

DIN EN ISO 9167

ICS 67.200.20

Entwurf

Einsprüche bis 2018-01-24
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN ISO 9167-1:2013-12

**Rapssamen –
Bestimmung des Glucosinolatgehaltes –
Verfahren mittels Hochleistungsflüssigchromatographie
(ISO/DIS 9167:2017);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 9167:2017**

Rapeseed –

Determination of glucosinolates content –

Method using high-performance liquid chromatography (ISO/DIS 9167:2017);

German and English version prEN ISO 9167:2017

Graines de colza –

Dosage des glucosinolates –

Méthode par chromatographie liquide à haute performance (ISO/DIS 9167:2017);

Version allemande et anglaise prEN ISO 9167:2017

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2017-11-24 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und
Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs
besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an nal@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL), 10772 Berlin, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten
Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 71 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 9167:2017) 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 von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

Das zuständige nationale Gremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-05-05 AA „Gemeinschaftsausschuss von DIN und DGF für die Analytik von Fetten, Ölen, Fettprodukten, verwandten Stoffen und Rohstoffen (GA Fett)“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

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

ISO 542:1990	siehe DIN EN ISO 542:1995-07
ISO 664	siehe DIN EN ISO 664
ISO 665	siehe DIN EN ISO 665
ISO 3696	siehe DIN ISO 3696
ISO 5725:1986	siehe DIN ISO 5725:1988-04

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 9167-1:2013-12 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Aufnahme von Rapsschrot in den Anwendungsbereich;
- b) normative Verweisungen aktualisiert bzw. ergänzt;
- c) Aufnahme des Abschnittes 3 „Begriffe“;
- d) Aktualisierung des Abschnittes „Reagenzien“ (z. B. bei „Interner Standard“ und „Mobile Phasen“);
- e) ausführliche Aktualisierung des Unterabschnitts „Geräteeinstellung“ (ehemals 8.6.1);
- f) Anhang A (informativ) „Ergebnisse von Ringversuchen“ neu aufgenommen;
- g) Anhang B (normativ) „Überprüfung des Titors der vorbereiteten internen Standardlösung“ neu aufgenommen;
- h) Anhang C (normativ) „Vorbereitung und Prüfung der gereinigten Sulfatase-Lösung und Überprüfung des Entsulfatierungsschrittes auf Ionenaustauschsäulen“ neu aufgenommen;
- i) Anhang D (informativ) „Elution im isokratischen Modus“ neu aufgenommen;
- j) Norm redaktionell überarbeitet und den derzeit gültigen Gestaltungsregeln angepasst.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 542:1995-07, *Ölsamen — Probenahme (ISO 542:1990); Deutsche Fassung EN ISO 542:1995*

DIN EN ISO 664, *Ölsamen — Verkleinerung der Laboratoriumsprobe auf die Untersuchungsprobe*

DIN EN ISO 665, *Ölsamen — Bestimmung des Gehaltes an Feuchtigkeit und flüchtigen Bestandteilen*

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

DIN ISO 5725:1988-04, *Präzision von Messverfahren — Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision von festgelegten Messverfahren durch Ringversuche; Identisch mit ISO 5725, Ausgabe 1986*

— Leerseite —

Rapssamen — Bestimmung des Glucosinolatgehaltes — Verfahren mittels Hochleistungsflüssigchromatographie (ISO/DIS 9167:2017)

Graines de colza — Dosage des glucosinolates — Méthode par chromatographie liquide à haute performance (ISO/DIS 9167:2017)

Rapeseed — Determination of glucosinolates content — Method using high-performance liquid chromatography (ISO/DIS 9167:2017)

ICS:

Deskriptoren:

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokumentstufe: parallele Umfrage
Dokumentsprache: D

STD Version 2.8l

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Kurzbeschreibung	6
5 Reagenzien	7
6 Geräte	9
7 Probenahme	10
8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe	10
9 Durchführung	10
10 Angabe der Ergebnisse	15
11 Präzision	17
12 Untersuchungsbericht	17
Anhang A (informativ) Ergebnisse von Ringversuchen	19
Anhang B (normativ) Überprüfung des Titors der hergestellten Lösung des internen Standards	21
Anhang C (normativ) Herstellung und Prüfung einer gereinigten Sulfatase-Lösung und Überprüfung des Desulfatierungsschritts an Ionenaustauschersäulen	22
Anhang D (informativ) Elution im isokratischen Modus	27
Literaturhinweise	34

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 9167:2017) 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 von AFNOR gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN ISO 9167-1:2013 ersetzen.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 9167:2017 wurde von CEN als prEN ISO 9167:2017 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsorganisationen (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 Themen 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.

Eine Erläuterung zum freiwilligen Charakter von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen, sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT) berücksichtigt, enthält der folgende Link www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34, *Food products*, Unterkomitee SC 2, *Oleaginous seeds and fruits and oilseed meals* erarbeitet.

Diese zweite Ausgabe ersetzt die erste Ausgabe (ISO 9167-1:1992), die technisch überarbeitet wurde.

Die wesentlichen Änderungen im Vergleich zur Vorgängerausgabe sind folgende:

- Hinzufügung von Rapsschrot im Anwendungsbereich dieser Norm mit Hinzufügung eines neuen Ringversuchs,
- Hinzufügung des isokratischen Modus in Anhang D

ISO/PWI 12788 *Rapeseed — Determination of glucosinolates content — Spectrometric method for total glucosinolates by glucose release*

Einleitung

Die Glucosinolate in Rapssamen können durch chromatographische, enzymatische oder spektroskopische Verfahren analysiert werden. In der vorliegenden Norm wird ein chromatographisches Verfahren mit zwei Elutionsbedingungen (Gradienten- und isokratische Elution) zur qualitativen und quantitativen Analyse von einzelnen Glucosinolaten in Rapssamen beschrieben. Das Verfahren mit Gradientenelution wird als Referenzverfahren angesehen, während das Verfahren mit isokratischer Elution als vereinfachtes Verfahren betrachtet wird und in Anhang D als Information dargelegt ist.

Die Norm legt ein Verfahren unter Anwendung von HPLC mit Gradientenelution als Referenzverfahren fest. Bei dem isokratischen Modus unterscheiden sich die Wahl des internen Standards, die chromatographischen Bedingungen und die Ergebnisse der Trennung vom Referenzverfahren. Folglich sind die Abschnitte in Bezug auf diese Aspekte in Anhang D enthalten.

ANMERKUNG Ein Verfahren zur Bestimmung des Glucosinolatgehaltes in Rapsschrot unter Anwendung einer Flüssigkeitschromatographie mit Gradientenelution ist Gegenstand von ISO 10633-1.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm legt ein Verfahren zur Bestimmung der einzelnen Glucosinolate in Rapssamen und Rapsschrot mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie mit Gradientenelution fest.

ANMERKUNG 1 Glucosinolate, die am Glucose-Molekül substituiert sind, werden mit diesem Verfahren nicht erfasst, sind für handelsübliche Rapssamen jedoch auch von untergeordneter Bedeutung.

ANMERKUNG 2 Dieses Verfahren wurde an Rapssamen und Rapsschrot (*Brassica rapa*, *Brassica napus* und *Brassica juncea*) geprüft, ist jedoch auf andere Pflanzenmaterialien unter der Bedingung anwendbar, dass die vorkommenden Glucosinolate zuvor identifiziert wurden und in der vorliegenden Norm beschrieben sind. Andererseits/andernfalls erfolgt keine quantitative Bestimmung des (der) betreffenden Glucosinolats (Glucosinolate).

ANMERKUNG 3 Die Analyse des Glucosinolatgehalts in Rapssamen kann auch unter Anwendung eines isokratischen Elutionsmodus erfolgen. Das erfordert einige Modifikationen des Verfahrens (interner Standard, HPLC-Säule und HPLC-Pufferlösungen), die im informativen Anhang D am Ende dieses Dokuments beschrieben sind.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. 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 664, *Oilseeds — Reduction of laboratory sample to test sample*

ISO 665, *Oilseeds — Determination of moisture and volatile matter content*

ISO 771, *Oilseed residues — Determination of moisture and volatile matter content*

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

ISO 5502, *Oilseed residues — Preparation of test samples*

3 Begriffe

Es werden keine Begriffe in diesem Dokument angegeben.

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

— IEC Electropedia: unter <http://www.electropedia.org/>

— ISO Online Browsing Platform: unter <http://www.iso.org/obp>

4 Kurzbeschreibung

Extraktion der Glucosinolate mit einem Wasser-Ethanol-Gemisch, danach Reinigung sowie enzymatische Desulfatierung mit Ionenaustauschersäulen. Bestimmung mittels Umkehrphasen-Flüssigkeitschromatographie und Gradientenelution (Referenzverfahren) oder isokratischer Elution (Schnellverfahren) mit anschließender Detektion mittels UV-Absorptionsmessung.

5 Reagenzien

Soweit nicht anders festgelegt, sind Reagenzien mit anerkanntem Reinheitsgrad „zur Analyse“ sowie Wasser zu verwenden, das der Qualität 2 nach ISO 3696 entspricht.

5.1 Ethanol, Volumenanteil = 50 %.

5.2 Natriumacetat, $c = 0,02 \text{ mol/l}$ bei pH 4,0, hergestellt durch Mischen von Natriumacetat, $c = 0,02 \text{ mol/l}$ und Essigsäure, $c = 0,02 \text{ mol/l}$, um eine Lösung mit pH = 4,0 zu erhalten.

5.3 Sulfatase, *Helix pomatia*, Typ H1, gereinigt und verdünnt wie in Anhang C beschrieben.

5.4 Imidazolformiat, $c = 6 \text{ mol/l}$.

204 g Imidazol werden in einem 500-ml-Becherglas in 113 ml Ameisensäure gelöst. Das Gemisch wird in einen 500-ml-Messzylinder überführt und mit Wasser auf 500 ml aufgefüllt.

5.5 Interner Standard

Es wird entweder Sinigrin (Kalium-Allylglucosinolat-Monohydrat, $M = 415,5 \text{ g/mol}$ (siehe 5.5.1) oder Glucotropaeolin (Kalium-Benzylglucosinolat, $M = 447,5 \text{ g/mol}$ oder Tetramethylammonium-Benzylglucosinolat, $M = 482,6 \text{ g/mol}$) (siehe 5.5.2) verwendet. Das Glucotropaeolin darf in hydratisierter Form verwendet werden; dann müssen die Molmasse und die Reinheit bekannt sein und bei der Herstellung der Lösung berücksichtigt werden.

Die Wahl des internen Standards wird durch seine perfekte chromatographische Trennung von anderen Glucosinolaten der Probe bestimmt. Das naturgemäße Nichtvorhandensein des internen Standards oder von Glucosinolaten, die nicht von letzterem getrennt sind, in der Probe darf mit einem Blindversuch (9.5) überprüft werden.

Bei der Gradientenelution an einer Octyl- oder Octadecyl-Phase als stationäre Phase kann Sinigrin oder Glucotropaeolin verwendet werden. Es ist jedoch manchmal schwierig, Glucotropaeolin von anderen natürlich vorkommenden Glucosinolaten von geringerer Bedeutung (Minor-Glucosinolaten) zu trennen.

ANMERKUNG Bei der isokratischen Elution an einer Cyanopropyl-Phase als stationäre Phase (siehe Anhang D) kann Sinigrin nicht für die Analyse von Rapssamen verwendet werden, weil es nicht von den anderen Glucosinolaten getrennt wird. Folglich ist Glucotropaeolin zu verwenden.

In den häufigsten Fällen, d. h. wenn die Rapssamen einen angenommenen Glucosinolatgehalt zwischen jeweils einschließlich $10 \text{ } \mu\text{mol/g}$ und $50 \text{ } \mu\text{mol/g}$ haben, wird der interne Standard in Form einer Lösung von 20 mmol/l verwendet. Für Rapssamen mit einem angenommenen Glucosinolatgehalt von weniger als $10 \text{ } \mu\text{mol/g}$ oder mehr als $50 \text{ } \mu\text{mol/g}$ sind die je Probe verwendeten Konzentrationen der Lösungen des internen Standards in Tabelle 1 angegeben.

Tabelle 1 — Konzentration der Lösung des internen Standards zur Verwendung entsprechend dem angenommenen Glucosinolatgehalt der Probe

Glucosinolatgehalt der Probe $\mu\text{mol/g}$	Konzentrationen der Lösungen des internen Standards mmol/l
< 10	5
> 10 und < 50	20
> 50	40

5.5.1 Sinigrin-Lösung

Die Sinigrin-Lösung mit der benötigten Konzentration (Tabelle 1) wird nach Tabelle 2 hergestellt. Das Sinigrin wird auf 0,5 mg eingewogen und in einem 100-ml-Messkolben in Wasser gelöst. Der Messkolben wird mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Die so hergestellte Lösung darf in einem Kühlschrank bei etwa 4 °C bis zu einer Woche oder in einem Tiefgefrierschrank bei –18 °C für einen längeren Zeitraum aufbewahrt werden.

Tabelle 2 — Masse von Sinigrin in 100 ml Wasser zur Herstellung von Lösungen mit 5 mmol/l, 20 mmol/l und 40 mmol/l

Form von Sinigrin	Relative Molekülmasse g/mol	Masse von Sinigrin g		
		5 mmol/l	20 mmol/l	40 mmol/l
Kaliumsalz, Monohydrat	415,5	0,207 7	0,831 0	1,662 0

5.5.2 Glucotropaeolin-Lösung¹⁾

Die Glucotropaeolin-Lösung mit der benötigten Konzentration (Tabelle 1) wird nach Tabelle 3 hergestellt. Das Glucotropaeolin wird auf 0,5 mg eingewogen und in einem 100-ml-Messkolben in Wasser gelöst. Der Messkolben wird mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Die so hergestellte Lösung darf in einem Kühlschrank bei etwa 4 °C bis zu einer Woche oder in einem Tiefgefrierschrank bei –18 °C für einen längeren Zeitraum aufbewahrt werden.

Tabelle 3 — Masse von Glucotropaeolin in 100 ml Wasser zur Herstellung von Lösungen mit 5 mmol/l, 20 mmol/l und 40 mmol/l

Form von Glucotropaeolin	Relative Molekülmasse g/mol	Masse von Glucotropaeolin g		
		5 mmol/l	20 mmol/l	40 mmol/l
Kalium	447,5	0,223 7	0,895 0	1,790 1
Tetramethylammonium	482,6	0,241 3	0,965 2	1,930 3

5.6 Mobile Phasen für die Gradientenelution

5.6.1 Elutionsmittel A: Wasser, gereinigt durch Filtrieren über eine Aktivkohle-Kartusche oder Wasser entsprechender Reinheit.

ANMERKUNG Die Verwendung von unzureichend gereinigtem Wasser kann bei der Analyse zu Geisterpeaks aufgrund von Verunreinigungen führen, die eluiert werden, wenn sich der Anteil an Acetonitril im Elutionsmittel erhöht.

5.6.2 Elutionsmittel B: Acetonitril, für HPLC mit Gradientenelution geeignet, Lösung in gereinigtem Wasser, Volumenanteil = 20 %. Die Konzentration darf je nach der verwendeten Säule modifiziert werden.

¹⁾ Glucotropaeolin kann zum Beispiel bezogen werden von: MERCK oder von Dr MICHALSKI Krzysztof, IHAR Strzezynska 36, 60-479 Poznan, Poland — Fax: 48 61 823 38 71. E-Mail: km@nico.ihar.poznan.pl.

Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch ISO.

5.6.3 Lösemittel zum Spülen: Acetonitril, HPLC-Qualität, Lösung in Wasser, Volumenanteil = 70 %.

5.7 Ionenaustauscherharz: DEAE Sephadex A25²⁾, auf folgende Weise angesetzte Suspension.

10 g DEAE Sephadex A25-Harz (oder ein gleichwertiges Harz) mit einem Überschuss Essigsäure-Lösung von 2 mol/l mischen. Absetzen lassen. Essigsäure von 2 mol/l hinzufügen, bis das Gesamtvolumen dem doppelten Volumen des abgesetzten Materials entspricht.

6 Geräte

Übliche Laborgeräte und im Besonderen die folgenden:

6.1 HPLC-Gerät mit Gradienten- oder isokratischer Elution, Regelung der Säulentemperatur bei 30 °C und Detektion durch UV-Absorptionsmessung bei einer Wellenlänge von 229 nm und, falls möglich, bei einer Wellenlänge 275 nm.

ANMERKUNG Wenn die Umgebungstemperatur mehr als 25 °C beträgt, kann eine wirksame Regelung der Säulentemperatur bei 30 °C unmöglich sein. In diesem Fall wird ein Ofen mit einer Kühl- und Heizeinrichtung empfohlen.

6.2 HPLC-Säulen für Gradientenelution

HPLC-Säulen, die als stationäre Phase eine Octyl-(C8-) oder Octadecyl-(C18-)Phase, gebunden an eine Siliciumdioxid-Säulenpackung, mit einer Teilchengröße von weniger als oder gleich 5 µm enthalten.

Die Trennleistung der Säule sollte regelmäßig überprüft werden, vorzugsweise mit einer Referenzprobe aus Raps-Desulfoglucosinolat³⁾. Die Säule darf insbesondere Desulfo-4-hydroxyglucobrassicin, ein wichtiges, aber relativ instabiles Desulfoglucosinolat, nicht zersetzen. In Bild 1 ist ein Beispiel für die Trennung von Glucosinolaten unter Anwendung des HPLC-Gradientenmodus dargestellt. Neue Säulen sind vor der Analyse nach den Anweisungen des Herstellers zu konditionieren, so dass reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden können.

6.3 pH-Messgerät

6.4 Mikromühle, z. B. eine Kaffeemühle.

6.5 Zentrifuge, geeignet für die Anwendung mit Zentrifugenröhrchen (6.6) und in der Lage, eine Zentrifugalbeschleunigung von 5 000 g zu erreichen.

6.6 Zentrifugenröhrchen aus Polypropylen, Nennvolumen 6 ml.

6.7 Wasserbad oder eine andere **Heizvorrichtung**, einstellbar auf eine Temperatur von 75 °C ± 3 °C.

6.8 Pasteurpipetten, ausgestattet mit Glaswolle, 150 mm lang, sowie ein geeignetes Gestell oder eine andere geeignete Vorrichtung.

2) Die angeführten Beispiele sind geeignete handelsübliche Produkte. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender von ISO 9167 und bedeutet keine Anerkennung dieser genannten Produkte durch ISO.

3) Referenzproben von Raps-Desulfoglucosinolat können bezogen werden von: The Institute for Reference, Materials and Measurements (IRMM) — Retieseweg, B-2440 GEEL, Belgium.

7 Probenahme

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

Die Probenahme ist nicht Bestandteil des in diesem Teil von ISO 9167 festgelegten Verfahrens. Ein empfohlenes Probenahmeverfahren für Ölsamen ist in ISO 542 [3] und für Ölsamenschrot in ISO 5500 [8] angegeben.

Wenn große, nicht ölhaltige Fremdkörper vor der Verkleinerung der Laboratoriumsprobe ausgelesen wurden, ist das bei der Berechnung zu berücksichtigen.

8 Vorbereitung der Untersuchungsprobe

Die Laboratoriumsprobe wird bei Ölsamen nach ISO 664 und bei Ölsamenschrot nach ISO 5502 verkleinert.

Falls die Samen einen Gehalt an Feuchtigkeit und flüchtigen Bestandteilen von $w = 10\%$ aufweisen, sind sie vorher bei $45\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ in einem Luftstrom zu trocknen.

Der Anteil an Verunreinigungen beträgt im Allgemeinen 2% (Massenanteil). Wird Sinigrin in der Probe festgestellt (mit der Blindprobe), sind die Verunreinigungen getrennt zu analysieren, da Sinigrin aus Samen von zufälligen Cruciferae (Kreuzblütlern) stammen kann, die Verunreinigungen in Rapssamen sind.

Wurden die Samen einer Vorbehandlung unterzogen, sind sie mit Dichlormethan zu waschen und mit einem Luftstrom bei Umgebungstemperatur zu trocknen.

Die Probe wird auf zwei Teilproben von jeweils 20 g verkleinert.

Der Gehalt an Feuchtigkeit und flüchtigen Bestandteilen einer Teilprobe ist für Ölsamen nach ISO 665 und für Ölsamenschrot nach ISO 771 oder einem entsprechenden Verfahren zu bestimmen.

Die Samen der anderen Teilprobe sind in der Mikromühle (6.4) 20 s zu mahlen. Alles mischen und erneut 5 s mahlen. Die hergestellte Probe ist schnell zu wägen (9.1), um eine Veränderung des Gehalts an Feuchtigkeit und flüchtigen Bestandteilen zu vermeiden.

9 Durchführung

9.1 Einwaage

Zwei Zentrifugenröhrchen (6.6) werden mit A und B bezeichnet und in jedes Röhrchen werden 200 mg der vorbereiteten Untersuchungsprobe (8) bei Ölsamen und 100 mg bei Ölsamenschrot, jeweils auf 0,5 mg eingewogen, überführt.

ANMERKUNG Röhrchen B wird als Blindprobe betrachtet und kann weggelassen werden, wenn zuvor festgestellt wurde, dass kein Glucosinolat zusammen mit dem internen Standard eluiert (siehe 9.6.2.1.2).

9.2 Extraktion der Glucosinolate

Die Zentrifugenröhrchen sind in dem auf 75 °C temperierten Wasserbad oder in einer anderen Heizvorrichtung (6.7) 1 min zu erhitzen. Danach sind in jedes Zentrifugenröhrchen 3 ml siedende Ethanol-Lösung (4.1) zu geben, und unmittelbar darauf folgt die Zugabe von

- 200 µl auf 3 µl der Lösung des internen Standards, hergestellt in Übereinstimmung mit dem HPLC-Elutionsmodus und dem angenommenen Glucosinolatgehalt der Probe (5.5), in Röhrchen A;
- 200 µl Wasser in Röhrchen B.

Die Temperatur der Ethanol-Lösung muss möglichst nahe am Siedepunkt liegen, um eine schnelle Denaturierung des Enzyms Myrosinase sicherzustellen, das im Allgemeinen in der Einwaage vorkommt.

ANMERKUNG 1 Nicht denaturierte Myrosinase kann die Glucosinolate innerhalb weniger Minuten abbauen.

ANMERKUNG 2 Das in ISO 9167-1:1995 verwendete 70%ige Methanol wurde für eine geringere Toxizität durch 50%iges Ethanol ersetzt [5].

Die Zentrifugenröhrchen sind weitere 10 min bei 75 °C zu erhitzen und dabei in regelmäßigen Abständen zu schütteln. Das Volumen der Zentrifugenröhrchen A und B ist mit Wasser auf etwa 4 ml aufzufüllen, der Inhalt ist zu mischen und anschließend 3 min bei einer Beschleunigung von 5 000 g zu zentrifugieren.

Die überstehenden Lösungen sind jeweils in zwei andere, mit A' und B' gekennzeichnete Zentrifugenröhrchen (6.6) zu überführen. Das Volumen in jedem Röhrchen A' und B' ist mit Wasser auf etwa 5 ml aufzufüllen und zu durchmischen.

Diese Extrakte dürfen zwei Wochen lang im Dunkeln bei –18 °C in einem Tiefgefrierschrank aufbewahrt werden.

ANMERKUNG 3 Bei der Verwendung von 50%igem Ethanol als Lösemittel hat sich eine einstufige Extraktion als hinreichend wirksam herausgestellt [5]. In dieser neuen Ausgabe von ISO 9167-1 wird nur eine Extraktion durchgeführt, anstelle von zwei in ISO 9167-1:1995.

9.3 Herstellung der Ionenaustauschersäulen

Pasteurpipetten mit Glaswolle (6.8) in der erforderlichen Anzahl, d. h. für jeden vereinigten Extrakt eine Pipette, sind so abzuschneiden, dass oberhalb des Halses ein Volumen von 1,2 ml verbleibt. Die Pipetten sind senkrecht in ein Gestell zu stellen.

Es sind 0,5 ml der gut durchmischten Suspension des Ionenaustauscherharzes (5.7) in jede Pipette zu überführen und absetzen zu lassen.

Die Pipetten sind mit 2 ml der Imidazolformiat-Lösung (5.4) und anschließend zweimal mit jeweils 1 ml Wasser zu waschen.

9.4 Reinigung und Desulfatierung

9.4.1 Für jeden Extrakt sind die Arbeitsgänge in 9.4.2 bis 9.4.5 auszuführen.

9.4.2 1 ml oder 0,5 ml des Extrakts (9.2), in Abhängigkeit vom angenommenen Glucosinolatgehalt der Probe (siehe Tabelle 4), ist/sind ohne die Harzoberfläche zu beschädigen auf die vorbereitete Säule (9.3) zu geben und ablaufen zu lassen. Es ist zweimal 1 ml 0,02 M-Natriumacetat-Puffer mit einem pH-Wert von 4,0 (5.2) aufzugeben und jedes Mal ablaufen zu lassen.

Tabelle 4 — Volumen des Extrakts, das entsprechend dem erwarteten Glucosinolatgehalt der Probe auf die Ionenaustauschersäule überführt wird

Glucosinolatgehalt der Probe μmol/g	Volumen des Extrakts ml
< 50	1,0
> 50	0,5

9.4.3 Auf die Säule sind 75 μl der verdünnten, gereinigten Sulfatase-Lösung (C.4.4) zu geben. Diese ist etwa 15 h bei Umgebungstemperatur einwirken zu lassen.

9.4.4 Ein Röhrchen (6.6) wird unter der Säule angeordnet, um das Eluat zu sammeln. Die erhaltenen Desulfoglucosinolate sind zweimal mit je 1 ml Wasser zu eluieren, wobei zu beachten ist, dass jedes Mal das Wasser abläuft.

ANMERKUNG Die Vollständigkeit der Elution der Desulfoglucosinolate von der Ionenaustauschersäule kann überprüft werden, indem eine zusätzliche Portion Wasser (1 ml) zur Elution verwendet wird. Die Chromatographie dieser zusätzlichen Portion ergibt keine signifikanten Mengen beliebiger Desulfoglucosinolate.

9.4.5 Das Eluat ist gut zu mischen. Sofern das Eluat nicht sofort zur Chromatographie verwendet wird, darf es im Dunkeln im Tiefgefrierschrank bei -18 °C maximal 1 Woche aufbewahrt werden.

9.5 Blindversuch

Erforderlichenfalls (siehe 5.5) ist ein Blindversuch unter Anwendung der gleichen Verfahrensweise an einer aus derselben Untersuchungsprobe entnommenen Einwaage durchzuführen, jedoch ohne die Lösung des internen Standards (Sinigrin oder Glucotropaeolin), um in der Einwaage vorhandenes Sinigrin oder Glucotropaeolin (oder eine gleichzeitig eluierende Verbindung) nachzuweisen und quantitativ zu bestimmen.

9.6 Chromatographie mit Gradientenelution

9.6.1 Allgemeines

Beim Referenzverfahren wird eine Gradientenelution mit einer Säule mit einer Octyl- oder Octadecyl-Phase als stationäre Phase (6.2) und Elutionsmitteln (5.6) angewendet.

9.6.2 Geräteeinstellung

9.6.2.1 Allgemeines

Die Säulentemperatur wird auf 30 °C und die Detektor-Wellenlänge auf 229 nm eingestellt. Das HPLC-Gerät (6.1) wird so programmiert, dass die Säule gespült wird, indem Elutionsmittel B mit einer Durchflusgeschwindigkeit von etwa 1 ml/min hindurchgeleitet wird. Wenn die Basislinie stabil ist, werden die Anfangsbedingungen des Elutionsgradienten (Elutionsmittel A) angenommen und dem System wird während 5 min eine Gleichgewichtseinstellung ermöglicht.

Wenn die Basislinie nach dem 20-minütigen Hindurchleiten von Elutionsmittel B instabil bleibt, wird das Elutionsmittel zum Spülen (70%iges Acetonitril) verwendet, um die Säule zu reinigen, anschließend wird erneut 5 min Elutionsmittel B verwendet und die Anfangsbedingungen (Elutionsmittel A) werden angenommen.

Wenn sich das System mit Elutionsmittel A im Gleichgewicht befindet, muss die Probe ohne Verzögerung injiziert werden. Wenn nicht, können im Wasser vorkommende Spuren von organischen Verbindungen auf der Säule konzentriert und während der Gradientenelution freigesetzt werden. Dann kann eine gemeinsame Elution mit Desulfoglucosinolaten auftreten.

9.6.2.2 Qualifizierung der Leistungskriterien von HPLC-System und -Säule

Dieses Verfahren ist erforderlich, um die Eignung von HPLC-Säulen oder -Systemen zu bestimmen, die zuvor nicht für die vorliegende Norm genutzt wurden.

9.6.2.2.1 Peakformen von Sinigrin und Glucotropaeolin

Die Standards werden nach den Festlegungen in 5.5 hergestellt. Unter Verwendung der Arbeitslösung des internen Standards werden höchstens $50\text{ }\mu\text{l}$ auf die HPLC-Säule injiziert. Die Form des (der) Peaks wird sorgfältig untersucht. Sie sollte symmetrisch sein und keine vorauslaufende Schulter bzw. kein

stuhlförmiges Erscheinungsbild aufweisen. Eine vorauslaufende Schulter oder ein stuhlförmiges Erscheinungsbild weisen auf ein übermäßiges Injektionsvolumen hin. Es ist sicherzustellen, dass das Injektionsvolumen 50 µl nicht überschreitet. Wenn eine Injektion mit vollständiger Schleifenfüllung genutzt wurde, kann das Problem durch ein übermäßiges Totvolumen an der Stelle, an der die Schleife am Injektor angebracht ist, verursacht werden. Um das Problem zu beheben, ist die Schleife auszutauschen. Auch eine Säule mit größerem Durchmesser (4,6 mm im Vergleich zu 3 mm) kann das Problem beheben.

9.6.2.2.2 Auflösung von internen Standards

Die Peaks für Sinigrin und Glucotropaeolin werden am gleichen Chromatogramm untersucht. Die Retentionszeit für beide interne Standards wird bestimmt. Beide sollten bis zur Basislinie voneinander getrennt sein ($R > 2,5$). In Bild 1 ist ein Beispiel für ein gutes Chromatogramm dargestellt.

9.6.2.2.3 Kritische Auflösung

Der Rapssamen-Extrakt wird wie in der Norm beschrieben hergestellt und analysiert. Es ist sicherzustellen, dass die Peaks für (a) Desulfoglucobrassicin (Peak 1) und Desulfopropionitril (Peak 2), (b) Desulfoglucobrassicin (Peak 11) und Desulfoglucotropaeolin (Peak 12) und (c) Desulfoglucobrassicin (Peak 14) und Desulfo-4-methoxyglucobrassicin (Peak 15) vollständig voneinander abgesetzt sind (siehe Chromatogramm in Bild 1). Einige HPLC-Säulen sind nicht in der Lage, diese Peaks aufzulösen und somit nicht geeignet für dieses Verfahren. Einige HPLC-Säulen können die Elutionsreihenfolge der Peaks ändern. Diese Säulen können bei diesem Verfahren angewendet werden, vorausgesetzt, die Peaks werden korrekt identifiziert und sind vollständig voneinander abgesetzt. Eine Ursache von mangelhafter Auflösung kann ein unzureichendes Vermischen der Lösemittel A und B im HPLC-System sein, was in Form von zu breiten Peaks und von Lauf zu Lauf schwankenden Retentionszeiten dieser Peaks ersichtlich ist. Das kann durch Hinzufügen eines Rührwerks behoben werden.

9.6.2.3 Eignung des Systems

Ein Schritt zur Bestimmung der Eignung des Systems muss durchgeführt werden, um sicherzustellen, dass das HPLC-System ordnungsgemäß arbeitet. Vor dem Durchlauf beliebiger Prüflösungen werden die Wiederholpräzision und das Fehlen von Verschleppung beim HPLC-System wie folgt nachgewiesen:

9.6.2.3.1 A. Artefakte des Systems

Als die ersten beiden Injektionen am Tag wird nacheinander zweimal der Leerwert-Standard analysiert. Die beiden Chromatogramme werden auf Artefakt-Peaks vom HPLC-System untersucht. In beiden Durchläufen vorhandene Artefakte weisen auf Verunreinigungen im System hin und sind in jedem Durchlauf vorhanden. Das Vorhandensein von Artefakt-Peaks weist auf Verunreinigungen im HPLC-System hin, z. B. Lösemittel, Nadeln, Waschsystem oder Verschleppung im Injektionssystem. Diese Probleme, sofern vorhanden, müssen behoben werden. Artefakte, die im ersten Chromatogramm vorhanden sind und im zweiten fehlen, weisen auf eine Ansammlung von Verunreinigungen im System hin. In diesem Fall muss die erste Probe bei jeder analytischen Prüfung eine Leerwertlösung sein.

9.6.2.3.2 B. Verschleppung

Eine Lösung des Rapssamen-Extrakts und anschließend die Leerwertprobe werden injiziert. Die Injektion der Leerwertprobe wird sorgfältig auf verschleppungsbedingte Peaks untersucht. Die Verschleppung wird für alle in der Leerwertprobe festgestellten Peaks als prozentualer Anteil der Konzentration berechnet, die unter Verwendung des vorgeschlagenen Berechnungsverfahrens (10.1 und 10.2) berechnet wurde. Die Verschleppung von Proben in die Injektion der Leerwertprobe sollte $< 0,1 \%$ sein.

9.6.2.3.3 C. Präzision des Systems

5 Wiederholungsanalysen der Lösung des internen Standards werden analysiert. Die Konzentration jedes Analyten wird berechnet und Mittelwert, Standardabweichung und relative Standardabweichung (RSD) der

Ergebnisse werden berechnet. Die *RSD* für alle Peaks sollte im Idealfall $< 0,2\%$ sein. Ist die *RSD* $> 0,5\%$, ist das System nicht für die Analyse geeignet und die Ursache für das Problem sollte gefunden und muss behoben werden.

ANMERKUNG 1 Umkehrphasen-HPLC-Säule: wie in der Norm angeführt, sind alle C8- und C18-Umkehrphasen-(RP-)Säulen, die die Anforderungen der Leistungskriterien erfüllen, annehmbar. Viele gegenwärtig auf dem Markt befindliche C8- und C18-RP-Säulen sind jedoch nicht in der Lage, diese Analyse auszuführen, deshalb ist die Wahl der Säule ein kritischer Punkt bezüglich des Erreichens der gewünschten Auflösung.

ANMERKUNG 2 Die folgenden Säulen wurden mit dieser Norm geprüft und arbeiten annehmbar⁴⁾: Lichrospher CN-Säule, 5 µm (250 mm × 4,0 mm); Nucléosil CN-Säule, 5 µm (250 mm × 4,6 mm) oder Hypersil CN-Säule, 5 µm (250 mm × 4,6 mm).

9.6.2.4 Untersuchung

Es werden maximal 50 µl der nach 9.4.5 erhaltenen Desulfoglucosinolat-Lösung in den Chromatographen injiziert und die Konzentration von Acetonitril in der mobilen Phase wird einem linearen Gradienten entsprechend verändert (von 0 % auf 25 % innerhalb von etwa 20 min).

Ein der eingesetzten Trennsäule entsprechender Elutionsgradient ist anzuwenden.

ANMERKUNG Die folgenden Elutionsgradienten sind als Beispiele angegeben und dürfen so verändert werden, dass in Abhängigkeit von den verwendeten Säulen optimale Trennungen erreicht werden (siehe 9.6.2.3.3).

BEISPIEL 1 RP18-Säule, 5 µm (150 mm × 4,6 mm): 1 min 100 % Elutionsmittel A (4.6.1) hindurchleiten. Im Verlauf von 20 min einen linearen Elutionsgradienten anwenden, bis 0 % Elutionsmittel A und 100 % Elutionsmittel B erreicht werden. Im Verlauf von 5 min einen linearen Elutionsgradienten anwenden, bis 100 % Elutionsmittel A und 0 % Elutionsmittel B erhalten werden. Für 5 min 100 % Elutionsmittel A zur Gleichgewichtseinstellung hindurchleiten.

BEISPIEL 2 RP8-Säule, 5 µm (125 mm × 4 mm): 2 min 30 s 100 % Elutionsmittel A hindurchleiten. Im Verlauf von 18 min einen linearen Elutionsgradienten anwenden, bis 0 % Elutionsmittel A und 100 % Elutionsmittel B erreicht werden. Für 5 min 100 % Elutionsmittel B hindurchleiten. Im Verlauf von 2 min einen linearen Elutionsgradienten anwenden, bis 100 % Elutionsmittel A und 0 % Elutionsmittel B erhalten werden. Für 5 min 100 % Elutionsmittel A zur Gleichgewichtseinstellung hindurchleiten.

9.6.2.5 Untersuchung der Chromatogramme

9.6.2.5.1 Peakidentifizierung

Unter der Anwendung dieses chromatographischen Verfahrens können die desulfatierten Derivate von Raps-Glucosinolaten verhältnismäßig leicht getrennt werden und die Elutionsreihenfolge entspricht im Allgemeinen der Darstellung in Bild 1. Jedoch können bei der Trennung der folgenden Desulfoglucosinolate einige Probleme auftreten, die durch eine leichte Veränderung des Elutionsgradienten oder den Wechsel der Säulenart behoben werden:

- Desulfoepiprogoitrin und Desulfoglucosinigrin;
- Desulfogluconapoleiferin und Desulfoglucoalyssin;
- Desulfoglucobrassicinapin und Desulfoglucotropaeolin;
- Desulfogluconasturtiin und Desulfo-4-methoxyglucobrassicin.

4) Die angeführten Beispiele sind geeignete handelsübliche Produkte. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender von ISO 9167 und bedeutet keine Anerkennung dieser genannten Produkte durch ISO.

Die Identifizierung der Peaks darf durch Vergleich mit einem sich aus einer Standardprobe ergebenden Chromatogramm (6.2) oder durch UV-Detektion bei einer bestimmten Wellenlänge (275 nm für indolische Glucosinolate) erfolgen.

9.6.2.5.2 Quantitative Bestimmung

Es werden lediglich Peaks berücksichtigt, die Desulfoglucosinolaten entsprechen und deren Fläche mehr als 1 % der Summe aller Peakflächen beträgt.

Es ist sicherzustellen, dass das Gerät zur Integrationsmessung bei schlecht getrennten Peaks und bei Peaks mit hoher Intensität auf geeignete Weise funktioniert. Falls notwendig, wird die Desulfoglucosinolat-Lösung (9.4.5) nach dem Verdünnen mit Wasser erneut injiziert.

ANMERKUNG Ungeachtet der Wahl von zwei internen Standards kann das Chromatogramm des Blindversuchs (Röhrchen B, 9.2) einen Peak mit der gleichen Retentionszeit wie der in Röhrchen A verwendete interne Standard (9.2) aufweisen. Dennoch kann die Berechnung des Glucosinolatgehalts möglich sein, indem der Einfluss des gleichzeitig eluierenden Peaks auf die Peakfläche des internen Standards beseitigt wird. Wenn die Fläche des gleichzeitig eluierenden Peaks geringer ist als die Hälfte der Fläche des internen Standards, kann erstere von letzterer mit einer Korrektur im Vergleich zu Flächen von anderen Hauptpeaks, die in beiden Chromatogrammen vorliegen, subtrahiert werden. Im Prüfbericht muss dieser Berechnungsmodus genau angegeben werden.

10 Angabe der Ergebnisse

10.1 Berechnung des Gehalts der einzelnen Glucosinolate

Der Gehalt C_g eines jeden Glucosinolats, in Mikromol je Gramm Trockenmasse des Produkts, ist nach Gleichung (1) zu berechnen:

$$C_g = \frac{A_g}{A_s} \times \frac{n}{m} \times \frac{K_g}{K_s} \times \frac{100}{(100 - w)} \quad (1)$$

Dabei ist

- A_g der Zahlenwert der Peakfläche, die dem Desulfoglucosinolat entspricht, in Integritoreinheiten;
- A_s der Zahlenwert der Peakfläche, die dem als interner Standard verwendeten Desulfoglucosinolat entspricht, in Integritoreinheiten;
- K_g der Zahlenwert des relativen Proportionalitätsfaktors des Desulfoglucosinolats;
- K_s der Zahlenwert des relativen Proportionalitätsfaktors des als interner Standard verwendeten Desulfoglucosinolats;
- m der Zahlenwert der Masse der Einwaage, in Gramm;
- n der Zahlenwert der Menge des dem Zentrifugenröhrchen in 9.2 zugesetzten internen Standards, in Mikromol;
- w der Zahlenwert des Gehalts an Feuchtigkeit und flüchtigen Bestandteilen in der Untersuchungsprobe, angegeben als Massenanteil in Prozent.

Falls gewünscht wird, das Ergebnis auf einen bestimmten Gehalt an Feuchtigkeit und flüchtigen Bestandteilen, w_s , [z. B., $w_s = 9\%$], zu beziehen, wird das für die Trockenmasse (siehe oben) erhaltene Ergebnis C_g mit Gleichung (2) multipliziert:

$$\frac{100 - w_s}{100} \quad (2)$$

ANMERKUNG In der vorherigen Ausgabe der Norm (ISO 9167-1:1992) wird die Benennung „Kalibrierfaktor“ anstelle von „relativer Proportionalitätsfaktor“ verwendet.

10.2 Relative Proportionalitätsfaktoren

Die folgenden relativen Proportionalitätsfaktoren (K_i) sind anzuwenden (siehe Tabelle 5).

ANMERKUNG Diese relativen Proportionalitätsfaktoren (in der vorherigen Ausgabe der Norm als Kalibrierfaktoren bezeichnet) sind in Versuchen ermittelt und zwischen den verschiedenen an der Prüfung beteiligten Laboratorien nach Absprache festgelegt worden; ihre spätere Überarbeitung kann notwendig werden.

Tabelle 5 — Anzuwendende relative Proportionalitätsfaktoren (K_i)

	Desulfoglucosinolat	K_i
1	Desulfoglucoiberin	1,07
2	Desulfoprogoitrin	1,09
3	Desulfoepi-progoitrin	1,09
4	Desulfosinigrin	1,00
5	Desulfoglucoraphanin	1,07
6	Desulfogluconapoleiferin	1,00
7	Desulfoglucoalyssin	1,07
8	Desulfosinalbin	0,50
9	Desulfogluconapin	1,11
10	Desulfo-4-hydroxyglucobrassicin	0,28
11	Desulfoglucobrassicinapin	1,15
12	Desulfoglucotropaeolin	0,95
13	Desulfoglucobrassicin	0,29
14	Desulfogluconasturtiin	0,95
15	Desulfo-4-methoxyglucobrassicin	0,25
16	Desulfoneoglucobrassicin	0,20
17	Sonstige Desulfoglucosinolate	1,00

10.3 Berechnung des Gesamtgehalts an Glucosinolaten

Der Gesamtgehalt an Glucosinolaten, angegeben in Mikromol je Gramm Trockenmasse des Produkts, ist gleich der Summe aller einzelnen Glucosinolatgehalte (deren jeweilige Peakflächen größer als 1 % der Summe aller Peak Flächen ist).

11 Präzision

11.1 Ringversuch

Einzelheiten eines Ringversuchs zur Präzision des Verfahrens sind in Anhang A zusammengefasst. Die aus diesem Ringversuch abgeleiteten Werte sind möglicherweise nicht auf andere als die angegebenen Konzentrationsbereiche und Matrices anwendbar.

11.2 Wiederholpräzision

Die absolute Differenz zwischen zwei unabhängigen einzelnen Untersuchungsergebnissen, die innerhalb eines kurzen Zeitabstands mit demselben Verfahren an identischem Untersuchungsmaterial im selben Laboratorium von demselben Bearbeiter unter Verwendung derselben Geräte erhalten wurden, wird in nicht mehr als 5 % der Fälle den in Tabelle A.1 bzw. A.2 angegebenen Wert der Wiederholgrenze r überschreiten.

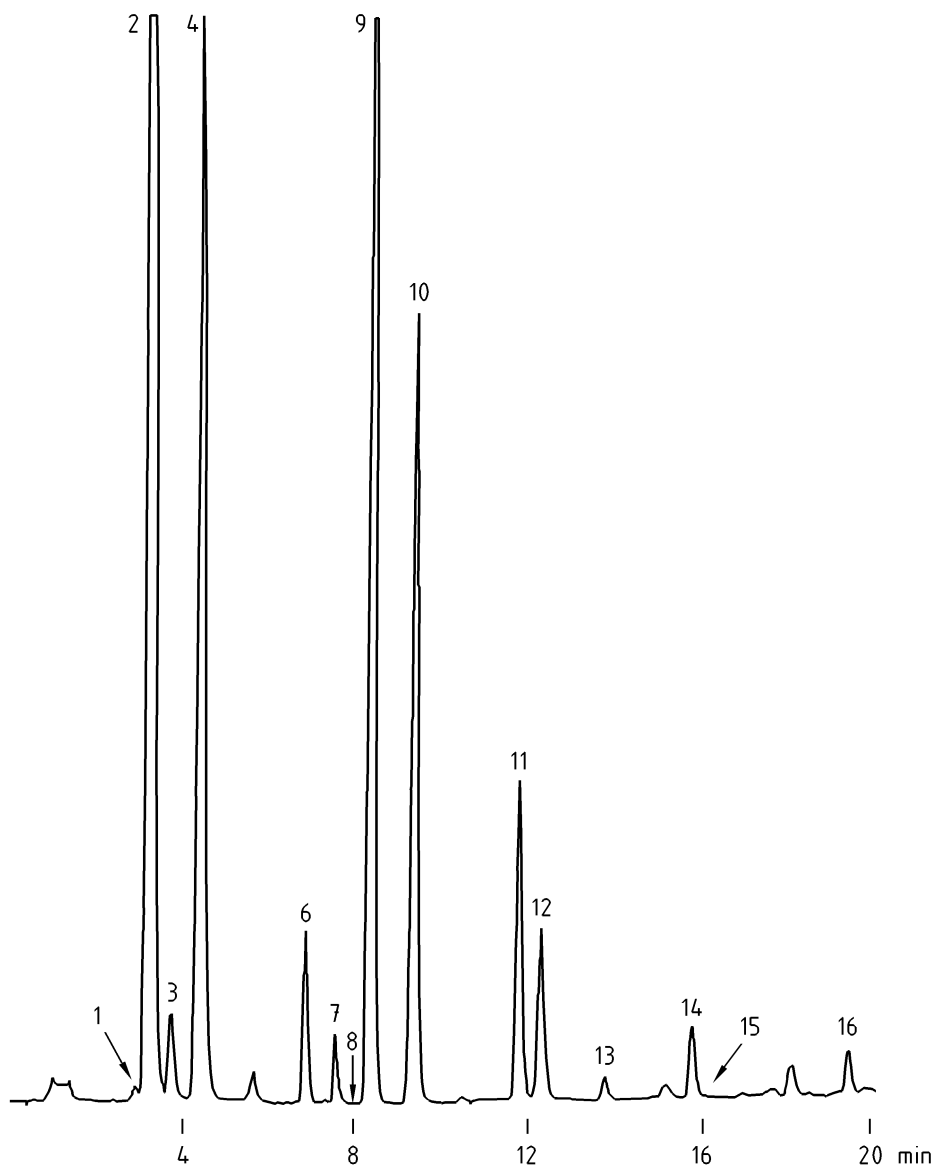
11.3 Vergleichpräzision

Die absolute Differenz zwischen zwei einzelnen Untersuchungsergebnissen, die mit demselben Verfahren an identischem Untersuchungsmaterial mit verschiedenen Geräten erhalten wurden, wird in nicht mehr als 5 % der Fälle den in Tabelle A.1 bzw. A.2 angegebenen Wert der Vergleichgrenze R überschreiten.

12 Untersuchungsbericht

Im Untersuchungsbericht sind anzugeben:

- alle Angaben, die zur vollständigen Identifikation der Probe erforderlich sind;
- das angewendete Probenahmeverfahren, wenn bekannt;
- das angewendete Untersuchungsverfahren unter Verweisung auf die vorliegende Internationale Norm;
- alle Einzelheiten zu Arbeitsschritten, die nicht in dieser Internationalen Norm festgelegt sind oder als wahlfrei betrachten werden, sowie Einzelheiten zu allen Vorkommnissen, die das (die) Untersuchungsergebnis(se) beeinflusst haben können;
- das (die) erhaltene(n) Untersuchungsergebnis(se);
- wenn die Wiederholpräzision geprüft wurde, das ermittelte Endergebnis.



Legende

- | | | | |
|---|--------------------------|----|---------------------------------|
| 1 | Desulfoglucoiberin | 9 | Desulfogluconapin |
| 2 | Desulfoprogoitrin | 10 | Desulfo-4-hydroxyglucobrassicin |
| 3 | Desulfoepi-progoitrin | 11 | Desulfoglucobrassicinapin |
| 4 | Desulfosinigrin | 12 | Desulfoglucotropaeolin |
| 5 | Desulfoglucoraphanin | 13 | Desulfoglucobrassicin |
| 6 | Desulfogluconapoleiferin | 14 | Desulfogluconasturtiin |
| 7 | Desulfoglucoalyssin | 15 | Desulfo-4-methoxyglucobrassicin |
| 8 | Desulfosinalbin | 16 | Desulfoneoglucobrassicin |

Bild 1 — Beispiel für ein typisches Chromatogramm von Rapssamen unter Anwendung der Gradientenelution