DEUTSCHE NORM Oktober 2014

DIN EN ISO 12228-1

ICS 67.200.10

Teilweiser Ersatz für
DIN EN ISO 12228:1999-05

Bestimmung der individuellen und der Gesamtsterine – Gaschromatographisches Verfahren – Teil 1: Tierische und pflanzliche Fette und Öle (ISO 12228-1:2014); Deutsche Fassung EN ISO 12228-1:2014

Determination of individual and total sterols contents –
Gas chromatographic method –
Part 1: Animal and vegetable fats and oils (ISO 12228-1:2014);
German version EN ISO 12228-1:2014

Détermination de la teneur en stérols individuels et totaux –
Méthode par chromatographie en phase gazeuse –
Partie 1: Corps gras d'origines animale et végétale (ISO 12228-1:2014);
Version allemande EN ISO 12228-1:2014

Gesamtumfang 31 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und Landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: DIN EN ISO 12228-1:2014-10

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 12228-1:2014) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ (Sekretariat: AFNOR, Frankreich) in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 307 „Ölsamen, tierische und pflanzliche Fette und Öle und deren Nebenprodukte — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ erarbeitet.

Die Mitarbeit von DIN beim Europäischen Komitee für Normung (CEN) wird für den Bereich des CEN/TC 307 (Sekretariat: AFNOR, Frankreich) über den Arbeitsausschuss NA 057-05-05 AA „Gemeinschaftsausschuss für die Analytik von Fetten, Ölen, Fettprodukten, verwandten Stoffen und Rohstoffen“ (GA Fett) der Deutschen Gesellschaft für Fettwissenschaft (DGF) und des Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) wahrgenommen.

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

ISO 661	siehe	DIN EN SO 661
ISO 3696	siehe	DIN ISO 3696
ISO 5555	siehe	DIN EN ISO 5555
ISO 5725-1	siehe	DIN ISO 5725-1
ISO 5725-2	siehe	DIN ISO 5725-2

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 12228:1999-05 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

a) der Anwendungsbereich im Teil 1 der Internationalen Norm beschränkt sich ausschließlich auf tierische und pflanzliche Fette und Öle. Für die Bestimmung der Gehalte und der Zusammensetzung der Sterine in Oliven und Oliventresteröle muss der Teil 2 dieser Norm angewendet werden;

b) die Präzision des Verfahrens wurde in zwei internationalen Ringversuchen bestimmt, die von Deutschland in den Jahren 2011/2012 und 1996/1997 organisiert wurden. Bei den Proben handelte es sich z. B. um raffiniertes Maiskeimöl, raffiniertes Sonnenblumenkernöl, raffiniertes Distelsamenöl, raffiniertes Rapsöl, RDB Palmöl und Butterfett;

c) Anhang ZA über normative Verweisungen auf internationale Publikationen gestrichen;

d) Norm redaktionell überarbeitet.

Frühere Ausgaben

DIN EN ISO12228: 1999-05

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: DIN EN ISO 12228-1:2014-10

Nationaler Anhang NA
(informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 661, *Tierische und pflanzliche Fette und Öle — Vorbereitung der Untersuchungsprobe*

DIN EN ISO 5555, *Tierische und pflanzliche Fette und Öle — Probenahme*

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

DIN ISO 5725-1, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 1: Allgemeine Grundlagen und Begriffe*

DIN ISO 5725-2, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens*

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: DIN EN ISO 12228-1:2014-10

— Leerseite —

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: DIN EN ISO 12228-1:2014-10

EUROPÄISCHE NORM

EUROPEAN STANDARD

NORME EUROPÉENNE

EN ISO 12228-1

Juli 2014

ICS 67.200.10

Ersatz für EN ISO 12228:1999

Deutsche Fassung

Bestimmung der individuellen und der Gesamtsterine — Gaschromatographisches Verfahren — Teil 1: Tierische und pflanzliche Fette und Öle (ISO 12228-1:2014)

Determination of individual and total sterols contents — Gas chromatographic method — Part 1: Animal and vegetable fats and oils (ISO 12228-1:2014)

Détermination de la teneur en stérols individuels et totaux — Méthode par chromatographie en phase gazeuse — Partie 1: Corps gras d'origines animale et végétale (ISO 12228-1:2014)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 14. Juni 2014 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-CENELEC 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, 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: Avenue Marnix 17, B-1000 Brüssel

© 2014 CEN Alle Rechte der Verwertung, gleich in welcher Form und in welchem Verfahren, sind weltweit den nationalen Mitgliedern von CEN vorbehalten.

Ref. Nr. EN ISO 12228-1:2014 D

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: DIN EN ISO 12228-1:2014-10

Inhalt

Seite

Vorwort 3

1 Anwendungsbereich 4

2 Normative Verweisungen 4

3 Begriffe 4

4 Kurzbeschreibung 4

5 Reagenzien 4

6 Geräte 5

7 Probe 6
7.1 Probenahme 6
7.2 Vorbereitung der Untersuchungsprobe 6

8 Durchführung 6
8.1 Herstellung der Aluminiumoxidsäule 6
8.2 Prüfmenge 6
8.3 Extraktion des Unverseifbaren 7
8.4 Dünnschichtchromatographie 7
8.5 Isolierung der Sterine 7
8.6 Herstellung des Sterintrimethylsilyl-Ether 7
8.7 Gaschromatographie 8

9 Auswertung 8
9.1 Identifizierung der Sterine 8
9.2 Zusammensetzung der Sterine 8
9.3 Bestimmung des Gesamtsteringehaltes 9

10 Präzision 10
10.1 Ringversuch 10
10.2 Wiederholgrenze, r 10
10.3 Vergleichgrenze, R 10

11 Prüfbericht 11

Anhang A (informativ) **Bilder** 12

Anhang B (informativ) **Ringversuch** 19

Literaturhinweise 27

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: DIN EN ISO 12228-1:2014-10

Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 12228-1:2014) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 307 „Ölsamen, tierische und pflanzliche Fette und Öle und deren Nebenprodukte — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom AFNOR gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Januar 2015, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Januar 2015 zurückgezogen werden.

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

Dieses Dokument ersetzt EN ISO 12228:1999.

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, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 12228-1:2014 wurde vom CEN als EN ISO 12228-1:2014 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: DIN EN ISO 12228-1:2014-10

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil von ISO 12228 legt ein Verfahren zur gaschromatographischen Bestimmung des Gehalts an Sterinen und deren Zusammensetzung in tierischen und pflanzlichen Fetten und Ölen fest. Jedoch ist die Bestimmung des Gehalts an Sterinen und deren Zusammensetzung in Oliven- und Oliventresterölen mittels ISO12228-2 vorzunehmen.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, 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).

ISO 661, *Animal and vegetable fats and oils — Preparation of test sample*

ISO 3696, *Water for analytical laboratory use — Specification and test methods*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1
Zusammensetzung der Sterine
Zusammensetzung der einzelnen Sterine in der Probe, beginnend mit Cholesterin und endend mit ∆7-Avenasterin (siehe Tabelle 1), untersucht unter den in diesem Teil der ISO 12228 festgelegten Bedingungen

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Zusammensetzung wird als ein prozentualer Anteil aller Peakflächen, bezogen auf 100 %, angegeben.

3.2
Gesamtsteringehalt
Massenanteil der Summe aller einzelnen Sterine, wie sie nach dem in diesem Teil der ISO 12228 festgelegten Verfahren bestimmt wurden, beginnend mit Cholesterin und endend mit ∆7-Avenasterin (siehe Tabelle 1), dividiert durch die Masse der Prüfmenge

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Gehalt wird in Milligramm je Kilogramm angegeben.

4 Kurzbeschreibung

Eine Prüfmenge wird durch Kochen mit einer ethanolischen Kaliumhydroxidlösung unter Rückfluss verseift. Die unverseifbaren Bestandteile werden durch Festphasenextraktion an einer Aluminiumoxidsäule abgetrennt. Durch die Aluminiumoxidsäule werden die Fettsäureanionen zurückgehalten; Sterine durchlaufen die Säule. Der Sterinanteil wird von den unverseifbaren Bestandteilen durch Dünnschichtchromatographie (TLC, en: thin-layer chromatography) abgetrennt. Die Bestimmung der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung des Sterinanteils erfolgt durch Gaschromatographie unter Verwendung von Cholestanol oder Betulin als interner Standard.

5 Reagenzien

WARNUNG — Die Vorschriften, in denen die Handhabung von Gefahrstoffen festgelegt wird, sind zu beachten. Maßnahmen hinsichtlich der technischen, organisatorischen und persönlichen Sicherheit sind einzuhalten.

Falls nicht anders festgelegt, sind nur Reagenzien von anerkannter Analysenreinheit und Wasser des Reinheitsgrades 3 nach ISO 3696 zu verwenden.

Documents
Document Sharing Hub
Full document details: DIN EN ISO 12228-1:2014-10

5.1 Kaliumhydroxid (KOH), ethanolische Lösung, molare Konzentration c(KOH) ungefähr 0,5 mol/l.

3 g Kaliumhydroxid sind in 5 ml Wasser zu lösen und mit Ethanol (5.3) auf 100 ml aufzufüllen. Die Lösung sollte farblos oder hellgelb sein.

5.2 Interne Standardlösung, Cholestanol (5α-Cholestan-3β-ol) oder Betulin, Volumenanteil von 1,0 mg/ml-Lösung in Ethanol (siehe Anmerkung zu 5.10).

ANMERKUNG Bei hydrierten (gehärteten) Ölen, die Cholestanol enthalten können, empfiehlt sich die Verwendung von Betulin (Peak 17 in Tabelle 1).

5.3 Ethanol, Mindestvolumenanteil $\varphi = 95$ %.

5.4 Aluminiumoxid, neutral, Teilchengröße 0,063 mm bis 0,200 mm, Aktivitätsstufe I (Wassergehalt = 0 %).

5.5 Diethylether, frisch destilliert, frei von Peroxiden und Rückständen.

WARNUNG — Diethylether ist hochentzündlich und kann explosive Peroxide bilden. Die Grenzen der Explosivität in Luft liegen zwischen 1,7 % und 48 % (Volumenanteil). Bei dessen Verwendung sind besondere Vorsichtsmaßnahmen anzuwenden. Diethylether ist von Wärmequellen und Sonnenlicht fernzuhalten.

5.6 Kieselgelbeschichtete Glasplatten für die Dünnschichtchromatographie (TLC, en: thin-layer chromatography)**,** handelsüblich erhältlich, Größe 20 cm × 20 cm, Schichtdicke 0,25 mm.

5.7 Entwickler-(Trenn-)lösemittel, Hexan/Diethylether.

Der Volumenanteil je Lösemittel ist 50 ml/100 ml.

5.8 Standardlösung für die Dünnschichtchromatographie, Volumenanteil von 1,0 mg/ml Cholesterin/Cholestanol in Aceton oder 5,0 mg/ml Betulin in Aceton.

ANMERKUNG 1 Cholesterin und Cholestanol haben den gleichen Rf-Wert (0,35) bei der TLC, während der Rf-Wert für Betulin 0,30 beträgt (siehe Bild A.1).

ANMERKUNG 2 Bei hydrierten (gehärteten) Ölen, die Cholestanol enthalten können, empfiehlt sich die Verwendung von Betulin (Peak 17 in Tabelle 1).

5.9 Sprühmittel, Methanol.

5.10 Silylierungsreagens, hergestellt durch Hinzufügen von 50 µl 1-Methylimidazol zu 1 ml N-Methyl-N-(trimethylsilyl)-Heptafluorobutyramid (MSHFBA).

ANMERKUNG Gebrauchsfertige Lösungen sind handelsüblich verfügbar. Andere Silylierungsreagenzien, z. B. Bis-trimethylsilyl-trifluoracetamid mit 1 % Trimethylchlorsilan, sind ebenfalls verfügbar und können verwendet werden, wenn Cholestanol als interne Standardlösung verwendet wird. Jedoch sind bei Betulin spezielle Vorkehrungen zu treffen, um sicherzustellen, dass beide Hydroxylgruppen des Betulins silyliert werden. Wenn dies nicht der Fall ist, dann kann das Betulin zwei Peaks im Chromatogramm zeigen.

6 Geräte

Übliche Laborgeräte und im Besonderen die folgenden:

6.1 Rundkolben, 25 ml und 50 ml Fassungsvermögen, mit Schliffhals.

6.2 Rückflusskühler, mit Schliffverbindung für einen Kolben (6.1).

6.3 Glassäule, mit Polytetrafluorethylen (PTFE)-Hahn, Glasfritte und Vorratsbehälter für 100 ml, 25 cm Länge, 1,5 cm Innendurchmesser.

6.4 Rotationsverdampfer, angeschlossen an eine Vakuumpumpe und ein auf 40 °C eingestelltes Wasserbad.

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: DIN EN ISO 12228-1:2014-10

6.5 Entwickler-(Trenn-)kammer, aus Glas mit Schliffdeckel, geeignet zur Verwendung von Platten mit den Maßen 20 cm × 20 cm Größe.

6.6 Mikroinjektionsspritze, zum Aufgeben von 100 µl.

6.7 Wärmeschrank, einstellbar auf (105 ± 3) °C.

6.8 Exsikkator, gefüllt mit einem wirksamen Trockenmittel zur Aufbewahrung der Platten.

6.9 Reaktionsgefäße, 0,3 ml bis (1,0 bis 1,5) ml Fassungsvermögen, mit Schraubdeckeln und PTFE-Dichtungen, zur Herstellung von Sterinderivaten.

6.10 Gaschromatograph, für Kapillarsäulen, mit Split-Injektor, Flammenionisationsdetektor und geeigneter Registriereinrichtung.

6.11 Kapillarsäule, aus Quarz oder Glas, 25 m bis 60 m Länge, Innendurchmesser 0,2 mm bis 0,25 mm, stationäre Phase SE-54 (oder gleichwertige nichtpolare Phase mit einer Temperaturgrenze von mindestens 280 °C bis 300 °C), Filmdicke etwa 0,1 µm.

ANMERKUNG Eine bessere Auflösung der Peaks wird bei einer Filmdicke von 0,1 µm erreicht.

6.12 Mikroinjektionsspritze für die Gaschromatographie, für Injektionsvolumen von 1 µl.

6.13 Analysenwaage, geeignet zur Wägung auf 0,001 g und zur Anzeige von 0,000 1 g.

7 Probe

7.1 Probenahme

Die Probenahme ist nicht Bestandteil des in diesem Teil der ISO 12228 festgelegten Verfahrens. Ein empfohlenes Verfahren für die Probenahme ist in ISO 5555 [1] angegeben.

Es ist wichtig, dass das Laboratorium eine Probe erhält, die repräsentativ ist und die während des Transports oder der Lagerung nicht beschädigt oder verändert wurde.

7.2 Vorbereitung der Untersuchungsprobe

Die Untersuchungsprobe wird nach ISO 661 vorbereitet.

8 Durchführung

8.1 Herstellung der Aluminiumoxidsäule

10 g Aluminiumoxid (5.4) sind in 20 ml Ethanol (5.3) zu suspendieren und die Suspension ist in die Glassäule (6.3) zu geben. Nach Absetzen des Aluminiumoxids ist das Lösemittel ablaufen zu lassen, bis dessen Flüssigkeitsspiegel den oberen Rand der Säulenfüllung erreicht hat.

8.2 Prüfmenge

Etwa 250 mg der Untersuchungsprobe sind auf 1 mg in einen 25-ml-Kolben (6.1) einzuwiegen, mit 8.3 ist weiter zu verfahren.

Bei Fetten und Ölen mit einem niedrigen Steringehalt (z. B. weniger als 2 000 mg je Kilogramm) oder aus anderen Gründen, ist mit der dreifachen Menge der Untersuchungsprobe weiter zu verfahren. Die Reagenzien und die Geräte sind dementsprechend anzupassen.

Documents
Document Sharing Hub
Full document details: DIN EN ISO 12228-1:2014-10