechnung der Rückstandskonzentration	8
7.4 Validität des Verfahrens	9
8 Präzision	11
9 Prüfbericht	11
Anhang A (informativ) Beschreibung der Module	12
A.1 Bei den Extraktions- (E) und Reinigungsmodulen (C) verwendete Reagenzien	12
A.2 Bei den Extraktions- (E) und Reinigungsmodulen (C) verwendetes Gerät	13
A.3 Beschreibung des Extraktionsmoduls (E)	14
A.3.1 Modul E: Extraktion einer Einwaage von 5 g ohne Wasserzugabe unter Verwendung von Acetonitril	14
A.4 Beschreibung der Reinigungsmodule (C)	16
A.4.1 Modul C1: Reinigung durch Ausfrieren von mitextrahiertem Fett	16
A.4.2 Modul C2: Reinigung durch dispersive SPE mit Aminosorbens (PSA)	17
A.5 Beschreibung der Detektionsmodule (D)	18
A.5.1 Modul D: Bestimmung durch Flüssigchromatographie mit massenspektrometrischem Nachweis (LC-MS)	18
A.6 Beschreibung der Quantifizierungsoptionen (Q)	22
A.6.1 Option Q1: Quantifizierung mit externen Standards in Lösemittel	22
A.6.2 Option Q2: Quantifizierung mit externen Standards in Matrix	23
A.6.3 Option Q3: Quantifizierung mit einem verfahrensinternen Standard und Standards in Lösemittel	23
A.6.4 Option Q4: Quantifizierung durch Standardaddition zum Endextrakt	24
A.6.5 Option Q5: Quantifizierung mit einem verfahrensinternen Standard und Standards in Matrix oder isotoopenmarkierten internen Standards	24
A.6.6 Option Q6: Quantifizierung durch Standardaddition zur Probe	25
A.6.7 Option Q7: Quantifizierung durch Kalibrierung des Gesamtverfahrens	25
Anhang B (informativ) Ergänzende Informationen	27
B.1 Allgemeines	27
B.2 Herstellung des Puffersalzgemisches (A.1.8)	27
B.3 Reagenzien für die Reinigung	27
B.4 Verlängerung der Extraktionszeit	27
B.5 Arbeiten mit internen Standards	27
B.6 Skalierung	27
B.7 Validierungsdaten	27
Anhang C (informativ) Abkürzungen und Symbole	39
Literaturhinweise	41

Tabellen

Tabelle 1 — Übersicht der möglichen Module	7
Tabelle 2 — Validierungsdaten	9
Tabelle A.1 — Mögliche interne Standardlösungen (ISTDs) oder Qualitätskontrollstandardlösungen (QC)	13
Tabelle A.2 — HPLC-Systeme	20
Tabelle A.3 — MS-Systeme	21
Tabelle B.1 — Validierungsdaten für die untersuchten Analyten	28
Tabelle C.1 — Liste der Abkürzungen und Symbole	39

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 18082:2024) 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.

WARNUNG — Die Anwendung dieses Dokuments kann den Umgang mit gefährlichen Substanzen und Ausrüstungsteilen und die Ausführung gefährlicher Arbeitsgänge einschließen. Dieses Dokument erhebt nicht den Anspruch, dass alle mit seiner Anwendung verbundenen Sicherheitsprobleme angesprochen werden. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieses Dokuments, geeignete Vorkehrungen für den Arbeits- und Gesundheitsschutz zu treffen und vor der Anwendung zu ermitteln, welche regulatorischen Einschränkungen gelten.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Verfahren für die Analyse von Pestizidrückständen in Lebensmitteln tierischer Herkunft mit einem Fettgehalt von bis zu ca. 10 %, wie z. B. Fleisch, Eier oder Milch, mittels LC-MS/MS fest. Aufgrund der geringen Materialanforderungen für die miniaturisierte Verarbeitung und der wenigen Arbeitsschritte ist das Verfahren besonders zeit- und kostensparend bei hoher Zuverlässigkeit und Effektivität. Das Verfahren wurde im Ringversuch mit einer Reihe an Erzeugnis-/Pestizidkombinationen geprüft. Die Präzisionsdaten sind in Tabelle B.1 zusammengefasst. Eine Anleitung zur Kalibrierung ist in CEN/TS 17061 angegeben.

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).

CEN/TS 17061, *Lebensmittel — Anleitung zur Kalibrierung und quantitativen Bestimmung von Pestizidrückständen und organischen Kontaminanten mit chromatographischen Verfahren*

3 Begriffe

In diesem Dokument werden keine Begriffe aufgeführt.

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/>

4 Kurzbeschreibung

Die homogene Probe wird mit Wasser versetzt und mit Hilfe von Acetonitril extrahiert. Nach Zugabe von Magnesiumsulfat, Natriumchlorid und puffernden Citratsalzen wird das Gemisch kräftig geschüttelt und zur Phasentrennung zentrifugiert. Ein aliquoter Anteil der organischen Phase wird durch dispersive Festphasenextraktion (D-SPE) mit Aminosorbentien (z. B. primäres sekundäres Amin, PSA) gereinigt, wobei Magnesiumsulfat zur Entfernung des Restwassers eingesetzt wird. Nach der Reinigung werden die Extrakte zentrifugiert. In der Probe enthaltenes Fett wird durch Ausfrieren entfernt, indem der gereinigte Acetonitrilextrakt im Gefrierschrank gelagert wird. Die in der fettfreien Lösung enthaltenen Pestizide können direkt durch eine Analyse auf LC-Basis bestimmt werden. Für die Analyse durch Flüssigchromatographie ist die Kopplung mit der Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) oder der hochauflösenden Massenspektrometrie (LC-HR-MS) besonders geeignet. Die Quantifizierung darf unter Anwendung eines internen Standards erfolgen, der der Untersuchungseinheit vor der ersten Extraktion hinzugefügt wird, aber nicht zwingend vorgeschrieben ist. Einzelheiten zur Kalibrierung siehe 7.2.

5 Vorbereitung und Lagerung der Proben

5.1 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 die Schwankung zwischen Untersuchungseinheiten (Teilprobenahme) akzeptabel ist. Wenn es unwahrscheinlich ist, dass eine einzelne Einwaage (Analysenportion) 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 begünstigen. Andernfalls muss die Extraktion mit Hilfe eines mechanischen Zerkleinerungsgeräts (z. B. eines Homogenisierusstabs) erfolgen.

5.2 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 deutlicher Anzeichen für physikalische oder chemische Veränderungen untersucht. Falls eine Laborprobe nicht ohne Verzögerung bearbeitet werden kann, sollte sie unter geeigneten Bedingungen gelagert werden, um sie frisch zu halten und um ihren Verderb zu vermeiden. Generell sollten Laborproben insgesamt nicht länger als 3 Tage gelagert werden, mit Ausnahme von getrockneten oder verarbeiteten Proben, die innerhalb der angegebenen Mindesthaltbarkeitsdauer zu analysieren sind.

5.3 Teilweise präparierte Untersuchungsprobe

Für die Herstellung einer teilweise präparierten Untersuchungsprobe wird nur der Anteil der Laborprobe verwendet, für den der Rückstandshöchstgehalt gilt; so sollten z. B. Knochen oder Schalen entfernt werden.

5.4 Untersuchungsprobe

Wenn die Untersuchungsprobe nicht hinreichend homogen ist oder wenn die Extraktion der Rückstände durch große Stücke wesentlich beeinträchtigt werden könnte, sollte sie mit geeigneten Mitteln intensiv zerkleinert werden. Das ist bei Raumtemperatur möglich, sofern weder eine Trennung von Fleisch und Saft noch ein Abbau der zu untersuchenden Pestizide in nennenswerten Umfang stattfindet. 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 erleichtert 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. Wenn die Untersuchungsproben bei niedrigen Temperaturen verarbeitet werden, sollte eine durch hohe Feuchtigkeit verursachte Kondensation vermieden werden. Restliches Kohlendioxid sollte so weit entweichen können, dass sein Anteil an der Masse der Probe vernachlässigbar ist.

5.5 Einwaage

Einzelne Einwaagen, die jeweils groß genug für eine Untersuchung sind, sollten von der zerkleinerten Untersuchungsprobe entnommen werden. Diese Einwaagen sollten sofort analysiert werden. Falls die Einwaagen nicht direkt analysiert werden können, müssen die Untersuchungsprobe oder die Einwaagen bis zum Gebrauch eingefroren werden. Wenn festgestellt wird, dass die Homogenität der Untersuchungsprobe während der Lagerung beeinträchtigt wurde, muss die Untersuchungsprobe gemischt werden, bevor Einwaagen entnommen werden, um sicherzustellen, dass die Homogenität wiederhergestellt wurde.

6 Durchführung

Die Extraktion der Proben ist in Modul E beschrieben. Auf die Extraktion folgen in der Regel eine Reinigung der erhaltenen Rohextrakte (Ausfrieren des Fetts nach Modul C1 und/oder Reinigung mit PSA nach Modul C2) und die Analyse nach Modul D. Alle Module sind ausführlich in Anhang A beschrieben. Ergänzende Informationen sind in Anhang B aufgeführt.

Tabelle 1 enthält 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 beschrieben sind.

Tabelle 1 — Übersicht der möglichen Module

Modul	Beschreibung	Bevorzugte Anwendung
E	Nach Hinzufügen von Wasser wird eine Einwaage von 5 g in Anwesenheit von puffernden Salzen mit Acetonitril extrahiert	Fleisch, Milch und Eier mit einen Fettgehalt von bis zu ca. 10 %
C1	Ausfrieren	Entfernung von mitextrahiertem Fett (auch in Kombination mit weiteren Reinigungsschritten, z. B. C2)
C2	Dispersive SPE mit Aminosorbens (PSA)	Reinigung der Rohextrakte vor der Bestimmung neutraler und basischer Pestizide
D	LC-MS	Anschließende Reinigung der nach Modul E gewonnenen Extrakte nach Modul C1 und C2
Q1	Quantifizierung mit externen Standards in Lösemittel	Bestimmungen, bei denen Matrixeffekte als vernachlässigbar betrachtet werden
Q2	Quantifizierung mit externen Standards in Matrix	Bestimmungen, bei denen Matrixeffekte berücksichtigt werden müssen
Q3	Quantifizierung mit einem verfahrensinternen Standard und Standards in Lösemittel	Bestimmungen, bei denen Matrixeffekte als vernachlässigbar betrachtet werden
Q4	Quantifizierung durch Standardaddition zum Endextrakt	Bestimmungen, bei denen Matrixeffekte berücksichtigt werden müssen und geeignete Leerwertmatrices fehlen
Q5	Quantifizierung mit einem verfahrensinternen Standard und Standards in Matrix oder isotopenmarkierten internen Standards	Bestimmungen, bei denen Matrixeffekte zur Kompensation einer geringen Wiederfindung berücksichtigt werden müssen
Q6	Quantifizierung durch Standardaddition zur Probe	Bestimmungen, bei denen Matrixeffekte berücksichtigt werden müssen ohne Verfügbarkeit von Leerwert-(Kontroll-)Proben, oder wenn unvollständige Extraktionen von Analyten erfolgen
Q7	Quantifizierung durch Kalibrierung des Gesamtverfahrens	Bestimmungen, bei denen Matrixeffekte berücksichtigt werden müssen oder unvollständige Extraktionen des Analyten auftreten

7 Auswertung der Ergebnisse

7.1 Identifizierung und Quantifizierung

Eine Reihe von Parametern können verwendet werden, um einen Analyten im Probenextrakt zu identifizieren. Hierzu zählen:

- die Retentionszeit (R_t) des in Frage kommenden Analyten oder, besser noch, die relative Retentionszeit gegenüber dem internen Standard ISTD ($R_{t(A)}/R_{t(ISTD)}$) aus demselben Chromatogramm;
- im Fall von MS- oder MS/MS-Detektion die relative Abundanz von gleichzeitig aufgezeichneten Massen bzw. Übergängen (im Allgemeinen erfordert die MS/MS 2 SRM-Übergänge und die MS-Detektion 3 Ionen); siehe auch [1], [2], [3], [4];

— charakteristische(s) Peakform/Peakmuster des Analyten.

Die Parameter, die für den im Probenextrakt zu identifizierenden Analyten erhalten wurden, 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 die Auswertung zusätzlicher m/z oder SRM-Übergänge. Weitere Informationen zu erforderlichen Bestätigungskriterien (z. B. die empfohlenen höchsten Toleranzen für Ionenverhältnisse bei Verwendung verschiedener MS-Techniken) finden sich in den EU Quality Control Procedures [2]. In Tabelle A.1 sind die ISTDs aufgelistet, die verwendet werden können. Die Verwendung von mehr als einem ISTD liefert einige Informationen zur Absicherung.

Zur Prüfung der Linearität und zur Bestimmung der Kalibrierfunktion für die einzelnen Analyten werden Standardlösungen verwendet. Die Verwendung von matrixabgestimmten Standardlösungen ist vorzuziehen, allerdings können, um eine erste Abschätzung des Rückstandsgehaltes von Pestiziden in einem Lebensmittel vorzunehmen oder um deren Abwesenheit zu zeigen, auch die Standardlösungen in reinem Lösemittel verwendet werden. Standardlösungen in reinem Lösemittel können auch für die Quantifizierung verwendet werden, wenn Vorversuche zeigen, dass beobachtete Unterdrückungs- oder Verstärkungseffekte das Ergebnis nicht signifikant beeinflussen. Sobald relevante Rückstandsgehalte nachgewiesen werden (z. B. vermutete MRL-Überschreitungen, sollte eine genauere Bestimmung mit matrixabgestimmten Standardlösungen durchgeführt oder das Standard-Additionsverfahren verwendet werden.

ANMERKUNG Matrixeffekte beeinflussen die Response der Zielanalyten in Probenextrakten verglichen mit der Response der Standardlösungen in reinem Lösemittel.

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

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

Bei diesem Verfahren dient der interne Standard im Wesentlichen zur Verfahrenskontrolle bei der Probenvorbereitung, wird jedoch standardmäßig nicht zur Quantifizierung eingesetzt. Es besteht jedoch die Option, einen internen Standard für die Quantifizierung zu verwenden, dessen Validität jedoch sichergestellt werden muss.

7.2 Kalibrierung

Das Analyseverfahren muss nach CEN/TS 17061 kalibriert werden. Darüber hinaus darf es in Übereinstimmung mit den EU Quality Control Procedures [2] kalibriert werden. Ein geeignetes Kalibrierverfahren sollte aus einer der Quantifizierungsoptionen Q1 bis Q7 in A.6 ausgewählt werden.

7.3 Berechnung der Rückstandskonzentration

Der Massenanteil w_A eines jeden identifizierten Analyten hängt ab von der Massenkonzentration der Probe im Endextrakt $\rho_{\text{sample}}^{\text{final extract}}$ nach der Reinigung (Module C1 und C2) und von der Konzentration ρ_A der Substanz in diesem Extrakt (bestimmt nach einer der Optionen Q1 bis Q7 in A.6). Er wird in mg/kg angegeben und nach Gleichung (1) berechnet.

$$w_A = \frac{\rho_A}{\rho_{\text{sample}}^{\text{final extract}}} \quad (1)$$

Dabei ist

ρ_A die Massenkonzentration des Analyten im Probenextrakt (Option Q, siehe A.6.1.3, A.6.2.3, A.6.3.3, A.6.5.3 und A.6.7.3) in $\mu\text{g/ml}$;

$\rho_{\text{sample}}^{\text{final extract}}$ die Massenkonzentration der Probe im Endextrakt (Module C, siehe A.4.1.3, A.4.2.3) in g/ml .

7.4 Validität des Verfahrens

Die Wiederfindung bei Versuchen (Dotierungsniveaus 0,01 mg/kg oder 0,05 mg/kg bis 0,1 mg/kg) betrug üblicherweise zwischen 70 % und 110 %.

Ringversuche zur Verfahrensvalidierung deckten eine Vielzahl an Analyten in repräsentativen Erzeugnissen ab (Fleisch, Eier und Milch). Des Weiteren wurden umfangreiche Einzelvalidierungen durchgeführt. Alle Validierungsdaten, die von den Laboratorien zur Verfügung gestellt wurden, sind im Datenpool der Referenzlaboratorien der Europäischen Union veröffentlicht [3].

Die Validität des Verfahrens für eine bestimmte Erzeugnis-/Pestizidkombination ist bestätigt, wenn mindestens vier Laboratorien unabhängig voneinander Validierungsuntersuchungen mit derselben Matrix bei zwei Dotierungsniveaus mit mindestens fünf Wiederholungen je Niveau durchgeführt und dabei eine Wiederfindung zwischen 70 % und 120 % erhalten haben. Des Weiteren war in jedem Laboratorium für beide Dotierungsniveaus eine relative Standardabweichung kleiner oder gleich 20 % gefordert.

Für die entsprechende Berechnung der relativen Standardabweichung waren von jedem Labor für jede Konzentrationsstufe mindestens 5 zusätzliche Tests gefordert. Auf der Grundlage dieser Bedingungen wurde festgestellt, dass für 41 Pestizide oder Pestizidmetaboliten ausreichende Validierungsdaten verfügbar sind. Eine Übersicht ist in Tabelle 2 dargestellt. Zusätzlich zu den in Tabelle 2 aufgeführten Wirkstoffen wurden auch Fenpropimorph, die Metaboliten Flusilazol-IN-F7321 und Ioxynil-Octanoat untersucht. Für diese Substanzen konnte mit der beschriebenen Methode keine gültige Validierung durchgeführt werden.

Die ausführlichen Validierungsergebnisse sind in Tabelle B.1 aufgeführt. Diese Tabelle enthält auch erfolgreiche Validierungen, die nicht von mindestens vier Laboratorien für dieselbe Analyt-Matrix-Kombination durchgeführt wurden oder für die keine Werte für mindestens zwei Konzentrationsstufen verfügbar sind. Tabelle B.1 enthält auch Validierungsdaten für Analyt-Matrix-Kombinationen mit durchschnittlicher Wiederfindung und/oder RSD außerhalb des akzeptablen Bereichs. Diese Daten sollten als unterstützende Informationen betrachtet werden.

Die Bestimmungsgrenze eines Analyten hängt von der Leistungsfähigkeit des verwendeten Analysegeräts und der Probenmatrix ab. Mit modernen Analysegeräten können in der Regel Rückstände bei 0,01 mg/kg (in den meisten Fällen der niedrigste Rückstandshöchstgehalt) analysiert werden (siehe Tabelle B.1).

Tabelle 2 zeigt die bestätigten Validierungsdaten des Verfahrens für einzelne Analyten und Erzeugnisgruppen.

Tabelle 2 — Validierungsdaten

Nr.	Analyt	CAS-Nr.	Erzeugnisgruppe (siehe [2])		
			Fleisch ^a (Muskel) und Meeresfrüchte	Milch und Milchprodukte ^b	Eier
1	Azinphos-ethyl	2642-71-9	x	x	x
2	Bifenthrin	82657-04-3	x	x	
3	Bixafen	581809-46-3	x	x	x
4	Boscalid	188425-85-6	x	x	x
5	Boscalid-M 510F01	—	x	x	x
6	Carbendazim	10605-21-7	x	x	x
7	Chlorpyrifos	2921-88-2	x	x	
8	Chlorpyrifos-methyl	5598-13-0	x	x	
9	Cyfluthrin	68359-37-5	x	x	
10	Cypermethrin	52315-07-8	x	x	x

Tabelle 2 (fortgesetzt)

Nr.	Analyt	CAS-Nr.	Erzeugnisgruppe (siehe [2])		
			Fleisch ^a (Muskel) und Meeresfrüchte	Milch und Milchprodukte ^b	Eier
11	Deltamethrin	52918-63-5	x	x	
12	Diazinon	333-41-5	x	x	x
13	Etofenprox	80844-07-1	x	x	
14	Famoxadon	131807-57-3	x	x	x
15	Fenthion	55-38-9	x	x	x
16	Fenthion-oxon	6592-12-1	x	x	x
17	Fenthion-oxon-sulfon	14086-35-2	x	x	x
18	Fenthion-oxon-sulfoxid	6552-13-2	x	x	x
19	Fenthion-sulfon	3761-42-0	x	x	x
20	Fenthion-sulfoxid	3761-41-9	x	x	x
21	Fenvalerat/Esfenvalerat	51630-58-1	x	x	
22	Fluopyram	658066-35-4	x	x	x
23	Fluquinconazol	136426-54-5	x	x	x
24	Flusilazol	85509-19-9	x	x	x
25	Indoxacarb	144171-61-9	x	x	x
26	Ioxynil	1689-83-4	x	x	x
27	Metaflumizon	139968-49-3	x	x	x
28	Methidathion	950-37-8	x	x	x
29	Paraoxon-methyl	950-35-6	x	x	x
30	Parathion-methyl	298-00-0	x	x	x
31	Permethrin	52645-53-1	x	x	
32	Pirimiphos-methyl	29232-93-7	x	x	x
33	Prochloraz	67747-09-5	x	x	x
34	Profenofos	41198-08-7	x	x	x
35	Pyrazophos	13457-18-6	x	x	x
36	Resmethrin	10453-86-8	x	x	
37	Spiroxamin	118134-30-8	x	x	x
38	Tau-Fluvalinat	102851-06-9	x	x	x
39	Tetraconazol	112281-77-3	x	x	x
40	Thiophanat-methyl	23564-05-8	x	x	x
41	Triazophos	950-35-6	x	x	x
^a Für die Validierung wurde Schweinefleisch mit einem Fettgehalt von 10 % eingesetzt.					
^b Für die Validierung wurde Milch mit einem Fettgehalt von 3,8 % eingesetzt.					

8 Präzision

Einzelheiten über den Ringversuch zur Ermittlung der Präzision des Verfahrens sind in Tabelle B.1 zusammengefasst. Die Werte aus dem Ringversuch sind nicht unbedingt auf andere als die in Tabelle B.1 angegebenen Konzentrationsbereiche der Pestizide und Erzeugnisse anwendbar.

9 Prüfbericht

Der Prüfbericht muss mindestens die folgenden Angaben enthalten:

- alle notwendigen Informationen zur Identifizierung der Probe;
- eine Verweisung auf diese Europäische Norm (einschließlich des Jahres der Veröffentlichung);
- die Ergebnisse und die Einheiten, in denen sie angegeben sind;
- das Datum der Probenahme und die Art des Probenahmeverfahrens (sofern möglich);
- das Datum des Probeneingangs im Labor;
- das Datum der Untersuchung;
- alle Besonderheiten, die während der Untersuchung beobachtet wurden;
- alle Arbeitsschritte, die nicht in dem Verfahren festgelegt sind oder als optional angesehen wurden und die Ergebnisse möglicherweise beeinflusst haben.

Anhang A (informativ)

Beschreibung der Module

A.1 Bei den Extraktions- (E) und Reinigungsmodulen (C) verwendete Reagenzien

Sofern keine anders lautenden Festlegungen bestehen, werden Reagenzien bekannter Reinheit verwendet. Es ist jede Vorsichtsmaßnahme zu ergreifen, um eine mögliche Kontamination von Wasser, Lösemittel, Sorbentien oder anorganischen Salzen zu vermeiden.

A.1.1 Lösung des internen Standards und des Qualitätskontrollstandards in Acetonitril, $\rho = 10 \mu\text{g/ml}$ bis $50 \mu\text{g/ml}$.

In Tabelle A.1 sind mögliche interne Standards (ISTDs) und Standardlösungen für die Qualitätskontrolle (QC) aufgelistet, die in diesem Verfahren verwendet werden dürfen. Die vorgeschlagenen Konzentrationswerte (C_{ISTD}) beziehen sich auf die ISTD-Lösungen, die beim ersten Extraktionsschritt hinzugefügt werden sollten. Für die Vorbereitung der Standardlösungen sollte eine geeignete Verdünnung dieser Lösung ($C_{\text{ISTD}}^{\text{cal mix}}$) hergestellt werden.

A.1.2 Acetonitril, HPLC-Reinheitsgrad.

A.1.3 Magnesiumsulfat, wasserfrei, gekörnt.

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

A.1.4 Natriumchlorid.

A.1.5 Dinatriumhydrogencitrat-Sesquihydrat.

A.1.6 Trinatriumcitrat-Dihydrat.

A.1.7 Puffersalzgemisch für die zweite Extraktion und Verteilung.

$4 \pm 0,2$ g wasserfreies Magnesiumsulfat (A.1.3), $1 \pm 0,05$ g Natriumchlorid (A.1.4), $1 \pm 0,05$ g Trinatriumcitrat-Dihydrat (A.1.6) und $0,5 \pm 0,03$ g Dinatriumhydrogencitrat-Sesquihydrat (A.1.5) werden in einem Zentrifugenröhrchen (A.2.4) abgewogen. Diese Mengen beziehen sich auf etwa 10 ml Wasser in der Probe. Es können auch kommerziell erhältliche Salzgemische mit identischer Zusammensetzung verwendet werden.

ANMERKUNG Es wird empfohlen, eine ausreichende Anzahl Puffersalzgemische im Voraus vorzubereiten, damit die Extraktionsreihe schnell und ohne Unterbrechung durchgeführt werden kann.

A.1.8 Kaltes Wasser.

A.1.9 Trockeneis.

A.1.10 Flüssiger Stickstoff.

A.1.11 Magnesiumsulfat, wasserfrei, feines Pulver, enthaltene Phthalate dürfen im Muffelofen bei 550°C (z. B. über Nacht) entfernt werden.

A.1.12 Primäres sekundäres Amin als Sorbens.

Andere Aminosorbentien können verwendet werden, es sind jedoch Untersuchungen erforderlich, um die Gleichwertigkeit insbesondere bezüglich Analytenverlusten und des pH-Werts der Endextrakte nachzuweisen.

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

Verbindung	Log P ^a	Chlor- atome	ρ^b [µg/ml] C _{ISTD}	LC	
				MS/MS ESI (+)	MS/MS ESI (-)
Mögliche interne Standards					
Triphenylphosphat	4,59	f	20	d	f
Tris-(1,3-dichlorisopropyl)-phosphat	3,65	6	50	d	e
2,4-D ¹³ C ₆ (Ring)	je nach pH-Wert	2	10	f	d
Chlorpyrifos D10 (diethyl D10)	4,7	3	10	d	f
Diuron D6 (dimethyl D6)	2,9	2	10	d	f
Diazinon D10 (diethyl D10)	3,8	f	20	d	f
Metalaxyl D6 (dimethyl D6)	1,65	0	10	d	f
N,N´-Bis-4-nitrophenyl)-harnstoff (BNPU) ^c	3,76	f	10	f	d
Mögliche Qualitätskontrollstandardlösungen (dürfen in demselben Gemisch wie die anderen ISTDs enthalten sein oder bei einem anderen Schritt hinzugefügt werden, um Fehlerquellen zu identifizieren und lokalisieren)					
^a Octanol-/Wasser-Verteilungskoeffizient					
^b Vorgeschlagene Konzentration; Lösemittel: Acetonitril					
^c Bestandteil von Nicarbazin					
^d Sehr gut nachweisbar					
^e Schlecht nachweisbar					
^f Nicht geeignet					

Weitere generische ISTDs können verwendet werden, das Laboratorium muss jedoch zeigen, dass die eingesetzten ISTDs für den Zweck geeignet sind.

A.2 Bei den Extraktions- (E) und Reinigungsmodulen (C) verwendetes Gerät

Übliche Laborgeräte und insbesondere Folgendes:

A.2.1 Zentrifugenröhrchen mit Schraubverschluss, 50 ml.

Beispielsweise 50-ml-Zentrifugenröhrchen aus Polytetrafluorethylen mit Schraubdeckeln oder 50-ml-Polypropylen-Zentrifugenröhrchen mit Schraubdeckeln zur einmaligen Verwendung.

A.2.2 Lösemittelspender für Acetonitril, Kapazität 10 ml, für das Dosieren des Extraktionsmittels.

A.2.3 Automatische Pipetten, geeignet für die Handhabung von Volumina von 10 µl bis 100 µl, 200 µl bis 1 000 µl und 1 ml bis 10 ml, oder 10-ml-Messpipetten aus Glas.

A.2.4 Einwegzentrifugenröhrchen aus Polypropylen mit Schraubverschluss, 10 ml oder 12 ml.

A.2.5 Schüttler, Horizontal-, Vertikal- oder Orbitalschüttler, mindestens 200 min^{-1} .

A.2.6 Zentrifugen, die für die in (A.2.1, A.2.4) angegebenen Zentrifugenröhrchen geeignet sind und mindestens $3\,000\text{ g}$ erreichen können.

A.2.7 Hochgeschwindigkeitsdispergiergerät, der Durchmesser der Dispergierelemente sollte in die Öffnungen der verwendeten Zentrifugenröhrchen (A.2.1) passen.

A.2.8 Mahlvorrichtung.

A.2.9 Gefriergerät, betrieben bei -18 °C bis -25 °C .

A.2.10 Injektionsfläschchen, 1,5 ml, geeignet für LC-Autosampler, gegebenenfalls mit Mikroeinsätzen.

A.2.11 Glasfläschchen mit Schraubverschluss, 10 ml oder 20 ml, gegebenenfalls zur Aufbewahrung überschüssiger Mengen des Endextrakts.

A.2.12 Vortex-Mischer.

A.3 Beschreibung des Extraktionsmoduls (E)

A.3.1 Modul E: Extraktion einer Einwaage von 5 g ohne Wasserzugabe unter Verwendung von Acetonitril

A.3.1.1 Kurzbeschreibung

Nach Hinzufügen von Wasser wird das homogenisierte Prüfmateriale mit Acetonitril extrahiert. Nach Zugabe von Magnesiumsulfat, Natriumchlorid sowie Citratsalzen zum Puffern wird die Mischung noch einmal kräftig geschüttelt und anschließend zentrifugiert. Die Acetonitrilphase wird abgetrennt und gereinigt (Modul C).

A.3.1.2 Durchführung

A.3.1.2.1 Einwaage

Eine repräsentative Einwaage von $5\text{ g} \pm 0,1\text{ g}$ (m_{Probe}) der zerkleinerten homogenen Probe wird in ein 50-ml-Zentrifugenröhrchen (A.2.1) überführt. 5,0 ml Wasser (A.1.8) werden hinzugegeben.

A.3.1.2.2 ISTD-Zugabe

Ein kleines festgelegtes Volumen der ISTD-Lösung (A.1.1) ($V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$, z. B. $100\text{ }\mu\text{l}$), die eine oder mehrere der in Tabelle A.1 aufgeführten Verbindungen in den exemplarisch angegebenen Konzentrationen (C_{ISTD}) enthält, wird hinzugegeben.

A.3.1.2.3 Erste Extraktion

10 ml Acetonitril (A.1.2) (V_{Ex}) werden hinzugegeben. Das Röhrchen wird verschlossen und bei Raumtemperatur befindliche Proben werden für 1 min bis 3 min, gefrorene Proben für 15 min, gegebenenfalls mithilfe eines Schüttlers (A.2.5), kräftig geschüttelt.

Proben sollten im gefrorenen Zustand oder während des Auftauens extrahiert werden. Werden Proben bei Raumtemperatur extrahiert, muss sichergestellt sein, dass kein signifikanter Abbau der zu untersuchenden Pestizide erfolgt. Eine längere Extraktionszeit darf verwendet werden, wenn nachgewiesen wird, dass dies die Wiederfindungsrate nicht signifikant beeinflusst.

Wenn der Zerkleinerungsgrad einer Probe unzureichend ist, kann die Extraktion durch ein Hochgeschwindigkeits-Dispergiergerät (A.2.7) unterstützt werden. In diesem Fall ist die Zugabe eines ISTD vor dem Dispergierschritt obligatorisch. Hierzu wird das Dispergiererelement in das Probe-Acetonitril-Gemisch getaucht und dieses wird etwa 2 min mit hoher Drehzahl gemischt. Das Dispergiererelement muss gründlich gereinigt werden, bevor es für die nächste Probe verwendet wird, um Kreuzkontamination zu vermeiden.

A.3.1.2.4 Zweite Extraktion und Verteilung

Das vorbereitete Puffersalzgemisch (A.1.7) wird zur Suspension aus A.3.1.2.3 gegeben. Das Röhrchen wird geschlossen und sofort einige Sekunden lang kräftig geschüttelt, um die Bildung von Klumpen zu vermeiden. Anschließend wird es zwischen 1 min und 20 min von Hand oder mit einem Schüttler (A.2.5) erneut geschüttelt und 5 min bei > 3 000 g zentrifugiert.

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

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

A.3.1.3 Berechnung

Die Massenkonzentration der Probe im Rohextrakt $\rho_{\text{sample}}^{\text{raw extract}}$ gibt das Verhältnis der Menge der Probe, aus der die Rückstände extrahiert werden, zu dem Extraktionsvolumen an. In der Regel wird $\rho_{\text{sample}}^{\text{raw extract}}$ in g/ml angegeben und nach Gleichung (A.1) berechnet:

$$\rho_{\text{sample}}^{\text{raw extract}} = \frac{m_{\text{sample}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.1})$$

Dabei ist

m_{sample} die Masse der Einwaage in g;

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

Die Massenkonzentration des ISTD im Rohextrakt $\rho_{\text{sample}}^{\text{raw extract}}$ wird in µg/ml angegeben und nach Gleichung (A.2) berechnet:

$$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{raw extract}} = \frac{\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}} \times V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}}{V_{\text{Ex}}} \quad (\text{A.2})$$

Dabei ist

$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ die Massenkonzentration der hinzugegebenen ISTD-Lösung in µg/ml;

$V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ das Volumen des der Probe hinzugegebenen ISTD in ml;

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

A.3.1.4 Arbeitsablauf von Modul E

Schritt 1: 5 ml Wasser werden zu der Einwaage (5 g ± 0,1 g) hinzugegeben.

Schritt 2: Optional wird ISTD (z. B. 100 µl) zu der Einwaage hinzugegeben.

Schritt 3: 10 ml Acetonitril werden zu der Einwaage hinzugegeben.

- Schritt 4: Bei Raumtemperatur befindliche Proben werden für 1 min bis 3 min, gefrorene Proben für 15 min kräftig geschüttelt.
- Schritt 5: Puffersalzgemisch wird hinzugegeben und das Röhrchen wird sofort einige Sekunden lang kräftig geschüttelt, um die Bildung von Klumpen zu vermeiden. Anschließend wird es von Hand oder mit einem Schüttler erneut zwischen 1 min und 20 min geschüttelt.
- Schritt 6: Die Proben werden für 5 min bei > 3 000 g zentrifugiert.
- Schritt 7: Die obere Acetonitrilphase wird für die Weiterbehandlung nach einem der Module C abgenommen.

A.4 Beschreibung der Reinigungsmodule (C)

A.4.1 Modul C1: Reinigung durch Ausfrieren von mitextrahiertem Fett

A.4.1.1 Kurzbeschreibung

Dieses Reinigungsmodul C1 wird in Kombination mit anderen Reinigungsmodulen (C2) angewendet. Der mithilfe der Module E erhaltene Extrakt wird durch Ausfrieren von Fett befreit.

A.4.1.2 Durchführung

Ein Aliquot von 6 ml der Acetonitrilphase aus den Modulen E wird in ein Zentrifugenröhrchen (A.2.4) überführt und über Nacht mindestens 4 h lang in einem Gefriergerät (A.2.9) gelagert, wobei der größte Teil der Fett- oder Wachsanteile erstarrt und ausfällt. Nach kurzem Zentrifugieren (sofern erforderlich) werden 4 ml des noch kalten Extrakts für die Messung entnommen.

ANMERKUNG Des Weiteren trägt das Ausfrieren dazu bei, einige zusätzliche Koextraktstoffe mit begrenzter Löslichkeit in Acetonitril aus der Probe zu entfernen.

Um Matrixeffekte zu reduzieren, kann ein Aliquot des Rohextrakts (V_A) mit einem festgelegten Volumen eines geeigneten Lösemittels (V_B) auf ein resultierendes Gesamtvolumen von ($V_A + V_B$) verdünnt werden, wenn die Empfindlichkeit des verwendeten Nachweissystems ausreichend ist.

A.4.1.3 Berechnung

Die Massenkonzentration der Probe im Endextrakt $\rho_{\text{sample}}^{\text{final extract}}$ gibt das Verhältnis der Menge der Probe, aus der die Rückstände extrahiert werden, zu dem Extraktionsvolumen an. In der Regel wird $\rho_{\text{sample}}^{\text{final extract}}$ in g/ml angegeben und nach Gleichung (A.21) berechnet:

$$\rho_{\text{sample}}^{\text{final extract}} = \rho_{\text{sample}}^{\text{raw extract}} \times \frac{V_A}{(V_A + V_B)} \quad (\text{A.3})$$

Dabei ist

$\rho_{\text{sample}}^{\text{raw extract}}$ **die Massenkonzentration des Rohextrakts in g/ml;**

V_A das verwendete Aliquot des Rohextrakts in ml;

V_B das hinzugefügte Volumen eines geeigneten Lösemittels in ml.

Die Massenkonzentration des ISTD im Endextrakt $\rho_{\text{sample}}^{\text{final extract}}$ wird in µg/ml angegeben und nach Gleichung (A.22) berechnet:

$$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{final extract}} = \frac{\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}} \times V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}}{V_{\text{Ex}}} \times \frac{V_{\text{A}}}{(V_{\text{A}} + V_{\text{B}})} \quad (\text{A.4})$$

Dabei ist

$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{Addo}}$ die Massenkonzentration der hinzugegebenen ISTD-Lösung in µg/ml;

$V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ das Volumen des der Probe hinzugegebenen ISTD in ml;

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

V_{A} das verwendete Aliquot des Rohextrakts in ml;

V_{B} das hinzugefügte Volumen eines geeigneten Lösemittels in ml.

A.4.1.4 Arbeitsablauf von Modul C1

Schritt 1: 6 ml Rohextrakt werden in ein Zentrifugenröhrchen überführt und mindestens 4 h lang in einem Gefriergerät gelagert.

Schritt 2: (Gegebenenfalls) zentrifugieren und 4 ml des immer noch kalten Extrakts entnehmen.

Schritt 3: (Gegebenenfalls) verdünnen und entsprechend den Modulen C2 oder D weiterverarbeiten.

A.4.2 Modul C2: Reinigung durch dispersive SPE mit Aminosorbens (PSA)

A.4.2.1 Kurzbeschreibung

Dieses Reinigungsmodul wird bei Extrakten, die nach Modul C1 erhalten werden, zur Bestimmung neutraler und alkalischer Pestizide in allen nicht gesondert genannten Erzeugnissen angewendet.

Der nach Modul C1 erhaltene Extrakt wird durch dispersive Festphasenextraktion (SPE) unter Verwendung eines primären sekundären Aminosorbens (PSA) gereinigt.

A.4.2.2 Durchführung

Ein Aliquot von 4 ml der nach Modul C1 erhaltenen Acetonitrilphase wird in ein Polypropylen-Einmalzentrifugenröhrchen (A.2.4) überführt, das bereits 100 mg PSA (A.1.12) und 600 mg Magnesiumsulfat (A.1.11) enthält. Das Röhrchen wird verschlossen, für 30 s kräftig geschüttelt, gegebenenfalls mit einem Schüttler (A.2.5), und für 5 min bei > 3 000 g zentrifugiert. Der klare Extrakt wird sofort isoliert.

Je 1 ml Extrakt werden 150 mg Magnesiumsulfat und 25 mg PSA benötigt.

ANMERKUNG Es ist hilfreich, die Zentrifugenröhrchen mit dem Sorbens für die dispersive SPE-zu befüllen, bevor mit dem Extraktionsprozess für eine Probenserie begonnen wird.

Um Matrixeffekte zu reduzieren, kann ein Aliquot des Rohextrakts (V_{A}) mit einem festgelegten Volumen eines geeigneten Lösemittels (V_{B}) auf ein resultierendes Gesamtvolumen von ($V_{\text{A}} + V_{\text{B}}$) verdünnt werden, wenn die Empfindlichkeit des verwendeten Nachweissystems ausreichend ist.

A.4.2.3 Berechnung

Die Massenkonzentration der Probe im Endextrakt $\rho_{\text{sample}}^{\text{final extract}}$ gibt das Verhältnis der Menge der Probe, aus der die Rückstände extrahiert werden, zu dem Extraktionsvolumen an. In der Regel wird $\rho_{\text{sample}}^{\text{final extract}}$ in g/ml angegeben und nach Gleichung (A.5) berechnet:

$$\rho_{\text{sample}}^{\text{final extract}} = \rho_{\text{sample}}^{\text{raw extract}} \times \frac{V_A}{(V_A + V_B)} \quad (\text{A.5})$$

Dabei ist

$\rho_{\text{sample}}^{\text{raw extract}}$ die Massenkonzentration des Rohextrakts in g/ml;

V_A das verwendete Aliquot des Rohextrakts in ml;

V_B das hinzugefügte Volumen eines geeigneten Lösemittels in ml.

Die Massenkonzentration des ISTD im Endextrakt $\rho_{\text{ISTD}}^{\text{final extract}}$ wird in µl/ml angegeben und nach Gleichung (A.6) berechnet:

$$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{final extract}} = \frac{\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}} \times V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}}{V_{\text{Ex}}} \times \frac{V_A}{(V_A + V_B)} \quad (\text{A.6})$$

Dabei ist

$\rho_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ die Massenkonzentration der hinzugegebenen ISTD-Lösung in µg/ml;

$V_{\text{ISTD}}^{\text{add}}$ das Volumen des der Probe hinzugegebenen ISTD in ml;

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

V_A das verwendete Aliquot des Rohextrakts in ml;

V_B das hinzugefügte Volumen eines geeigneten Lösemittels in ml.

A.4.2.4 Arbeitsablauf von Modul C2

Schritt 1: 4 ml Extrakt werden in ein Zentrifugenröhrchen überführt, das bereits 100 mg PSA und 600 mg Magnesiumsulfat enthält.

Schritt 2: Das Röhrchen wird kräftig für 30 s geschüttelt und für 5 min bei > 3 000 g zentrifugiert.

Schritt 3: (Gegebenenfalls) verdünnen und entsprechend den Modulen D weiterverarbeiten.

A.5 Beschreibung der Detektionsmodule (D)

A.5.1 Modul D: Bestimmung durch Flüssigchromatographie mit massenspektrometrischem Nachweis (LC-MS)

A.5.1.1 Kurzbeschreibung

Die flüssigchromatographische Bestimmung mit Nachweis durch Massenspektrometrie eignet sich für alle nach Modul E extrahierten und bei Atmosphärendruck ionisierbaren Analyten. Eine Reinigung entsprechend den Modulen C1 und C2 wird empfohlen, ist aber aufgrund der hohen Selektivität des massenspektrometrischen Nachweises nicht in jedem Fall erforderlich.

A.5.1.2 Durchführung

Lösungen aus Modul C1 oder C2 werden in ein Flüssigchromatographiesystem injiziert, das mit einem Tandem-Massenspektrometer gekoppelt ist.

A.5.1.3 Gerät

Die Messungen können mit verschiedenen Geräten, Geräteparametern und Trennsäulen durchgeführt werden. Einige Geräteparameter und Trennsäulen sind in Tabelle A.2 und Tabelle A.3 in diesem Modul aufgeführt. Die folgenden LC-MS-Betriebsbedingungen haben sich in der Praxis bewährt, sind aber nur als Beispiele von Untersuchungsbedingungen für die angegebenen Geräte zu verstehen. Abweichungen von diesen Bedingungen sind keine Abweichungen von dem Verfahren.

A.5.1.4 Beispiele geeigneter Bedingungen

Tabelle A.2 — HPLC-Systeme

	1	2	3	4	5	6	7	8
Säule	Phenomenex Aqua ^a 5 µm C18 125Å, (50 × 2) mm	Waters Acquity UPLC BEH C18 ^b , 1,7 µm, (50 × 2,1) mm	Zorbax XDB C18 ^c , 3,5 µm, (150 × 2,1) mm	Agilent Zorbax Eclipse Plus Rapid Resolution HD ^c , 1,8 µm, (100 × 2,1) mm	Thermo Scientific Acclaim RSLC 120 C18 ^d , 2,2 µm, 120 Å, (100 × 2,1) mm	Thermo Scientific Accucore aQ C18 ^d , 2,6 µm, (100 × 2,1) mm	Dionex Acclaim RSLC 120 C18 ^d , 2,2 µm; 120 Å, (100 × 2,1) mm	Waters Acquity UPLC BEH C18 ^b , 1,7 µm, (100 × 2,1) mm
Mobile Phase A1:	Methanol + Wasser, V ₁ + V ₂ , 2 + 8 mit 5 mmol/l Ammoniumformiat	Methanol + Wasser, V ₁ + V ₂ , 2 + 8 mit 5 mmol/l Ammoniumformiat	Essigsäurelösung in Wasser, 0,1 ml Eisessig zu 1 000 ml Wasser hinzugeben	Wasser mit 5 mmol/l Ammoniumformiat und 0,1 % Ameisensäure	Methanol + Wasser, V ₁ + V ₂ , 1 + 9 mit 5 mmol/l Ammoniumformiat und 0,01 % Ameisensäure	5 mmol/l Ammoniumformiat und 0,1 % Ameisensäure in Wasser	Milli-Q-Wasser mit 0,1 % Ameisensäure und 5 mmol/l Ammoniumhydroxid	Wasser mit 10 mmol/l Ammoniumacetat
Mobile Phase B1:	Methanol + Wasser, V ₁ + V ₂ , 9 + 1 mit 5 mmol/l Ammoniumformiat	Methanol + Wasser, V ₁ + V ₂ , 9 + 1 mit 5 mmol/l Ammoniumformiat	Essigsäurelösung in Acetonitril, 0,1 ml Eisessig zu 1 000 ml Acetonitril hinzugeben	Methanol mit 5 mmol/l Ammoniumformiat und 0,1 % Ameisensäure	Methanol mit 5 mmol/l Ammoniumformiat und 0,01 % Ameisensäure	5 mmol/l Ammoniumformiat und 0,1 % Ameisensäure in Methanol	Acetonitril mit 0,1 % Ameisensäure	Wasser mit 10 mmol/l Ammoniumacetat
Säulentemp.	20 °C	20 °C	40 °C	30 °C	30 °C	40 °C	30 °C	45 °C
Injektionsvolumen:		3 µl	5 µl	3 µl	10 µl		5 µl	5 µl
Flussrate µl/min	200	400	300	300	200	400	200, 200, 200, 400, 400, 200, 200	450
Elutionsgradient	Zeit B1 min %	Zeit B1 min %	Zeit B1 min %	Zeit B1 min %	Zeit B1 min %	Zeit B1 min %	Zeit B1 min %	Zeit B1 min %
	0 – 0	0 – 0	0 – 20	0 – 20	0 – 1	0 – 20	0 – 10	0 – 2
	11 – 100	6,1 – 100	20 – 100	2 – 20	1 – 1	1,0 – 20	1 – 10	0,25 – 2
	23 – 100	12,7 – 100	22 – 100	15 – 100	3 – 39	10,5 – 98	3 – 40	12,25 – 99
	25 – 0	13,8 – 0	22,1 – 20	17 – 100	14 – 99,9	14,5 – 98	14 – 90	13,00 – 99
	33 – 0	18,2 – 0	30 – 20	17,1 – 20	16 – 99,9	15,0 – 20	16 – 90	13,01 – 2

Tabelle A.2 (*fortgesetzt*)

	1	2	3	4	5	6	7	8
				19 – 20	16,1 – 1	19,0 – 20	16,1 – 10	17,00 – 2
					20 – 1		20 - 10	
a	Phenomenex Aqua ist der Handelsname eines von Phenomenex angebotenen Produkts. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN oder CENELEC. Gleichwertige Produkte dürfen verwendet werden, wenn sie nachweislich zu den gleichen Ergebnissen führen.							
b	Waters Acquity UPLC BEH C18 ist der Handelsname eines von Waters angebotenen Produkts. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN oder CENELEC. Gleichwertige Produkte dürfen verwendet werden, wenn sie nachweislich zu den gleichen Ergebnissen führen.							
c	Zorbax XDB C18, Agilent Zorbax Eclipse Plus Rapid Resolution HD sind Handelsnamen von Produkten, die von Agilent angeboten werden. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN oder CENELEC. Gleichwertige Produkte dürfen verwendet werden, wenn sie nachweislich zu den gleichen Ergebnissen führen.							
d	Thermo Scientific Acclaim RSLC 120 C18, Thermo Scientific Accucore aQ C18, Dionex Acclaim RSLC 120 C18 sind Handelsnamen von Produkten, die von Thermo angeboten werden. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN oder CENELEC. Gleichwertige Produkte dürfen verwendet werden, wenn sie nachweislich zu den gleichen Ergebnissen führen.							

Tabelle A.3 — MS-Systeme

	1	2	3	4	5	6	7	8
MS/MS-Instrument:	AB Sciex QTRAP 5500	Agilent 6460A	Waters Xevo TQS	AB Sciex TripleTOF 5600+	BRUKER IMPACT II	Thermo Scientific Q-Exactive	6550 Funnel QTOF LC/MS, Agilent Technologies	Xevo G2-S QToF (YDA 172)
Ionenquelle:	Turbo Ion Spray (ESI)	Düsenstrahlquelle (ESI)	Elektrospray	DuoSpray-Ionenquelle (ESI)	Turbo Ion Spray (ESI)	Heated Electrospray Ionization Source (HESI II)	Agilent Jet Stream ESI	Z-Spray (ESI)

A.5.1.5 Anmerkungen zum Verfahren

Geeignete Untersuchungsbedingungen für LC-MS/MS-Messungen siehe CEN/TR 15641:2007 „Determination of pesticide residues by LC-MS/MS — Collection of mass spectrometric parameters“ [1]. Dennoch bietet die individuelle Einstellung des Messgeräts für die bei der Messung verwendeten Verbindungen grundsätzlich eine höhere Empfindlichkeit.

Für die LC-MS/MS-Analyse sind Umkehrphasensäulen besonders gut geeignet, da diese einen hohen Wassergehalt in der Gradientenlösung tolerieren.

Werden bestimmte Kombinationen von Gradienten und Säulen verwendet, sind für die Verdünnung des Extrakts mit Wasser oder mobiler Phase A hochpolare Verbindungen erforderlich, damit eine geeignete Peakform oder chromatographische Auflösung erreicht wird. In diesen Fällen ist zu beachten, dass eine Erhöhung des Wassergehalts zur Ausfällung hochlipophiler Verbindungen führen kann, die während der Filtration u. U. verloren gehen. Aus diesem Grund wird die automatische Verdünnung der Lösungen im Instrumenteninjektor empfohlen.

Trotz der hohen Selektivität des MS/MS-Nachweises wird empfohlen, mindestens zwei Massenübergänge jedes Analyten zu beobachten, um eine zuverlässige Identifizierung zu ermöglichen. Bei der Wahl der Anzahl der gleichzeitig erkannten Massenübergänge muss berücksichtigt werden, dass die Anzahl der Messpunkte für einen Peak mindestens 10 betragen muss. Daher wird zur Messung von analyt-typischen Massenübergängen innerhalb eines schmalen Fensters um die erwartete Retentionszeit des Analyten die Anwendung von automatischen Algorithmen (z. B. „Scheduled MRM“ oder „Triggered MRM“) empfohlen.

Innerhalb einer Sequenz müssen regelmäßig Standardlösungen injiziert werden; siehe hierzu auch die Anforderungen der EU Quality Control Procedures [2].

A.6 Beschreibung der Quantifizierungsoptionen (Q)

A.6.1 Option Q1: Quantifizierung mit externen Standards in Lösemittel

A.6.1.1 Kurzbeschreibung

Die Bestimmung der Konzentration des identifizierten Analyten im Endextrakt erfolgt durch Vergleich mit Standards bekannter Konzentration in Lösemittel. Es wird auf die allgemeinen Bemerkungen zur Durchführung und Berechnung von Kalibrierungen in CEN/TS 17061:2019, 6.1 und 6.2, verwiesen.

Dieses Quantifizierungsmodul ist anwendbar, wenn innerhalb einer Messsequenz keine Schwankungen in der Signalintensität auftreten, wenn keine Kompensation von Verlusten während der Extraktion, Reinigung und Messung notwendig ist und wenn Matrixeffekte ausgeschlossen werden können (siehe Tabelle 1).

A.6.1.2 Durchführung

Lösungen von Analysenstandards in verschiedenen Konzentrationen werden durch Verdünnung von Stammlösungen mit einem geeigneten Lösemittel hergestellt. Diese Lösungen werden zusammen mit den Probenextrakten chromatographiert. Die Peakflächen (oder Höhen) der Analyten in den Standardlösungen und den Probenextrakten werden bestimmt. Nach Auswahl einer geeigneten Kalibrierfunktion (siehe CEN/TS 17061:2019, 6.4.2 bis 6.4.5) kann die Konzentration des Analyten im Probenextrakt ρ_A berechnet werden.

A.6.1.3 Berechnung

Die Berechnung des Rückstands eines Analyten in der Probe kann auf der Basis von ρ_A nach 7.3 erfolgen.

A.6.2 Option Q2: Quantifizierung mit externen Standards in Matrix

A.6.2.1 Kurzbeschreibung

Die Bestimmung der Konzentration des identifizierten Analyten im Endextrakt erfolgt durch Vergleich mit Standards bekannter Konzentration in Matrixextrakten von rückstandsfreien Materialien (matrixabgestimmte Standards). Es wird auf die allgemeinen Bemerkungen zur Durchführung und Berechnung von Kalibrierungen in CEN/TS 17061:2019, 6.1, 6.2 und 6.3 (Prüfung auf Matrixeffekte), verwiesen.

Diese Quantifizierungsoption muss angewendet werden, wenn innerhalb einer Messsequenz keine Schwankungen in der Signalintensität auftreten, wenn keine Kompensation von Verlusten während der Extraktion, Reinigung und Messung notwendig ist und wenn Matrixeffekte nicht ausgeschlossen werden können.

A.6.2.2 Durchführung

Lösungen von Analysenstandards in verschiedenen Konzentrationen werden durch Verdünnung von Stammlösungen mit Endextrakten von rückstandsfreien Materialien hergestellt. Ein anderer Ansatz zur Herstellung von matrixabgestimmten Standards besteht darin, ein bekanntes Volumen von Extrakten rückstandsfreier Matrices unter einem leichten Stickstoffstrom bis zur Trockne einzudampfen und mit demselben Volumen des Standards in Lösemittel zu rekonstituieren. Diese Lösungen werden zusammen mit den Probenextrakten chromatographiert. Die Peakflächen (oder Höhen) der Analyten in den Standardlösungen und den Probenextrakten werden bestimmt. Nach Auswahl einer geeigneten Kalibrierfunktion (siehe CEN/TS 17061:2019, 6.4.2 bis 6.4.5) kann die Konzentration des Analyten im Probenextrakt ρ_A berechnet werden.

A.6.2.3 Berechnung

Die Berechnung des Rückstands eines Analyten in der Probe kann auf der Basis von ρ_A nach 7.3 erfolgen.

A.6.3 Option Q3: Quantifizierung mit einem verfahrensinternen Standard und Standards in Lösemittel

A.6.3.1 Kurzbeschreibung

Die Bestimmung der Konzentration des identifizierten Analyten im Endextrakt erfolgt durch Vergleich mit Standards bekannter Konzentration in Lösemittel, das eine konstante Menge verfahrensinterner Standards enthält. Es wird auf die allgemeinen Bemerkungen zur Durchführung und Berechnung von Kalibrierungen in CEN/TS 17061:2019, 6.5, verwiesen.

Diese Quantifizierungsoption muss angewendet werden, wenn ein Ausgleich von Verlusten während der Extraktion und Reinigung oder Schwankungen bei der Messung notwendig ist und Matrixeffekte ausgeschlossen werden können.

A.6.3.2 Durchführung

Lösungen von Analysenstandards in verschiedenen Konzentrationen werden durch Verdünnung von verschiedenen Volumen der Stammlösungen und einem konstanten Volumen der internen Standardlösung mit einem geeigneten Lösemittel auf ein definiertes Volumen hergestellt. Diese Lösungen werden zusammen mit den Probenextrakten chromatographiert. Die Peakflächen (oder Höhen) der Analyten in den Standardlösungen und den Probenextrakten werden bestimmt. Nach Auswahl einer geeigneten Kalibrierfunktion nach CEN/TS 17061:2019, 6.5.1, wird die Konzentration des Analyten im Probenextrakt ρ_A berechnet.

A.6.3.3 Berechnung

Die Berechnung des Rückstands eines Analyten in der Probe kann auf der Basis von ρ_A nach 7.3 erfolgen.

A.6.4 Option Q4: Quantifizierung durch Standardaddition zum Endextrakt

A.6.4.1 Kurzbeschreibung

Die Bestimmung der Konzentration des identifizierten Analyten im Endextrakt erfolgt durch Vergleich des Analytensignals im Endextrakt mit dem Analytensignal in denjenigen Endextrakten, in denen bekannte Mengen des Analyten zudosiert wurden. Es wird auf die allgemeinen Bemerkungen zur Durchführung und Berechnung von Kalibrierungen in CEN/TS 17061:2019, 6.6.3, verwiesen.

Diese Quantifizierungsoption muss angewendet werden, wenn lediglich Matrixeffekte zu kompensieren sind und eine geeignete rückstandsfreie Matrix nicht zur Verfügung steht. Die Anwendung dieser Option setzt voraus, dass ein linearer Zusammenhang zwischen der Konzentration des Analyten und der Response im Detektionssystem besteht.

A.6.4.2 Durchführung

Vor der Messung werden bekannte Mengen des zu bestimmenden Analyten zu Aliquoten des Endextraktes hinzugefügt. Anschließend werden alle Aliquote durch Zugabe von Lösemittel auf das gleiche Volumen gebracht. Die unterschiedlich dosierten Endextrakte werden zusammen mit dem undotierten Endextrakt der Probe chromatographiert. Die Peakflächen (oder Höhen) des Analyten in den undotierten und dosierten Extrakten werden bestimmt und aufgetragen (siehe CEN/TS 17061:2019, 6.6.2). Anhand der Regressionsgerade kann die Masse des Analyten im Extrakt bestimmt werden.

A.6.4.3 Berechnung

Die Berechnung des Rückstands des Analyten in der Probe kann nach CEN/TS 17061:2019, 6.6.2., erfolgen.

A.6.5 Option Q5: Quantifizierung mit einem verfahrensinternen Standard und Standards in Matrix oder isotoopenmarkierten internen Standards

A.6.5.1 Kurzbeschreibung

Die Bestimmung der Konzentration des identifizierten Analyten im Endextrakt erfolgt durch Vergleich mit Standards bekannter Konzentration in Matrixextrakten von rückstandsfreien Materialien (matrixabgestimmte Standards), die eine konstante Menge eines verfahrensinternen Standards enthalten. Es wird auf die allgemeinen Bemerkungen zur Durchführung und Berechnung von Kalibrierungen in CEN/TS 17061:2019, 6.5, verwiesen.

Ein Sonderfall ist die Verwendung eines isotoopenmarkierten internen Standards, der sich nur bezüglich des Isotops vom Analyten unterscheidet. Hierbei erfolgt in der Regel eine sehr gute Kompensation der Matrixeffekte, so dass die Verwendung von rückstandsfreien Materialien für diese Standards nicht notwendig ist.

Diese Quantifizierungsoption muss angewendet werden, wenn Verluste während der Extraktion oder Reinigung oder Schwankungen bei der Messung zu kompensieren sind oder signifikante Matrixeffekte auftreten.

A.6.5.2 Durchführung

Lösungen von Analysenstandards in verschiedenen Konzentrationen werden durch Verdünnung von verschiedenen Volumen der Stammlösungen und einem konstanten Volumen der internen Standardlösung mit Matrixextrakten aus rückstandsfreien Materialien auf ein definiertes Volumen hergestellt. Diese Lösungen werden zusammen mit den Probenextrakten chromatographiert. Die Peakflächen (oder Höhen) der Analyten in den Standardlösungen und den Probenextrakten werden bestimmt. Nach Auswahl einer geeigneten Kalibrierfunktion (siehe CEN/TS 17061:2019, 6.5.1) kann die Konzentration des Analyten im Probenextrakt ρ_A berechnet werden.

Bei der Verwendung isotoopenmarkierter interner Standards werden ein konstantes Volumen der isotoopenmarkierten internen Standardlösung und variable Volumen der nativen Analytlösung in Lösemittel auf ein definiertes Volumen gebracht.

A.6.5.3 Berechnung

Die Berechnung des Rückstands eines Analyten in der Probe kann auf der Basis von ρ_A nach 7.3 erfolgen.

Bei Verwendung von isotonenmarkierten internen Standards vereinfacht sich die Berechnung derart, dass die genaue Kenntnis von Extraktionsmittelvolumen, Verdünnungsfaktoren, Matrixeffekten usw. nicht notwendig ist. Der Masseanteil des Analyten w_A kann unter Verwendung der bekannten Probenmasse direkt aus der Kalibrierung erhalten werden. Ein konstantes Volumen der isotonenmarkierten internen Standardlösung und variable Volumen der nativen Analytlösung in Lösemittel werden auf ein definiertes Volumen gebracht. Die Berechnung des Rückstands des Analyten in der Probe kann nach CEN/TS 17061:2019, 6.5.2 und 6.5.3 erfolgen.

A.6.6 Option Q6: Quantifizierung durch Standardaddition zur Probe

A.6.6.1 Kurzbeschreibung

Die Bestimmung der Konzentration des identifizierten Analyten im Endextrakt erfolgt durch Vergleich des Analytensignals im Endextrakt mit dem Analytensignal in denjenigen Endextrakten, in denen bekannte Mengen des Analyten zudosiert wurden. In diesem Fall werden vor der Extraktion bekannte Mengen des Analyten zur Probe hinzugegeben. Es wird auf die allgemeinen Bemerkungen zur Durchführung und Berechnung in CEN/TS 17061:2019, 6.6.1, verwiesen.

Die Anwendung dieser Option setzt voraus, dass ein linearer Zusammenhang zwischen der Konzentration des Analyten und der Response im Detektionssystem besteht. Diese Quantifizierungsoption muss angewendet werden, wenn Analytenverluste während der Extraktion und Reinigung auftreten, Schwankungen in den Messungen zu kompensieren sind und ein geeignetes rückstandsfreies Material nicht zur Verfügung steht.

A.6.6.2 Durchführung

Vor der Extraktion werden bekannte Mengen des zu bestimmenden Analyten zu Einwaagen der Probe hinzugefügt. Anschließend durchlaufen dotierte und undotierte Einwaagen das gesamte Analyseverfahren. Die Peakflächen (oder Höhen) des Analyten in den undotierten und dotierten Proben werden bestimmt und aufgetragen (siehe CEN/TS 17061:2019, 6.6.3). Anhand der Regressionsgerade kann die Masse des Analyten in der Probe bestimmt werden.

A.6.6.3 Berechnung

Die Berechnung des Rückstands des Analyten in der Probe kann nach CEN/TS 17061:2019, 6.6.3, erfolgen.

A.6.7 Option Q7: Quantifizierung durch Kalibrierung des Gesamtverfahrens

A.6.7.1 Kurzbeschreibung

Die Bestimmung der Konzentration des identifizierten Analyten im Endextrakt erfolgt durch Vergleich des Analytensignals im Endextrakt der Probe mit dem Analytensignal aus Endextrakten von Kalibrierproben. Dabei durchlaufen Analysenproben und Kalibrierproben das gesamte Analyseverfahren. Es wird auf die allgemeinen Bemerkungen zur Durchführung und Berechnung in CEN/TS 17061:2019, 6.7, verwiesen.

Diese Quantifizierungsoption muss angewendet werden, wenn lediglich Matrixeffekte zu kompensieren sind und eine geeignete rückstandsfreie Matrix nicht zur Verfügung steht.

A.6.7.2 Durchführung

Vor der Extraktion werden bekannte Mengen des zu bestimmenden Analyten zu Einwaagen der Kalibrierprobe hinzugefügt. Anschließend durchlaufen die undotierten Proben und die dotierten Einwaagen das gesamte Analyseverfahren. Die Peakflächen (oder Höhen) der Analyten in den undotierten und dotierten Kalibrierproben werden bestimmt. Nach Auswahl einer geeigneten Kalibrierfunktion (siehe CEN/TS 17061:2019, 6.4.3 und 6.4.4) kann die Konzentration des Analyten im Probenextrakt ρ_A berechnet werden.