



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

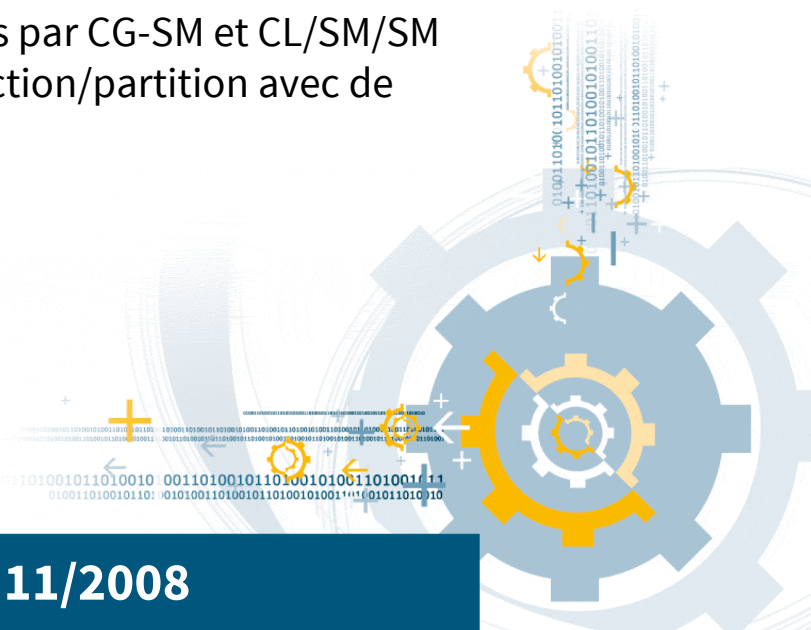
ILNAS-EN 15662:2008

Pflanzliche Lebensmittel - Bestimmung von Pestizidrückständen mit GC-MS und/oder LC-MS/MS nach Acetonitril- Extraktion/Verteilung und Reinigung

Foods of plant origin - Determination of
pesticide residues using GC-MS and/or
LC-MS/MS following acetonitrile
extraction/partitioning and clean-up by

Aliments d'origine végétale - Méthode
polyvalente de détermination des résidus
des pesticides par CG-SM et CL/SM/SM
avec extraction/partition avec de

11/2008



Nationales Vorwort

Diese Europäische Norm EN 15662:2008 wurde als luxemburgische Norm ILNAS-EN 15662:2008 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 - Bestimmung von Pestizidrückständen
mit GC-MS und/oder LC-MS/MS nach Acetonitril-
Extraktion/Verteilung und Reinigung mit dispersiver SPE -
QuEChERS-Verfahren

Foods of plant origin - Determination of pesticide residues
using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile
extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE -
QuEChERS-method

Aliments d'origine végétale - Méthode polyvalente de
détermination des résidus des pesticides par CG-SM et
CL/SM/SM avec extraction/partition avec de l'acétonitrile et
nettoyage par SPE dispersés - Méthode QuEChERS

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 13. September 2008 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 Management-Zentrum des CEN 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 Zentralsekretariat mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

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



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

Management-Zentrum: Avenue Marnix 17, B-1000 Brüssel

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	4
2 Kurzbeschreibung	4
3 Chemikalien.....	4
4 Geräte.....	9
5 Durchführung.....	10
6 Auswertung	17
7 Bestätigung	22
8 Präzision	22
9 Untersuchungsbericht	23
Anhang A (informativ) Beispiele für experimentelle Bedingungen.....	24
Anhang B (informativ) Präzisionsdaten	27
Anhang C (informativ) Schematische Darstellung des Verfahrens (für 10 g Probe).....	76
Anhang D (informativ) Ergänzende Angaben	77
Literaturhinweise	82

Vorwort

Dieses Dokument (EN 15662:2008) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik – Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Mai 2009, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Mai 2009 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Texte dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN [und/oder CENELEC] sind nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

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 die Anwendbarkeit einschränkender Vorschriften zu bestimmen.

Entsprechend der CEN/CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, 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, Getreide und verarbeiteten Erzeugnissen davon. Das Verfahren wurde von verschiedenen Laboratorien an einer großen Anzahl an Lebensmittel/Pestizid-Kombinationen getestet.

2 Kurzbeschreibung

Die homogene Probe wird mit Acetonitril extrahiert. Proben mit einem geringen Wassergehalt (< 80 %) erfordern vor der anfänglichen Extraktion die Zugabe von Wasser, damit eine Gesamtmenge von etwa 10 g Wasser vorliegt. Nach der Zugabe von Magnesiumsulfat, Natriumchlorid und puffernden Citratsalzen wird die Mischung intensiv geschüttelt und zur Phasentrennung zentrifugiert. Ein aliquoter Anteil der organischen Phase wird mit dispersiver Festphasenextraktion (D-SPE) aufgereinigt, wobei loses Sorbens sowie Magnesiumsulfat zur Entfernung des Restwassers eingesetzt werden. Nach einer Reinigung mit Aminosorbentien (z. B. Sorbens mit primären und sekundären Aminogruppen, PSA) werden die Extrakte durch Zugabe einer geringen Menge an Ameisensäure angesäuert, um die Lagerstabilität von bestimmten basenempfindlichen Pestiziden zu verbessern. Der resultierende Extrakt kann direkt zur Bestimmung mit GC und LC eingesetzt werden. Die quantitative Bestimmung erfolgt unter Anwendung eines internen Standards, der nach der anfänglichen Zugabe von Acetonitril dem Extrakt zugesetzt wird. Eine schematische Darstellung des Verfahrens ist im Fließdiagramm in Anhang C dargestellt.

3 Chemikalien

3.1 Allgemeine und Sicherheitsaspekte

Soweit nicht anders festgelegt, werden Chemikalien von anerkannter Analysenreinheit verwendet. Es muss auf alle Fälle verhindert werden, dass Wasser, Lösemittel, Sorbentien, anorganische Salze usw. verunreinigt werden.

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

3.2 Wasser, HPLC-Reinheitsgrad

3.3 Acetonitril, HPLC-Reinheitsgrad

3.4 Methanol, HPLC-Reinheitsgrad

3.5 Ammoniumformiat

3.6 Magnesiumsulfat, wasserfrei, gekörnt, z. B. Fluka Nr. 63135

Phthalate dürfen in einem Muffelofen durch Erhitzen auf 550 °C (z. B. über Nacht) entfernt werden.

3.7 Magnesiumsulfat, wasserfrei, Pulver

Phthalate dürfen in einem Muffelofen durch Erhitzen auf 550 °C (z. B. über Nacht) entfernt werden.

3.8 Natriumchlorid

3.9 Dinatriumhydrogencitrat-Sesquihydrat

3.10 Trinatriumcitrat-Dihydrat**3.11 Natriumhydroxid-Lösung**, Stoffmengenkonzentration $c = 5 \text{ mol/l}$

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

3.12 Puffersalz-Mischung für die zweite Extraktion und Verteilung:

$4 \text{ g} \pm 0,2 \text{ g}$ wasserfreies Magnesiumsulfat (3.6), $1 \text{ g} \pm 0,05 \text{ g}$ Natriumchlorid, $1 \text{ g} \pm 0,05 \text{ g}$ Trinatriumcitrat-Dihydrat und $0,5 \text{ g} \pm 0,03 \text{ g}$ Dinatriumhydrogencitrat-Sesquihydrat werden in einen Becher (4.11) eingewogen. Diese Mengen beziehen sich auf etwa 10 ml Wasser in der Probe.

Bei stark sauren Proben (mit einem pH-Wert < 3) liegt der nach der Zugabe der Puffersalze erreichte pH-Wert gewöhnlich unterhalb von 5. Zum besseren Schutz von säureempfindlichen Verbindungen kann der pH-Wert durch Zugabe von Natriumhydroxid-Lösung mit 5 mol/l (3.11) erhöht werden: bei Zitronen, Limetten und Johannisbeeren werden 600 μl und bei Himbeeren 200 μl Natriumhydroxid-Lösung direkt zu der Salzmischung gegeben.

ANMERKUNG Es wird angeraten, eine hinreichende Anzahl an Puffersalz-Mischungen im Voraus vorzubereiten, damit die Extraktionsreihe schnell und ohne Unterbrechungen durchgeführt werden kann. Die Herstellung der Salzmischungen kann durch die Anwendung eines Probenteilers (4.12) erheblich erleichtert werden. Die oben angegebenen Salzmengen werden bei Probenmengen verwendet, die etwa 10 g Wasser enthalten.

3.13 Ameisensäure-Lösung in Acetonitril, Volumenanteil $\phi = 5 \text{ ml}$ Ameisensäure/100 ml

0,5 ml Ameisensäure (Massenanteil $w > 95 \%$) werden mit Acetonitril (3.3) auf 10 ml aufgefüllt.

3.14 Sorbens mit primären und sekundären Aminogruppen

Zum Beispiel Bondesil-PSA[®] 40 μm Varian Nr. 12213023¹⁾.

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

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

Andere Sorbentien aus graphitisiertem Kohlenstoff dürfen verwendet werden, es sind jedoch möglicherweise Untersuchungen erforderlich, um die Gleichwertigkeit insbesondere bezüglich Analytverlusten nachzuweisen.

3.16 Sorptionsmischung 1: Mischung aus GCB (3.15) und wasserfreiem Magnesiumsulfat, Pulver (3.7), (1 + 59) Massenanteile.

Die beiden Bestandteile werden intensiv vermischt, um eine optisch homogene Mischung zu erhalten.

3.17 Sorptionsmischung 2: Mischung aus GCB (3.15) und wasserfreiem Magnesiumsulfat, Pulver (3.7), (1 + 19) Massenanteile.

Die beiden Bestandteile werden intensiv vermischt, um eine optisch homogene Mischung zu erhalten.

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

ANMERKUNG Es wird sehr empfohlen, die Sorptionsmischungen 1 (3.16) und 2 (3.17) im Voraus herzustellen und in verschließbaren Gefäßen aufzubewahren. Für die Reinigung des Extraktes nach 5.4.3 werden die vorgemischten Sorptionsmischungen 1 oder 2 in die Zentrifugenröhrchen (4.4) eingewogen.

3.18 C-18-Sorbens Octadecyl-silyl-modifiziertes Kieselgel, loses Material 50 µm

3.19 Lösungen des internen Standards und des Qualitätskontrollstandards in Acetonitril, $\rho = 10 \mu\text{g/ml}$ bis 50 µg/ml

In Tabelle 1 ist eine Reihe möglicher interner Standards (ISTD) und Qualitätskontroll-(QC-)Standards aufgelistet, die in diesem Verfahren angewendet werden dürfen. Die vorgeschlagenen Konzentrationswerte (C_{ISTD}) beziehen sich auf die ISTD-Lösungen, die bei dem ersten Extraktionsschritt (5.2) hinzugefügt werden sollten. Eine geeignete Verdünnung dieser Lösung ($C_{\text{ISTD}}^{\text{cal mix}}$) sollte für die Herstellung der Standardlösungen hergestellt werden. Weitere Einzelheiten siehe unter 3.22.

Tabelle 1 — Mögliche interne Standards (ISTD) oder Qualitätskontroll-(QC-)Standards

Bezeichnung der Verbindung	Log P (Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient)	Chloratome	Vorgeschlagene Konzentration C_{ISTD} [µg/ml] ^a	GC				LC	
				ECD	NPD	MSD EI (+)	MSD CI (–)	MS/MS ESI (+)	MS/MS ESI (–)
Mögliche interne Standards									
PCB 18	5,55	3	50	+++	–	++	+++	–	–
PCB 28	5,62	3	50	+++	–	++	+++	–	–
PCB 52	6,09	4	50	+++	–	++	+++	–	–
Triphenylphosphat	4,59	–	20	–	+++	+++	–	+++	–
Tris-(1,3-dichlorisopropyl)-phosphat	3,65	6	50	+++	+++	+++	+++	+++	+
Triphenylmethan	5,37	–	10	–	–	+++	–	–	–
Bis-nitrophenylharnstoff (Nicarbazin)	3,76	–	10	–	–	–	–	–	+++
Mögliche Qualitätskontrollstandards (dürfen in derselben Mischung enthalten sein wie die anderen verwendeten ISTD oder auf einer anderen Stufe der Analyse hinzugefügt werden, um Fehlerquellen festzustellen und zu lokalisieren)									
PCB 138 ^b	6,83	6	50	+++	–	++	+++	–	–
PCB 153 ^b	7,75	6	50	+++	–	++	+++	–	–
Anthracen (oder dessen d10-Analog) ^c	4,45	–	100	–	–	++	–	–	–
^a Beispielkonzentrationen der ISTD-Lösungen, die zu Untersuchungsproben in 5.2 hinzugefügt werden, wobei als Lösemittel Acetonitril verwendet wird. ^b Die Wiederfindungsraten von PCB 138 und PCB 153 nehmen mit steigender Lipidmenge in der Probe ab; Wiederfindungsraten dieser beiden Verbindungen, die oberhalb von 70 % liegen, weisen darauf hin, dass selbst bei den lipophilsten Pestiziden keine nicht annehmbaren Verluste bei der Verteilung aufgetreten sind. ^c Wiederfindungsraten von Anthracen, die 70 % überschreiten, weisen darauf hin, dass keine nicht annehmbaren Verluste von Pestiziden mit hoher Kohlenstoffaffinität bei der dispersiven SPE mit GCB aufgetreten sind.									

3.20 Pestizid-Stammlösungen

Es werden einzelne Stammlösungen von analytischen Standards mit Konzentrationen hergestellt, die ausreichend sind, um die Herstellung von komplex zusammengesetzten Pestizid-Arbeitslösungen (3.21) zu ermöglichen, die für die Herstellung von Standardlösungen verwendet werden.

In der Regel werden die Stammlösungen bei $\leq -18\text{ °C}$ gelagert. Die Stabilität der Stammlösungen wird während der Lagerung regelmäßig kontrolliert [2]. In einigen Fällen kann die Zugabe von Säuren oder Basen hilfreich für eine erhöhte Stabilität sein und die zulässige Lagerdauer verlängern. Vor der Entnahme eines Aliquots werden alle evtl. entstandenen Ausfällungen gelöst.

3.21 Pestizid-Arbeitslösungen

Wegen der ausgedehnten Anwendbarkeit dieses Verfahrens und infolge der zum Teil abweichenden pH-Stabilität der Pestizide können Arbeitslösungen benötigt werden, die ein oder mehrere Pestizide enthalten, um das Gesamtspektrum der zu untersuchenden Pestizide abzudecken. Diese werden durch Zusammenmischen definierter Volumina der erforderlichen Pestizid-Stammlösungen (3.20) und entsprechende Verdünnung dieser mit Acetonitril hergestellt. Die Pestizidkonzentrationen in diesen Mischungen sollten ausreichend sein, um die Herstellung der erforderlichen matrix-angepassten Standards (siehe 3.22.2) mit einer nicht allzu starken Verdünnung des Extrakts der Blindwertprobe (z. B. weniger als 20 %) zu ermöglichen.

In der Regel werden die Pestizid-Arbeitslösungen bei $\leq -18\text{ °C}$ gelagert. Die Stabilität der Pestizide in diesen Mischungen wird während der Lagerung regelmäßig kontrolliert [2]. In einigen Fällen kann die Zugabe von Säuren oder Basen hilfreich für eine erhöhte Stabilität sein und die zulässige Lagerdauer verlängern.

3.22 Standardlösungen (Kalibriermischungen)

3.22.1 Standards hergestellt in reinen Lösemitteln (Standards in Lösemitteln)

Standards in Lösemitteln werden durch Mischen von bekannten Volumina der Pestizid-Arbeitslösungen ($V_{\text{pest}}^{\text{cal mix}}$, siehe 3.21) und der ISTD-Lösung ($V_{\text{ISTD}}^{\text{cal mix}}$, siehe 3.19) und Auffüllen mit Acetonitril hergestellt.

Das zu verwendende Volumen an ISTD-Lösung ($V_{\text{ISTD}}^{\text{cal mix}}$) hängt vom Volumen der herzustellenden Standardlösung ($V^{\text{cal mix}}$) ab und sollte sicherstellen, dass eine ISTD-Konzentration erreicht wird, die der Konzentration in den Probenmesslösungen (5.3, 5.4) ähnlich ist.

BEISPIEL Wenn 1 ml Standard in Lösemittel hergestellt wird, sollte das hinzuzufügende Volumen an ISTD-Lösung eine Masse an ISTD ($m_{\text{ISTD}}^{\text{cal mix}} = C_{\text{ISTD}}^{\text{cal mix}} \times V_{\text{ISTD}}^{\text{cal mix}}$) enthalten, die ein Zehntel der Masse des ISTD beträgt, die den Einwaagen in 5.2.3 zugegeben wird (diese werden mit 10 ml Acetonitril versetzt). Es ist somit angezeigt, die Konzentration der Lösung des internen Standards auf geeignete Weise zu verdünnen (in diesem Fall $C_{\text{ISTD}}^{\text{cal mix}} = 0,1 \times C_{\text{ISTD}}$). Anschließend kann das gleiche Pipettenvolumen zum Aufstocken der Untersuchungsproben mit ISTD und zur Herstellung der Standardlösungen verwendet werden. In Tabelle 2 sind Beispiele für das Verhältnis der ISTD-Massenanteile angeführt, die zu den Untersuchungsproben (5.2.3) und den Standardlösungen (3.22) hinzugefügt werden sollten.

Die Herstellung von multiplen Standardlösungen, die einen breiten Konzentrationsbereich umfassen, ermöglicht die Erstellung einer Kalibrierkurve (siehe 6.2).

ANMERKUNG Eine Pestizidkonzentration von 1 µg/ml entspricht einer Rückstandskonzentration von 1 mg/kg, wenn 10 g Probe verwendet wurden (z. B. Proben mit einem Wassergehalt > 30 %) oder 2 mg/kg, wenn 5 g Probe verwendet wurden (z. B. Getreide).