

	Lebensmittel Bestimmung von Fumonisin B₁ und B₂ in Mais HPLC-Verfahren mit Reinigung durch Festphasenextraktion Deutsche Fassung EN 13585:2001	DIN EN 13585
ICS 67.060 Foodstuffs — Determination of fumonisins B₁ and B₂ in maize — HPLC method with solid phase extraction clean-up; German version EN 13585:2001 Produits alimentaires — Dosage des fumonisines B₁ et B₂ dans le maïs — Méthode CLHP avec purification par extraction en phase solide; Version allemande EN 13585:2001 Die Europäische Norm EN 13585:2001 hat den Status einer Deutschen Norm. Nationales Vorwort Diese Europäische Norm ist vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ (Sekretariat: DIN) unter intensiver deutscher Mitarbeit erarbeitet worden. Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss „Biotoxine“ des Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V. Für die im Abschnitt 2 zitierte Internationale Norm wird im Folgenden auf die entsprechende Deutsche Norm hingewiesen: ISO 3696 siehe DIN ISO 3696 Nationaler Anhang NA Literaturhinweise DIN ISO 3696, <i>Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen; (Identisch mit ISO 3696:1987).</i> Fortsetzung 15 Seiten EN Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V.		
 Documents Document Sharing Hub		

— Leerseite —

Deutsche Fassung

Lebensmittel
Bestimmung von Fumonisin B₁ und B₂ in Mais
HPLC-Verfahren mit Reinigung durch Festphasenextraktion

Foodstuffs —
Determination of fumonisins B₁ and B₂ in maize —
HPLC method with solid phase extraction clean-up

Produits alimentaires —
Dosage des fumonisines B₁ et B₂ dans le maïs —
Méthode CLHP avec purification par extraction en phase
solide

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 2. November 2001 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 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, Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Luxemburg, Niederlande, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden, Schweiz, Spanien, der Tschechischen Republik und dem Vereinigten Königreich.



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

Management-Zentrum: rue de Stassart, 36 B-1050 Brüssel

Inhalt

	Seite
Vorwort	2
1 Anwendungsbereich	3
2 Normative Verweisungen	3
3 Kurzbeschreibung	3
4 Chemikalien	3
5 Geräte	5
6 Probenahme	6
7 Probenvorbereitung	6
8 Durchführung	6
9 Berechnung	7
10 Präzision	8
11 Untersuchungsbericht	9
Anhang A (informativ) Typisches Chromatogramm	10
Anhang B (informativ) Wiederfindung und relative Standardabweichung	11
Anhang C (informativ) Präzisionsdaten	12
Literaturhinweise	15

Vorwort

Diese Europäische Norm 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 Juni 2002, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Juni 2002 zurückgezogen werden.

Die Anhänge A, B und C sind informativ.

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.

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm legt ein hochleistungs-flüssigchromatographisches (HPLC)-Verfahren für die Bestimmung von Fumonisin B₁ (FB₁) und Fumonisin B₂ (FB₂) in Mais fest.

Das Verfahren wurde erfolgreich in einem Ringversuch nach den „AOAC-Guidelines for Collaborative Studies“ [1] an Mais, der 405 µg/kg bis 6 732 µg/kg Fumonisin B₁ und 152 µg/kg bis 2619 µg/kg Fumonisin B₂ enthält, validiert. Das Verfahren ist gut auf Mais oder minimal verarbeiteten Mais (z. B. frisch, getrocknet und gemahlen) anwendbar, es liefert aber keine verlässlichen Ergebnisse für die meisten verarbeiteten (prozessierten) Maisprodukte.

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)*.

3 Kurzbeschreibung

Die Fumonisine werden aus der Maisprobe mit einem Gemisch aus Methanol und Wasser extrahiert. Der filtrierte Extrakt wird auf einer stark Anionen austauschenden (strong-anion-exchange, SAX) Festphasenextraktionssäule (solid-phase extraction, SPE) gereinigt, und die Fumonisine werden mit einem Gemisch aus Eisessig und Methanol eluiert, das dann durch Verdampfen entfernt wird. Der Rückstand wird in Methanol gelöst und mit o-Phthalaldehyd/2-Mercaptoethanol (OPA/MCE) versetzt, wodurch sich fluoreszierende Fumonisin-derivate bilden. Die Derivate werden mit Umkehrphasen-Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC) mit Fluoreszenz-Detektion untersucht.

WARNUNG — Fumonisine sind für Ratten und Mäuse hepatotoxisch, nephrotoxisch und karzinogen. Die Wirkungen beim Menschen sind nicht vollständig bekannt. Bei der Behandlung von Fumonisinen müssen geeignete Sicherheitsmaßnahmen angewendet werden. Alle Flächen im Laboratorium, wo derartige Flüssigkeiten verschüttet wurden, sollten mit einer 5 %igen Natriumhypochlorit-Lösung gereinigt werden.

4 Chemikalien

4.1 Allgemeines

Falls nicht anders angegeben, werden bei der Untersuchung nur analysenreine Chemikalien und destilliertes Wasser oder Wasser der Qualität 1 nach EN ISO 3696 verwendet. Die Lösemittel müssen der für die HPLC erforderlichen Qualität entsprechen.

4.2 Methanol, abs.

4.3 Methanol-Lösung, Volumenanteil $\varphi(\text{CH}_3\text{OH}) = 75 \%$

75 Volumenteile Methanol (4.2) werden mit 25 Volumenteilen Wasser gemischt.

4.4 Acetonitril-Lösung, $\varphi(\text{CH}_3\text{CN}) = 50 \%$

50 Volumenteile Acetonitril werden mit 50 Volumenteilen Wasser gemischt.

4.5 o-Phosphorsäure, $\varphi(\text{H}_3\text{PO}_4) = 85 \%$

4.6 Methanolische Essigsäure-Lösung, $\varphi(\text{CH}_3\text{COOH}) = 1 \%$, zum Eluieren der SPE Säule

1 Volumenteil Eisessig wird mit 99 Volumenteilen Methanol (4.2) gemischt.

4.7 o-Phthaldialdehyd (OPA)

4.8 2-Mercaptoethanol (MCE)

4.9 Natriumdihydrogenphosphat-Lösung, Stoffmengenkonzentration $c(\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}) = 0,1 \text{ mol/l}$

15,6 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ werden in 1 l Wasser gelöst.

4.10 Dinatriumtetraborat-Lösung, $c(\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}) = 0,1 \text{ mol/l}$

3,8 g $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ werden in 100 ml Wasser gelöst.

4.11 Natriumhydroxid-Lösung, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$

0,4 g NaOH werden in 100 ml Wasser gelöst.

4.12 Mobile Phase

77 Volumenanteile Methanol (4.2) werden mit 23 Volumenanteilen Natriumdihydrogenphosphat-Lösung (4.9) gemischt. Der pH-Wert wird auf 3,35 mit o-Phosphorsäure (4.5) eingestellt. Die Lösung wird durch einen 0,45 μm Membranfilter (5.7) filtriert.

Es kann erforderlich sein, die Zusammensetzung der mobilen Phase entsprechend den Merkmalen der verwendeten HPLC-Säule anzupassen.

4.13 Derivatisierungsreagenz

40 mg o-Phthaldialdehyd (4.7) werden in 1 ml Methanol (4.2) gelöst und mit 5 ml Dinatriumtetraborat-Lösung (4.10) versetzt. Nach Zusatz von 50 μl 2-Mercaptoethanol (4.8) wird durchmischt. Die Reagenzlösung ist in einer verschlossenen Flasche aus Braunglas bei Raumtemperatur gelagert bis zu einer Woche haltbar.

4.14 FB₁ und FB₂-Standardlösung

Eine Stammlösung von FB₁ und eine Stammlösung von FB₂ mit Massenkonzentrationen von 250 $\mu\text{g/ml}$ in Acetonitril-Lösung (4.4) wird hergestellt. Kommerziell erhältliche Standardlösungen dürfen verwendet werden. Jeweils 100 μl der beiden Stammlösungen werden in ein Probengefäß aus Glas pipettiert und mit 300 μl Acetonitril-Lösung verdünnt, was 500 μl Standardlösung einer Massenkonzentration von 50 $\mu\text{g/ml}$ ergibt. Wenn eine Kalibrierkurve erstellt wird, werden verschiedene Anteile dieser jeweiligen Standardlösungen (z. B. 20 μl , 50 μl , 100 μl , und 200 μl) mit Acetonitril-Lösung auf 500 μl aufgefüllt, um geeignete Kalibrierlösungen zu erhalten.

Die Fumonisin-Standardlösungen sind bis zu sechs Monaten bei Lagerung bei etwa 4 °C stabil.