

DIN EN ISO 22579



ICS 67.050

**Säuglingsnahrung und Nahrungsergänzungsmittel für Erwachsene –
Bestimmung von Fructanen –
Hochleistungs-Anionenaustausch-Chromatographieverfahren mit
gepulster amperometrischer Detektion (HPAEC-PAD) nach enzymatischer
Behandlung (ISO 22579:2020);
Deutsche Fassung EN ISO 22579:2021**

Infant formula and adult nutritionals –
Determination of fructans –
High performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection
(HPAEC-PAD) after enzymatic treatment (ISO 22579:2020);
German version EN ISO 22579:2021

Préparations pour nourrissons et produits nutritionnels pour adultes –
Dosage des fructanes –
Chromatographie échangeuse d'anions haute performance couplée à la détection par
ampérométrie pulsée (CEAHP-DAP) après traitement enzymatique (ISO 22579:2020);
Version allemande EN ISO 22579:2021

Gesamtumfang 30 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 22579:2021) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 302 „Milch und Milcherzeugnisse – Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NEN (Niederlande) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-05-13 AA „Milch und Milcherzeugnisse – Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

Dieses Dokument enthält eine Nationale Fußnote.

Für die in diesem Dokument zitierten Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 5725-2:2019 siehe DIN ISO 5725-2:—*

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN ISO 5725-2:—*, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für die Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens (ISO 5725-2:2019)*

* Veröffentlichung in Vorbereitung.

Deutsche Fassung

Säuglingsnahrung und Nahrungsergänzungsmittel für
Erwachsene —
Bestimmung von Fructanen —
Hochleistungs-Anionenaustausch-Chromatographieverfahren
mit gepulster amperometrischer Detektion (HPAEC-PAD)
nach enzymatischer Behandlung
(ISO 22579:2020)

Infant formula and adult nutritionals —
Determination of fructans —
High performance anion exchange chromatography
with pulsed amperometric detection (HPAEC-PAD)
after enzymatic treatment
(ISO 22579:2020)

Préparations pour nourrissons et produits
nutritionnels pour adultes —
Dosage des fructanes —
Chromatographie échangeuse d'anions haute
performance couplée à la détection par ampérométrie
pulsée (CEAHP-DAP) après traitement enzymatique
(ISO 22579:2020)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 22. September 2020 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 CEN-CENELEC-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, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, der Republik Nordmazedonien, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, 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: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Vorwort	4
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Kurzbeschreibung	7
5 Chemikalien und Reagenzien	7
5.1 Liste der Chemikalien und Reagenzien	7
5.2 Vorbereitung der Reagenzien	8
5.3 Vorbereitung der mobilen Phasen mit Säule A (6.13.1) oder Gleichwertigem	10
5.4 Vorbereitung der mobilen Phasen mit Säulen B (6.13.2) oder Gleichwertigem	11
5.5 Vorbereitung der Standardlösungen	12
6 Geräte	12
7 Durchführung	13
7.1 Probenvorbereitung	13
7.1.1 Pulverförmige oder konzentrierte Erzeugnisse auf Basis von Fertignahrung (RTF) und Pulvererzeugnisse, die auf Subgramm-Ebene inhomogen sind	13
7.1.2 Rekonstituierte Erzeugnisse, wie in 7.1.1 vorbereitet oder als RTF verkaufte Erzeugnisse	14
7.1.3 Homogene pulverförmige Erzeugnisse ohne vorherige Rekonstituierung	14
7.1.4 Verdünnung	14
7.1.5 Hydrolyse von Saccharose und α -Glucanen	14
7.1.6 Carrez-Klärung (optional, Anwendung bei Schwierigkeiten beim Durchleiten der Probe durch die SPE)	14
7.1.7 Entfernung von Monosacchariden	15
7.1.8 Hydrolyse von Fructanen	15
7.2 Chromatographische Bedingungen bei der Verwendung von Säule A (6.13.1)	15
7.3 Chromatographische Bedingungen bei der Verwendung von Säulen B (6.13.2)	16
7.4 Systemeignungsprüfung	17
7.5 Kalibrierung	17
8 Berechnung	18
9 Angabe der Ergebnisse	19
10 Präzisionsdaten	20
10.1 Allgemeines	20
10.2 Wiederholpräzision	20
10.3 Vergleichspräzision	20
11 Untersuchungsbericht	21
Anhang A (informativ) Beispiel-Chromatogramme und Kalibrierkurven	22
Anhang B (informativ) Präzisionsdaten	24
Anhang C (informativ) Überprüfung des Untersuchungs-Enzymgemischs aus Sucrase, β -Amylase, Pullulanase und Maltase	25
Literaturhinweise	28

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 22579:2021) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 302 „Milch und Milcherzeugnisse – Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NEN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis August 2021, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis August 2021 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die Republik Nordmazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 22579:2020 wurde von CEN als EN ISO 22579:2021 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34, *Food products*, Unterkomitee SC 5, *Milk and milk products*, und der International Dairy Federation (IDF) in Zusammenarbeit mit AOAC INTERNATIONAL und in Zusammenarbeit mit dem Europäischen Komitee für Normung (CEN), Technisches Komitee CEN/TC 302, *Milch und Milcherzeugnisse – Probenahme- und Untersuchungsverfahren*, in Übereinstimmung mit der Vereinbarung zur technischen Zusammenarbeit zwischen ISO und CEN (Wiener Vereinbarung) erarbeitet. Es wird von ISO und IDF gemeinsam und gesondert durch AOAC INTERNATIONAL veröffentlicht. Das in diesem Dokument beschriebene Verfahren ist dem amtlichen Verfahren der AOAC „Official Method 2016.14: *Fructans in Infant Formula and Adult Nutrition*“ gleichwertig.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden.

IDF (International Dairy Federation) ist eine private, gemeinnützige Organisation, welche auf globaler Ebene die Interessen verschiedener interessierter Parteien der Milchwirtschaft vertritt. Die Mitglieder der IDF sind in nationalen Komitees organisiert, bei denen es sich um nationale Vereinigungen von Vertretern der in der Milchwirtschaft tätigen nationalen Interessensgruppen, einschließlich Milchbauern, die milchverarbeitende Industrie, Lieferanten von Molkereierzeugnissen, Wissenschaftler und Regierungsstellen sowie Lebensmittelüberwachungsbehörden, handelt.

ISO und IDF arbeiten in allen Belangen der Normung von Probenahme- und Analyseverfahren bei Milch und Milcherzeugnissen eng zusammen. Seit 2001 veröffentlichen ISO und IDF ihre Internationalen Normen gemeinsam. Dabei verwenden sie die Logos und Verweisnummern beider Organisationen.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. IDF ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Dieses Dokument wurde von dem IDF *Standing Committee on Analytical Methods for Composition* und vom Technischen Komitee ISO/TC 34, *Food products*, Unterkomitee SC 5, *Milk and milk products*, erarbeitet. Es wird von ISO und IDF gemeinsam veröffentlicht.

Die Arbeiten wurden vom IDF/ISO Action Team C41 des *Standing Committee on Analytical Methods for Composition* unter Federführung seines Projektleiters, Herrn S. Austin (CH) durchgeführt.

1 Anwendungsbereich

WARNUNG — Das in diesem Dokument beschriebene Verfahren verwendet ätzende (Natriumhydroxid, Essigsäure) und giftige (Natriumazid) Chemikalien. Es sind die Sicherheitsdatenblätter zu beachten und entsprechende zusätzliche Sicherheitsvorkehrungen für die Handhabung und Entsorgung zu treffen.

Dieses Dokument legt ein Verfahren zur Bestimmung von Fructanen des Inulintyps (einschließlich Oligofruktose, Fruktooligosaccharide) in Säuglingsnahrung und Nahrungsergänzungsmitteln für Erwachsene (sowohl Pulver als auch Flüssigkeit) fest, die 0,03 g/100 g bis 5,0 g/100 g Fructane in dem verzehrfertigen Enderzeugnis enthalten.

Das Verfahren wurde in einer Multi-Laborstudie [1] mit rekonstituiertem Standardreferenzmaterial (SRM) für Säuglingsnahrung/Nahrungsergänzungsmittel für Erwachsene mit einem Gehalt von 0,204 g/100 g, Nahrungsergänzungsmittel für Erwachsene als Fertignahrung (RTF, en: ready-to-feed) mit Gehalten von 1,28 g/100 g und 2,67 g/100 g, Säuglingsnahrung als Fertignahrung mit einem Gehalt von 0,300 g/100 g, rekonstituierte Folgenahrung im Bereich von 0,209 g/100 g bis 0,275 g/100 g, rekonstituierte Säuglingsnahrung im Bereich von 0,030 8 g/100 g bis 0,264 g/100 g validiert. Während der Validierungsstudie im Einzellabor [2] wurden Versuche zur Wiederfindungsrate bei Aufstockung von bis zu 5 g/100 g in rekonstituierten Säuglingsnahrungspulvern (auf Milchbasis, auf teilweise hydrolysierter Milchbasis und Sojabasis), Nahrungsergänzungsmitteln für Erwachsene als Fertignahrung und rekonstituierten pulverförmigen Nahrungsergänzungsmitteln für Erwachsene durchgeführt.

2 Normative Verweisungen

Es gibt keine normativen Verweisungen in diesem Dokument.

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: verfügbar unter <http://www.electropedia.org/>

3.1 Nahrungsergänzungsmittel für Erwachsene
ernährungsphysiologisch vollständiges, speziell zusammengesetztes Lebensmittel, das in flüssiger Form verzehrt wird und die einzige Nahrungsquelle darstellen kann, hergestellt in einer beliebigen Zusammensetzung aus Milch, Soja, Reis, Molke, hydrolysiertem Protein, Stärke und Aminosäuren, mit oder ohne intaktem Protein

3.2 Säuglingsnahrung
Ersatzprodukt für Muttermilch, das speziell hergestellt wurde, um allein die Ernährungsanforderungen von Säuglingen in den ersten Lebensmonaten bis zur Einführung von geeigneter Beikost abzudecken

[QUELLE: Codex Standard 72-1981]

3.3

Folgenahrung

Lebensmittel, das als flüssiger Bestandteil der Entwöhnungsernährung für einen Säugling ab einem Alter von sechs Monaten und für Kleinkinder bis zu einem Alter von drei Jahren vorgesehen ist

Anmerkung 1 zum Begriff: Folgenahrung schließt Kindernahrung und Kleinkindnahrung ein

[QUELLE: Codex Standard 156-1987]

4 Kurzbeschreibung

Die Proben werden in Wasser (sofern erforderlich) rekonstituiert und weiter verdünnt, bis die Konzentration der Fructane in der Lösung so ist, dass die Fructose- und Glucosekonzentration nach der Hydrolyse innerhalb des Bereichs liegt, der von der Standardkurve abgedeckt wird. Die verdünnte Probe wird mit einem Gemisch aus einer hochspezifischen Sucrase und α -Glucanasen behandelt, um Saccharose und α -Glucooligosaccharide zu ihren einzelnen Monosacchariden zu hydrolysieren. Die Probe wird durch eine mit graphitiertem Kohlenstoff gepackte Festphasenextraktions-(SPE-)Säule (en: solid phase extraction) geleitet. Salze und Monosaccharide gehen durch und werden ausgespült, während die Fructane zurückgehalten werden. Die Fructane werden mit einer Acetonitril-Lösung von der Säule freigegeben. Die freigegebenen Fructane werden mit einem Fructanasegemisch hydrolysiert und die freigegebene Glucose und Fructose werden mittels Hochleistungs-Anionenaustausch-Chromatographieverfahren mit gepulster amperometrischer Detektion (HPAEC-PAD, en: high performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection) analysiert. Der Fructangehalt wird durch Addition des gemessenen Glucose- und 0,9-fachen Fructosegehalts berechnet. In einigen Matrices kann eine Blindwertkorrektur erforderlich sein und durchgeführt werden.

5 Chemikalien und Reagenzien

5.1 Liste der Chemikalien und Reagenzien

Es werden ausschließlich Reagenzien von anerkannter Analysenreinheit verwendet, sofern nicht anders festgelegt. Lösemittel müssen eine für die HPLC-Analyse geeignete Qualität besitzen, sofern nicht anders festgelegt.

5.1.1 Deionisiertes Wasser, gereinigt mit einem spezifischen Widerstand $\geq 18 \text{ M}\Omega$.

5.1.2 Maleinsäure, Reinheit $\geq 99,0 \%$.

5.1.3 Acetonitril.

5.1.4 Essigsäure, Eisessig 100 %, wasserfrei.

5.1.5 Kaliumhexacyanoferrat(II)-Trihydrat, optional.

5.1.6 Zinkacetat, optional.

5.1.7 Trifluoressigsäure (TFA, en: trifluoroacetic acid).

5.1.8 Salzsäure, Stoffmengenkonzentration $c = 1 \text{ mol/l}$.

5.1.9 Natriumacetat, wasserfrei, Reinheit $\geq 99,0 \%$, nur bei Verwendung der Säulen B (6.13.2) für HPAEC-PAD.

5.1.10 Natriumhydroxidlösung, ein Massenanteil von 50 %.

5.1.11 Natriumhydroxidplättchen.