

ILNAS

Institut luxembourgeois de la normalisation
de l'accréditation, de la sécurité et qualité
des produits et services

ILNAS-EN 15662:2018

Pflanzliche Lebensmittel - Multiverfahren zur Bestimmung von Pestizidrückständen mit GC und LC nach Acetonitril-Extraktion/Verteilung

Foods of plant origin - Multimethod for
the determination of pesticide residues
using GC- and LC-based analysis
following acetonitrile extraction/
distribution

Aliments d'origine végétale -
Multiméthode de détermination des
résidus de pesticides par analyse CG et
CL après extraction/partition avec de

05/2018



Nationales Vorwort

Diese Europäische Norm EN 15662:2018 wurde als luxemburgische Norm ILNAS-EN 15662:2018 übernommen.

Alle interessierten Personen, welche Mitglied einer luxemburgischen Organisation sind, können sich kostenlos an der Entwicklung von luxemburgischen (ILNAS), europäischen (CEN, CENELEC) und internationalen (ISO, IEC) Normen beteiligen:

- Inhalt der Normen beeinflussen und mitgestalten
- Künftige Entwicklungen vorhersehen
- An Sitzungen der technischen Komitees teilnehmen

<https://portail-qualite.public.lu/fr/normes-normalisation/participer-normalisation.html>

DIESES WERK IST URHEBERRECHTLICH GESCHÜTZT

Kein Teil dieser Veröffentlichung darf ohne schriftliche Einwilligung weder vervielfältigt noch in sonstiger Weise genutzt werden - sei es elektronisch, mechanisch, durch Fotokopien oder auf andere Art!

Deutsche Fassung

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

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

Aliments d'origine végétale - Multiméthode de détermination des résidus de pesticides par analyse GC et CL après extraction/partition avec de l'acétonitrile et purification par SPE dispersive - Méthode modulaire QuEChERS

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 27. Dezember 2017 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim CEN-CENELEC-Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, der ehemaligen jugoslawischen Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel

Inhalt

| | Seite |
|---|-------|
| Europäisches Vorwort | 3 |
| 1 Anwendungsbereich..... | 4 |
| 2 Normative Verweisungen | 4 |
| 3 Kurzbeschreibung | 4 |
| 4 Vorbereitung und Lagerung von Proben | 4 |
| 5 Durchführung..... | 6 |
| 6 Auswertung der Ergebnisse..... | 18 |
| 7 Absicherungsverfahren..... | 26 |
| 8 Präzision | 26 |
| 9 Prüfbericht..... | 26 |
| Anhang A (informativ) Beschreibung der Module | 27 |
| Anhang B (informativ) Ergänzende Informationen..... | 81 |
| Anhang C (informativ) Abkürzungen | 84 |
| Literaturhinweise..... | 86 |

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN 15662:2018) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik – Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis November 2018, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis November 2018 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Dieses Dokument ersetzt EN 15662:2008.

Für die revidierte Version wurden einige Änderungen und Verbesserungen berücksichtigt und insbesondere:

- eine genauere Unterscheidung zwischen möglichen Untersuchungsmodulen (Tabelle 1 bis Tabelle 5);
- die Gelegenheit, die angewendeten Untersuchungsmodule (z. B. Extraktions- oder Reinigungsmodule) in einer einfachen Weise anzugeben;
- klare Angabe der angewendeten Module für spezielle Rohstoffe (Tabelle 6);
- die Optimierung der Extraktionseffizienz durch längere Extraktionsdauer;
- die Angabe geeigneter Parameter für die Detektion mit UPLC-MS/MS und GC-MS/MS;
- neue Herangehensweise für die Quantifizierung von Pestizidrückständen mit einer vereinfachten Vorgehensweise zur Berechnung der Rückstandsgehalte;
- Verweisungen auf die verbesserten Validierungsdaten des Verfahrens (siehe Tabelle 7 und CEN/TR 17063);
- eine Liste der Abkürzungen wurde in Anhang C hinzugefügt.

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

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm beschreibt ein Verfahren für die Analyse von Pestizidrückständen in pflanzlichen Lebensmitteln wie z. B. Früchten (einschließlich Trockenfrüchten), Gemüse (einschließlich getrocknetem Gemüse), Getreide und vielen verarbeiteten Erzeugnissen aus diesen Produkten unter Verwendung von GC, GC-MS(/MS) und/oder LC-MS(/MS). Das Verfahren wurde im Ringversuch mit einer großen Anzahl an Rohstoff-/Pestizidkombinationen geprüft. Die Präzisionsdaten sind in CEN/TR 17063 zusammengefasst. Leitfäden für die Kalibrierung sind 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 17061:2017, *Lebensmittel — Anleitung zur Kalibrierung und quantitativer Bestimmung von Pflanzenschutzmittelrückständen und organischen Kontaminanten mit chromatographischen Verfahren*

3 Kurzbeschreibung

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

4 Vorbereitung und Lagerung von Proben

4.1 Allgemeines

Probenverarbeitungs- und -lagerungsverfahren sollten nachweislich keinen signifikanten Einfluss auf die in der Untersuchungsprobe (manchmal auch „Analysenprobe“ genannt) vorhandenen Rückstände haben. Die Verarbeitung sollte auch sicherstellen, dass die Untersuchungsprobe ausreichend homogen ist, damit die Schwankung zwischen Untersuchungseinheiten (Subprobenahme) 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 unterstützen.

4.2 Laborprobe

Eine Laborprobe, die völlig oder stark verdorben oder zersetzt ist, sollte nicht analysiert werden. Wenn möglich, werden die Laborproben unmittelbar nach dem Eintreffen im Labor und auf jeden Fall vor dem Eintreten signifikanter Anzeichen für physikalische oder chemische Veränderungen untersucht. Falls die Laborprobe nicht ohne Verzögerung bearbeitet werden kann, sollte sie unter geeigneten Bedingungen gelagert werden, um sie frisch zu halten und um ihren Verderb zu vermeiden. Getrocknete oder ähnlich behandelte Proben sollten innerhalb ihrer angegebenen Haltbarkeitsdauer untersucht werden.

4.3 Teilweise vorbereitete Untersuchungsprobe

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

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

4.4 Untersuchungsprobe

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

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

4.5 Einwaage

Einzelne Einwaagen, die jeweils groß genug für eine Untersuchung sind, sollten von der zerkleinerten Untersuchungsprobe entnommen werden. Diese Einwaagen sollten sofort untersucht werden. Falls die Einwaagen nicht direkt untersucht 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.

5 Durchführung

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

Die Tabellen 1 bis 4 enthalten eine kurze Beschreibung der Module, Hinweise zur Anwendung und einige Beispiele dazu. Für die Berechnung der Rückstandskonzentrationen in den Probenextrakten sind alle Vorgehensweisen zur Kalibrierung und alle Quantifizierungsverfahren geeignet, die in den Optionen Q1 bis Q7 (Tabelle 5) beschrieben sind. In der Praxis bevorzugte Kombinationen von Probenextraktions- und Cleanup-Modulen für Rohextrakte werden für eine Vielzahl von Rohstoffen (unverarbeitet und verarbeitet) in der Tabelle 6 aufgeführt.

Tabelle 1 — Extraktion (E)

| Modul | Beschreibung | Bevorzugte Anwendung | Beispiele |
|---------------------------|--|--|---|
| Extraktion ohne Hydrolyse | | | |
| E1 | Extraktion von 10 g Einwaage mit Acetonitril ohne Wasserzusatz | Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit hohem Wassergehalt ($\geq 80\%$) | Obst, Gemüse und Säfte |
| E2 | 10 g Einwaage werden extrahiert durch 10 ml Acetonitril nach Hinzugabe von (a) 0,6 ml oder (b) 0,2 ml Natriumhydroxidlösung. | Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit einem hohen Wassergehalt ($\geq 80\%$) und hohen Säuregehalt | (a) Zitronen, Limetten, rote Johannisbeeren (b) Himbeere, Brombeere |
| E3 | Einer Einwaage von 10 g werden (a) 2,5 ml oder (b) 4,5 ml Wasser hinzugegeben. Anschließend wird die Probe mit Acetonitril extrahiert. | Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit mittlerem Wassergehalt ($> 40\%$ bis $< 80\%$) | (a) Bananen, Wurzel- und Knollengemüse (Kartoffeln, Süßkartoffeln, Pastinaken) (b) Brot, frische Datteln, Esskastanien |
| E4 | Die Untersuchungsprobe wird mit Wasser homogenisiert und eine Einwaage von 13,5 g des Homogenats wird mit Acetonitril extrahiert. | Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit geringem Wassergehalt (15 % bis 40 %) | Trockenfrüchte und ähnliche Erzeugnisse |
| E5 | Eine Einwaage von 5 g wird mit 10 ml Wasser aufgefüllt und anschließend mit Acetonitril extrahiert | Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit sehr geringem Wassergehalt ($< 15\%$) und Honig | Getreidekörner und Produkte daraus, Honig |
| E6 | Eine Einwaage von 5 g wird mit 6 ml Wasser aufgefüllt und anschließend mit Acetonitril extrahiert | Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit mittlerem Wassergehalt ($> 40\%$ bis 80%) und hoher Matrixbelastung oder hohem Fettgehalt ($> 5\%$) | Knoblauch, Avocado |
| E7 | Eine Einwaage von 2 g wird mit 10 ml Wasser aufgefüllt und anschließend mit Acetonitril extrahiert | Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit sehr geringem Wassergehalt ($< 15\%$) und hoher Matrixbelastung sowie gefriergetrocknete Produkte | Gewürze, Kaffee, Tabak, Tee, Linsen, gefriergetrocknetes Obst |

| Modul | Beschreibung | Bevorzugte Anwendung | Beispiele |
|--------------------------|--|--|---|
| Extraktion mit Hydrolyse | | | |
| E8 | Hydrolyse der Ester und Konjugate saurer Pestizide in der Suspension der 10-g-Probe in Acetonitril, gefolgt von der Extraktion mit Acetonitril (vorgeschlagenes Referenzprüfverfahren für die alkalische Hydrolyse) | Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit neutralem oder saurem pH-Wert und hohem Wassergehalt ($\geq 80\%$) | Obst und Gemüse, Säfte, Zitronen |
| E9 | Hydrolyse der Ester und Konjugate saurer Pestizide in der Suspension der 2 g bis 5 g Probe in Acetonitril, gefolgt von der Extraktion mit Acetonitril (vorgeschlagenes Referenzprüfverfahren für die alkalische Hydrolyse) | Pflanzenmaterial und Lebensmittel mit einem geringeren Wassergehalt | Getreide und Getreiderzeugnisse, Knoblauch, Gewürze, Kaffee, Tabak, Tee, Linsen, gefriergetrocknetes Obst |