

DIN EN 15891

ICS 67.060; 67.230

Lebensmittel –**Bestimmung von Deoxynivalenol in Getreide, Getreideerzeugnissen und Säuglings- und Kleinkindernahrung auf Getreidebasis –
HPLC-Verfahren mit Reinigung an einer Immunoaffinitätssäule und UV-Detektion;
Deutsche Fassung EN 15891:2010****Foodstuffs –**

Determination of deoxynivalenol in cereals, cereal products and cereal based foods for infants and young children –
HPLC method with immunoaffinity column cleanup and UV detection;
German version EN 15891:2010

Denrées alimentaires –

Dosage du déoxynivalénol dans les céréales, les produits céréaliers, et céréales pour déjeuner en alimentation infantile –
Méthode par CLHP avec purification sur colonne d'immunoaffinité et détection UV;
Version allemande EN 15891:2010

Gesamtumfang 22 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN 15891:2010) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ (Sekretariat: DIN, Deutschland) des Europäischen Komitees für Normung (CEN) nach eingehenden Vorarbeiten der Arbeitsgruppe 5 „Biotoxine“ erarbeitet worden.

Das zuständige deutsche Arbeitsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-01-03 AA „Biotoxine“ des Normenausschusses „Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte“ (NAL) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V.

Mykotoxine sind stark gesundheitsschädliche sekundäre Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen. Lebensmittel, die unter feuchten Bedingungen angebaut, geerntet oder gelagert werden, können von Schimmelpilzen befallen werden, deren Stoffwechselprodukte dann in das Lebensmittel gelangen. Die Toxizität einiger Mykotoxine ist für den Menschen erheblich; deshalb ist ein sicherer Nachweis von besonderer Bedeutung für den gesundheitlichen Verbraucherschutz. In Deutschland gilt zur Verringerung der Mykotoxinbelastung die Mykotoxin-Höchstmengenverordnung. Sie enthält seit 2004 nicht nur Regelungen für Aflatoxine, sondern auch für Ochratoxin A, Fumonisine, Deoxynivalenol und Zearalenon. Seit 2001 werden die nationalen Bestimmungen durch EU-weit geltende Höchstgehaltregelungen für Kontaminanten in Lebensmitteln ergänzt. Höchstgehalte an Mykotoxinen in bestimmten Lebensmitteln werden außerdem noch durch verschiedene andere Verordnungen geregelt.

Für die in diesem Dokument zitierten Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

EN ISO 3696 siehe DIN ISO 3696

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen*

Deutsche Fassung

Lebensmittel —
Bestimmung von Deoxynivalenol in Getreide,
Getreideerzeugnissen und Säuglings- und Kleinkindernahrung
auf Getreidebasis —
HPLC-Verfahren mit Reinigung an einer Immunoaffinitätssäule
und UV-Detektion

Foodstuffs —
Determination of deoxynivalenol in cereals, cereal products
and cereal based foods for infants and young children —
HPLC method with immunoaffinity column cleanup
and UV detection

Denrées alimentaires —
Dosage du déoxynivalénol dans les céréales, les produits
céréaliés, et céréales pour déjeuner en alimentation infantile —
Méthode par CLHP avec purification sur colonne
d'immunoaffinité et détection UV

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 28. August 2010 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 Management-Zentrum 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, Kroatien, 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 Normative Verweisungen	4
3 Kurzbeschreibung	4
4 Chemikalien	4
5 Geräte	7
6 Durchführung	8
7 HPLC-Analyse	10
8 Berechnung	12
9 Präzision	13
10 Untersuchungsbericht	15
Anhang A (informativ) Typisches Chromatogramm	16
Anhang B (informativ) Präzisionsdaten	17
Literaturhinweise	20

Vorwort

Dieses Dokument (EN 15891:2010) 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 März 2011, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis März 2011 zurückgezogen werden.

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

Die Anhänge A und B sind informativ.

Dieses Dokument wurde unter einem Mandat erarbeitet, das die Europäische Kommission und die Europäische Freihandelszone dem CEN erteilt haben.

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, Kroatien, 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 legt ein Verfahren zur Bestimmung von Deoxynivalenol (DON) in Getreide (Korn und Mehl), Getreideerzeugnissen und Säuglings- und Kleinkindernahrung auf Getreidebasis durch Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) mit Reinigung an einer Immunoaffinitätssäule und UV-Detektion fest. Dieses Verfahren wurde in drei Ringversuchen getestet. Der erste Ringversuch wurde an Weizen, Reismehl, Hafermehl, Mais, Maisgrieß und Frühstückscerealien auf Weizenbasis mit 85,4 µg/kg bis 1 768 µg/kg durchgeführt. Der zweite Ringversuch wurde an Weizen und Mais mit 165 µg/kg bis 4 700 µg/kg und der dritte Ringversuch wurde mit Säuglings- und Kleinkindernahrung auf Getreidebasis mit 58 µg/kg bis 452 µg/kg durchgeführt.

Weitere Informationen zu Validierungsdaten siehe Abschnitt 9 und Anhang B.

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.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. 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).

EN ISO 3696:1995, *Wasser für analytische Laborzwecke — Spezifikation und Prüfverfahren (ISO 3696:1987)*

3 Kurzbeschreibung

Deoxynivalenol wird mit Wasser aus der Probe extrahiert. Der wässrige Extrakt wird an einer Immunoaffinitätssäule gereinigt, um Verunreinigungen aus der Probe zu entfernen. Danach wird Deoxynivalenol durch HPLC und UV-Detektion quantitativ bestimmt.

4 Chemikalien

4.1 Allgemeines

Falls nicht anders festgelegt, werden nur Chemikalien von anerkannter Analysenreinheit und Wasser der Qualität 1 nach EN ISO 3696:1995 verwendet. Die Lösemittel müssen von für die HPLC-Analyse geeignetem Reinheitsgrad sein. Handelsübliche Lösungen mit gleichwertigen Eigenschaften wie die aufgeführten Chemikalien dürfen verwendet werden.

4.2 Dinatriumhydrogenphosphat, wasserfrei oder $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$

4.3 Kaliumchlorid, KCl

4.4 Kaliumdihydrogenphosphat, KH_2PO_4

4.5 Natriumchlorid, NaCl

4.6 Natriumhydroxid, NaOH

4.7 Salzsäure-Lösung, Massenanteil $w(\text{HCl}) = 37 \%$ in Wasser

4.8 Salzsäure-Lösung, Stoffmengenkonzentration $c(\text{HCl}) = 0,1 \text{ mol/l}$

8,28 ml Salzsäure-Lösung (4.7) werden mit Wasser auf 1 l aufgefüllt.

4.9 Natriumhydroxidlösung, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$

4 g Natriumhydroxid (4.6) werden in Wasser gelöst und mit Wasser auf 1 l aufgefüllt.

4.10 Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS-Puffer), $c(\text{NaCl}) = 120 \text{ mmol/l}$, $c(\text{KCl}) = 2,7 \text{ mmol/l}$, $c(\text{Phosphatpuffer}) = 10 \text{ mmol/l}$, $\text{pH} = 7,4$

8,0 g Natriumchlorid (4.5), 1,2 g wasserfreies Dinatriumhydrogenphosphat oder 2,9 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{ H}_2\text{O}$ (4.2), 0,2 g Kaliumdihydrogenphosphat (4.4) und 0,2 g Kaliumchlorid (4.3) werden in 900 ml Wasser gelöst.

Nach dem Lösen wird der pH-Wert mit Salzsäure-Lösung (4.8) bzw. Natriumhydroxid-Lösung (4.9) auf $\text{pH} = 7,4$ eingestellt, und anschließend wird die Lösung mit Wasser auf 1 l verdünnt. Alternativ kann aus handelsüblichen PBS-Tabletten eine PBS-Lösung mit gleichwertigen Eigenschaften hergestellt werden.

4.11 Acetonitril

WARNUNG — Acetonitril ist ein Gefahrstoff und Proben müssen mit einem in einem Laborabzug befindlichen explosionsgeschützten Mixgerät gemischt werden. Nach dem Mischen müssen die Proben im Laborabzug filtriert werden.

4.12 Polyethylenglykol (PEG), mit einer Molekülmasse von etwa 8 000 g/mol

4.13 Methanol

4.14 Essigsäure, mit einem Massenanteil von 96 % oder Eisessig, mit einem Massenanteil von 100 %

4.15 Verdünnungsmittel für HPLC-Analyse

9,5 Volumenteile Methanol (4.13) werden mit 90,5 Volumenteilen Wasser gemischt.

4.16 Mobile Phase für HPLC

15 Volumenteile Methanol (4.13) werden mit 85 Volumenteilen Wasser und 0,1 Volumenteil Essigsäure (4.14) gemischt. Die genaue Menge an Methanol und die Verwendung von Essigsäure hängen von der für die Analyse gewählten HPLC-Säule ab und müssen erforderlichenfalls angepasst werden. Diese Lösung wird vor dem Gebrauch entgast.

4.17 Waschlösung

50 Volumenteile Methanol (4.13) werden mit 50 Volumenteilen Wasser gemischt.

4.18 Immunoaffinitätssäule (IA)

Die Immunoaffinitätssäule muss Antikörper gegen Deoxynivalenol enthalten. Die Kapazität der Säule darf nicht geringer als 1 000 ng Deoxynivalenol sein und die Wiederfindung darf nicht geringer als 80 % sein, wenn 500 ng Deoxynivalenol in 1 ml bis 2 ml Wasser aufgegeben werden.