

© DIN Deutsches Institut für Normung e.V. · Jede Art der Vervielfältigung, auch auszugsweise,
nur mit Genehmigung des DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin, gestattet.
Alleinverkauf der Normen durch Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin

– Leerseite –

Deutsche Fassung

Lebensmittel

Bestimmung von Vitamin A mit Hochleistungs-Flüssigchromatographie

Teil 2: Bestimmung von β -Carotin

Foodstuffs – Determination of vitamin A by high performance liquid chromatography – Part 2: Measurement of β -carotene

Produits alimentaires – Dosage de la vitamine A par chromatographie liquide haute performance – Partie 2: Dosage du β -carotène

Diese Europäische Norm wurde von CEN am 2. Januar 2000 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 Zentralsekretariat 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, Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Luxemburg, Niederlande, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden, Schweiz, Spanien, der Tschechischen Republik und dem Vereinigten Königreich.

CEN

EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG

European Committee for Standardization

Comité Européen de Normalisation

Zentralsekretariat: rue de Stassart 36, B-1050 Brüssel

Inhalt

	Seite
Vorwort	2
Einleitung	2
1 Anwendungsbereich	2
2 Normative Verweisungen	2
3 Prinzip	3
4 Chemikalien	3
5 Geräte	4
6 Probenahme	5
7 Durchführung	5
8 Berechnung	7
9 Präzision	7
10 Untersuchungsbericht	8
Anhang A (informativ) Beispiel für ein HPLC-Chromatogramm	8
Anhang B (informativ) Präzisionsdaten	9
Anhang C (informativ) Alternative HPLC-Systeme	11
Literaturhinweise	12

Vorwort

Diese Europäische Norm wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik – Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN geführt wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis August 2000, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis August 2000 zurückgezogen werden.

Entsprechend der CEN/CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen:

Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Luxemburg, Niederlande, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden, Schweiz, Spanien, die Tschechische Republik und das Vereinigte Königreich.

Diese Europäische Norm EN 12823 *Lebensmittel – Bestimmung von Vitamin A mit Hochleistungs-Flüssigchromatographie* besteht aus zwei Teilen:

Teil 1: *Bestimmung von all-trans-Retinol and 13-cis-Retinol.*

Teil 2: *Bestimmung von β -Carotin.*

Diese Europäische Norm ist die Grundlage für Analyseverfahren. Es ist vorgesehen, dass der Analytiker anhand dieser Rahmenbedingungen seine eigene Untersuchungsweise wählt, die in Übereinstimmung mit dieser standardisierten Vorgehensweise ist.

Einleitung

Da diese Europäische Norm die Bestimmung von Gesamt- β -Carotin in Lebensmitteln behandelt, wird auf die Literatur zur Berechnung und zur Angabe des β -Carotins als Vitamin A-Äquivalent verwiesen [1], [2].

Die Vitamin A-Aktivität kann aus den β -Carotin-Werten mit geeigneten Faktoren berechnet werden.

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm legt ein Verfahren zur Bestimmung von Gesamt- β -Carotin in Lebensmitteln mit Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC) fest.

2 Normative Verweisungen

Diese Europäische Norm enthält durch datierte oder undatierte Verweisungen Festlegungen aus anderen Publikationen. Diese normativen Verweisungen sind an den jeweiligen Stellen im Text zitiert, und die Publikationen sind nachstehend aufgeführt. Bei datierten Verweisungen gehören spätere Änderungen oder Überarbeitungen dieser Publikationen nur zu dieser Europäischen Norm, falls sie durch Änderung oder Überarbeitung eingearbeitet sind. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe der in Bezug genommenen Publikation (einschließlich Änderungen).

EN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke – Anforderungen und Prüfungen* (ISO 3696 : 1987).
EN ISO 5555, *Tierische und pflanzliche Fette und Öle – Probenahme* (ISO 5555 : 1991).
EN 12823-1 : 2000, *Lebensmittel – Bestimmung von Vitamin A mit Hochleistungs-Flüssigchromatographie – Bestimmung von all-trans-Retinol und 13-cis-Retinol*.

3 Prinzip

β -Carotin-Isomere werden in einer geeigneten Probenlösung durch HPLC getrennt und spektralphotometrisch im sichtbaren Bereich detektiert. Der nach Verseifung gewonnene Extrakt, wie in EN 12823-1 beschrieben, darf für die Bestimmung verwendet werden. β -Carotin wird anhand der Retentionszeiten identifiziert und mit externem Standard über die Peakflächen bzw. Peakhöhen bestimmt, siehe [3] bis [7].

Ebenso darf die Auswertung mit innerem Standard erfolgen, wenn die entsprechenden Wiederfindungsversuche das gleiche Verhalten des inneren Standards und des Analyten während der Analyse bewiesen haben.

4 Chemikalien

Falls nicht anders angegeben, werden bei der Analyse nur Chemikalien von bekannter analytischer Reinheit und Wasser von mindestens Qualität 1 nach EN ISO 3696 verwendet.

4.1 Methanol

4.2 Ethanol abs., Volumenanteil φ (C_2H_5OH) = 100 %

4.3 Ethanol, φ (C_2H_5OH) = 96 %

4.4 Natriumsulfat, wasserfrei

4.5 KOH-Lösungen für die Verseifung, in geeigneten Konzentrationen, z. B. ρ (KOH) = 50 g/100 ml oder 60 g/100 ml, oder alkoholische Lösungen, z. B. 28 g KOH in 100 ml einer Ethanol/Wasser-Mischung (9 + 1)(V + V).

4.6 Antioxidantien, wie Ascorbinsäure (AS) oder Natriumascorbat, Natriumsulfid (Na_2S), Butylhydroxytoluol (BHT), Pyrogallol und Hydrochinon.

4.7 Lösemittel und Extraktionsmittel, wie Acetonitril, Diethylether (peroxidfrei), Diisopropylether, Petroleumbenzin (Siedebereich 40 °C bis 60 °C), *n*-Hexan, Dichlormethan, Tetrahydrofuran, Toluol oder geeignete Mischungen davon.

4.8 methanolische Ammoniumacetat-Lösung, c ($CH_3CO_2NH_4$) = 0,05 mol/l

4.9 Triethylamin

4.10 Mobile Phasen für die HPLC, beispielsweise Acetonitril (4.7) + methanolische Ammoniumacetat-Lösung (4.8) + Dichlormethan (4.7) (75 + 20 + 5) (Volumenteile) mit einem Zusatz von 0,1 Massenprozent Butylhydroxytoluol (4.6) und 0,05 Massenprozent Triethylamin (4.9). Zu den mobilen Phasen alternativer HPLC-Systeme siehe Anhang C.

4.11 Standardsubstanzen

4.11.1 Allgemeines

β -Carotin und α -Carotin sind von verschiedenen Lieferanten erhältlich, z. B. Sigma¹⁾. Die Reinheit der Standardsubstanzen kann zwischen 90 % und 100 % schwanken. Es ist deshalb erforderlich, die Konzentration der Kalibrierlösung spektralphotometrisch zu bestimmen (siehe Prüfung auf Konzentration und Reinheit, 4.12.2).

4.11.2 β -Carotin, M ($C_{40}H_{56}$) = 536,85 g/mol, mit einem bekannten Massenanteil von mindestens 95 %.

4.11.3 α -Carotin, M ($C_{40}H_{56}$) = 536,85 g/mol für qualitative Analysen.

4.11.4 Lycopin, M ($C_{40}H_{56}$) = 536,85 g/mol für qualitative Analysen.

¹⁾ Diese Information dient lediglich zur Unterrichtung der Anwender dieser Europäischen Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Lieferanten durch CEN. Gleichartige Produkte können verwendet werden, wenn sie nachweislich zu den gleichen Ergebnissen führen.