

Allgemeine Verfahren zur Untersuchung und Analyse von Lebensmitteln

Lösungen für regulierte instrumentelle Analyseverfahren mit
AAS, GC, HPLC, ICP, KF und TLC
2016-1



Inhalt

Anwendungsverzeichnis	3
Einleitung	4–7
– Definition von Nahrungsmitteln und Getränken (Energieaufnahme in fester und flüssiger Form)	4
– Milch	5
– Fleisch	6
– Lebensmitteluntersuchung	6–7
Regulierte instrumentelle Normverfahren	8–42
In Normverfahren angewendete instrumentelle Techniken	43–69
Amtliche Vorschriften	70–79

Anwendungsverzeichnis

Matrix/Probe	Parameter	Verfahren	Norm	
pH-Messung in Fleisch und Fleischprodukten				
Fleisch (Schweinelende)	pH	pH-Meter/nicht destruktiv	ISO 2917:1999	
Fleisch (Wurst)	pH	pH-Meter/destruktiv	ISO 2917:1999	
pH-Bestimmung in Obst und Gemüse				
Apfelsaft	pH	pH-Meter	ISO 1842:1991	
Orangensaft	pH	pH-Meter	ISO 1842:1991	
Aprikosenmarmelade	pH	pH-Meter	ISO 1842:1991	
Karottenpüree	pH	pH-Meter	ISO 1842:1991	
Chloridgehalt in Fleisch und Fleischprodukten				
Fleisch & Fleischprodukte	Chlorid	Titration	ISO 1841-1:1996	
Fettsäuremethylester (FAME) in Ölproben				
Sonnenblumenöl	FAME*	GC mit FID	EN ISO 12966-2:2011 EN ISO 12966-4:2015	*Fettsäuremethylester (FAME)
Bestimmung von Blei und Cadmium in Fisch				
Fisch	Cadmium, Blei	AAS/GFAAS	EN 14084:2003	
Bestimmung von Deoxynivalenol (DON)				
Weizen	DON**	HPLC	EN 15791:2009	**Deoxynivalenol
Salzgehalt in Fleisch und Fleischprodukten mit verschiedenen Verfahren				
Aufschnitt	Natrium	AAS	EN 15505:2008	
Aufschnitt	chlorid	Titration	ISO 1841-1:1996	
Salami	Natrium	AAS	EN 15505:2008	
Salami	chlorid	Titration	ISO 1841-1:1996	
Bestimmung des Wassergehalts in Ölproben				
Öl	Wasser	KF-Titration / Coulometrie	DIN EN ISO 8534:2009	
Bestimmung von Spurenelementen in Lebensmitteln				
Fleisch (Rind)	Spurenelemente***	ICP-OES	EN 13805:2002	***Fe, Mg, Ca, Na, K
Fleisch (Huhn)	Spurenelemente***	ICP-OES	EN 13805:2002	***Fe, Mg, Ca, Na, K
Milch	Spurenelemente***	ICP-OES	EN 13805:2002	***Fe, Mg, Ca, Na, K
Bestimmung von Pestiziden				
Tomate	Pestizide	LC-MS/MS	EN 15662:2009	

Einleitung

Thema dieser Sammlung ist die regulierte Lebensmittelanalytik. Es werden vollständige Lösungen für die regulierte instrumentelle Analyse dargestellt. Der Schwerpunkt liegt dabei auf allgemeinen Verfahren zur Untersuchung und Analyse von Lebensmitteln.

Alle vorgestellten Verfahren entsprechen internationalen Normen:

ISO (Internationale Organisation für Normung):

<http://www.iso.org/iso/home.html>

DIN (Deutsches Institut für Normung):

<http://www.din.de/en>

CEN (Europäische Normen, herausgegeben vom Europäischen Komitee für Normung):

<https://www.cen.eu/>

Es bietet sich an, die Besprechung der regulierten Lebensmittelanalyse mit der Definition des Begriffs Lebensmittel zu beginnen: Ein Lebensmittel ist ein Stoff, der zur Nährstoffversorgung verzehrt wird. Lebensmittel enthalten essenzielle Nährstoffe wie Fette, Proteine, Vitamine oder Mineralstoffe.

Lebensmittel sind typischerweise pflanzlichen oder tierischen Ursprungs, aber auch bestimmte Pilze sind essbar. Bei der Zubereitung von fermentierten und eingelegten Lebensmitteln (Sauerteigbrot, Käse usw.) werden auch Pilze und Umweltkeime verwendet. Anorganische Stoffe wie Salz und Backpulver werden verwendet, um Inhaltsstoffe zu konservieren oder chemisch zu verändern; sie dienen also als Lebensmittelzusatzstoffe.

Getränke sind Flüssigkeiten zum Trinken; hierzu gehören z.B. Tee, Kaffee, Spirituosen, Bier, Saft und Erfrischungsgetränke. Wasser wird in der Regel nicht dazugezählt. Die wichtigsten Arten von Erfrischungsgetränken sind trinkfertige, mit Essenzen aromatisierte Getränke (nahezu immer kohlenensäurehaltig), trinkfertige Getränke mit Obst oder Fruchtsaft sowie Getränke, die zum Trinken nach Verdünnung bestimmt sind.

Lebensmittel gibt es demnach sowohl in fester Form (Obst, Fleisch, Gemüse und auch gefrorene Flüssigkeiten wie Speiseeis) als auch in flüssiger Form (Getränke).

- Sind Energiegetränke Lebensmittel oder Nahrungsergänzungsmittel?
- Was ist der Unterschied zwischen einem Getränk und einem Nahrungsergänzungsmittel?
- Wann wird aus Speiseeis ein Getränk und in welchem Zustand ist es ein Lebensmittel?

Eine berechtigte Frage ist demnach, warum wir einerseits zwischen Lebensmitteln und Getränken unterscheiden, andererseits aber die Lebensmittel- und Getränkeindustrie als eine einzige Branche zusammenfassen, die sich auf die Versorgung mit Lebensmitteln spezialisiert.

Milch

Milch ist die Flüssigkeit, die von den Milchdrüsen von Säugetieren produziert wird. Milch kann modifiziert werden, indem ein Teil des enthaltenen Milchfetts entfernt wird oder indem Sahne, Milchkonzentrat, Vollmilchpulver, Magermilch, Magermilchkonzentrat oder fettfreies Milchpulver zugesetzt wird. Milch kann homogenisiert werden.

Der Codex Alimentarius gibt die folgenden Definitionen:

1. Milch ist das normale Milchdrüsensekret von milchgebenden Tieren, das aus einem oder mehreren Melkdurchgängen gewonnen wird und, ohne dass etwas zugesetzt oder daraus extrahiert wird, zum Verzehr als flüssige Milch oder zur Weiterverarbeitung vorgesehen ist.
2. Ein Milcherzeugnis ist ein Produkt, das durch jegliche Verarbeitung von Milch gewonnen wird und Lebensmittelzusatzstoffe und andere funktionelle, für die Weiterverarbeitung notwendige Inhaltsstoffe enthalten kann.
3. Ein zusammengesetztes Milchprodukt ist ein Produkt, bei dem Milch, Milchprodukte oder Milchbestandteile mengenmäßig einen wesentlichen Teil des verzehrfertigen Endprodukts ausmachen, vorausgesetzt, dass die Bestandteile, die nicht aus Milch stammen, nicht als teilweiser oder vollständiger Ersatz eines Milchbestandteils dienen.
4. Ein rekonstituiertes Milchprodukt ist ein Produkt, das aus der Zugabe von Wasser zu Milchpulver oder Milchkonzentrat in der notwendigen Menge zur Wiederherstellung des entsprechenden Wasser-Feststoff-Verhältnisses entsteht.
5. Ein rekombiniertes Milchprodukt ist ein Produkt, das aus der Kombination von Milchfett und festen fettfreien Milchbestandteilen in ihrer konservierten Form mit oder ohne Zugabe von Wasser entsteht, um die entsprechende Milchproduktzusammensetzung zu erreichen.
6. „Milchbegriffe“ umfassen Namen, Bezeichnungen, Symbole, bildhafte oder anderweitige Mittel, die direkt oder indirekt Milch oder Milchprodukte bezeichnen oder darauf hindeuten.

Nur ein Lebensmittel, das der Definition in Absatz 1 entspricht, darf als „Milch“ bezeichnet werden. Wenn dieses Lebensmittel unverändert zum Verkauf angeboten wird, ist es als „Rohmilch“ zu bezeichnen oder mit einer anderen geeigneten Bezeichnung zu versehen, die für den Kunden weder irreführend ist noch zu Verwechslungen Anlass gibt. Milch, die in ihrer Zusammensetzung durch den Zusatz und/oder die Entfernung von Milchbestandteilen verändert ist, kann mit einer Bezeichnung gekennzeichnet werden, die den Begriff „Milch“ enthält, unter der Voraussetzung, dass eine klare Beschreibung dieser vorgenommenen Veränderung in unmittelbarer Nähe der Bezeichnung „Milch“ angegeben wird.

Der weltweit größte Milchproduzent ist Indien; Neuseeland, die Mitgliedstaaten der Europäischen Union, Australien und die USA sind die größten Exporteure von Milch und Milchprodukten. China und Russland sind die weltweit größten Importeure von Milch und Milchprodukten.

Fleisch

Fleisch ist definiert als das essbare Gewebe eines Tieres, typischerweise eines Säugetieres oder eines Vogels. Das Fleisch von Hausgeflügel wird auch als Geflügelfleisch bezeichnet. Der essbare Teil von Obst oder Nüssen wird als Fruchtfleisch bezeichnet.

In der Gastronomie versteht man unter rotem Fleisch jenes Fleisch, das im Rohzustand rot und gekocht nicht von blasser Farbe ist, während weißes Fruchtfleisch vor und nach dem Kochen von blasser Farbe ist.

In der Wissenschaft wird rotes Fleisch als Fleisch definiert, das mehr Myoglobin enthält als weißes Fleisch, während weißes Fleisch als nicht dunkles Fleisch vom Huhn (ausgenommen Schenkel und Keule) oder vom Fisch definiert ist.

Schweinefleisch beispielsweise ist nach der Nährwertdefinition rotes Fleisch, aber nach der gastronomischen Definition weißes Fleisch. *Dies kann für Verwirrung sorgen.*

Lebensmitteluntersuchung

Die instrumentelle Analyse ist der Hauptschwerpunkt dieser Sammlung. Auf der nächsten Seite finden Sie aber auch einen Überblick über die etwas weiter gefasste Betrachtungsweise der Lebensmitteluntersuchung im Hinblick auf Biomonitoring und Schnelltests. Wir würden Ihnen also empfehlen, diesen umfassenderen Gesamtprozess zu betrachten. In der Praxis bedeutet dies, dass ein kommerzielles Produkt aus verarbeitetem Fleisch (zum Beispiel eine Wurst) nicht nur im Zuge des Herstellungsprozesses beeinflusst wird, sondern bereits durch den Boden, auf dem das Viehfutter angebaut wurde. Lebensmittelbezogene Untersuchungen sind daher mehr als nur die instrumentelle Analyse von Endprodukten. Man könnte beispielsweise argumentieren, dass auch Umweltuntersuchungen (d.h. von Boden- und Wasserqualität sowie die Überwachung der Luftqualität usw.) von Bedeutung seien.

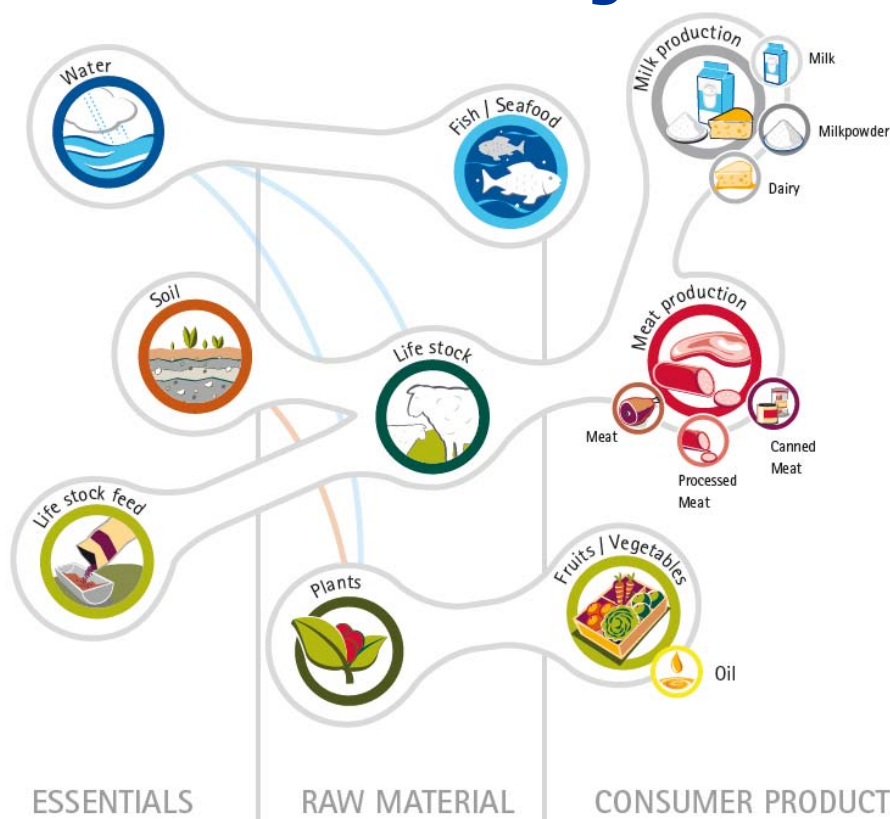
Auf den folgenden Seiten finden Sie HPLC- und UHPLC-Verfahren zum Giftstoff- und Pestizid-Screening (MS-Nachweis); Karl-Fischer (KF)-Verfahren zur Wasserbestimmung, Atomabsorptionsspektroskopie (AAS), Verfahren mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP) zur Bestimmung des Metallgehalts, GC-Verfahren für Fettsäuremethylester (FAME) und verschiedene Beispiele für klassische Titrationsanalysen.

Getrennte Abschnitte sind den verschiedenen analytischen Techniken gewidmet sowie neuen Informationen zu amtlichen Vorschriften und verschiedenen Gesetzesvorschriften zu Lebensmitteln.

Haftungsausschluss:

Wir informieren und beraten unsere Kunden über Anwendungstechnologien und behördliche Angelegenheiten nach unserem besten Wissen und Gewissen, jedoch ohne Verpflichtung oder Verantwortung. Bestehende Gesetze und andere Vorschriften sind in jedem Fall von unseren Kunden zu beachten. Dies gilt auch hinsichtlich der Rechte Dritter. Unsere Information und Beratung entbinden unsere Kunden nicht von der Verantwortung, unsere Produkte auf die Eignung für die vorgesehenen Zwecke zu prüfen. Apura®, Certipur®, Titripur®, Lichropur®, Lichrosolv®, Purospher® und Suprapur® sind Marken der Merck, KGaA, Darmstadt, Deutschland.

Lebensmitteluntersuchung – Übersicht



Analyseart	Wasser	Boden	Futter	Vieh/Gemüse	Herstellungs- verfahren	Endprodukt
Schnelltests	Abwasseranalyse: N in verschiedenen Formen	Nitrat, Phosphor, Schwefel		Ascorbinsäure, Zucker, Desinfektions- kontrolle, Nitrat, Schwefel	Ascorbinsäure, Zucker, Desinfektions- kontrolle	Milchsäure in Milch, pH-Wert in Fleisch, Hydroxymethylfurfural in Honig
Instrumentell	pH-Wert, Spurenelemente, Pestizide	Spurenelemente, Pestizide	Antibiotika	Pestizide, Giftstoffe		Schwermetalle, Pestizide, Antibiotika, Giftstoffe, Wassergehalt, Salzgehalt
Mikrobiologisch	Nur für Trinkwasser und Prozesswasser in der Lebensmittel- industrie: <i>E. coli</i> und coliforme Bakterien		Untersuchung auf Pathogene und Verderb: z.B. <i>Salmonellen</i> , Listerien, pathogene <i>E. coli</i> , Clostridien, Enterobakterien, Hefen & Schimmelpilze, <i>Aspergillus</i>		Umweltüber- wachung: Luftproben, Oberflächen- monitoring mit Abklatsch- platten und Objektträgern, ATP-Tests	Untersuchung auf Pathogene und Verderb: z.B. <i>Salmonellen</i> , Listerien, pathogene <i>E. coli</i> , Clostridien, Enterobakterien, Hefen & Schimmelpilze, <i>Aspergillus</i>

*In der Tabelle sind einige typische Beispiele aufgeführt.

pH-Messung in Fleisch und Fleischprodukten

ISO 2917:1999

Die Methode verwendet die gemessene Spannungsdifferenz zwischen einer Glaselektrode und einer Referenzelektrode, die beide in einen Probenextrakt des Fleisches oder Fleischprodukts gehalten werden.

Aufgrund der unterschiedlichen Probenart werden zwei verschiedene Verfahren verwendet:

1. das nicht destruktive Verfahren zur Messung in Schweinelende
2. das destruktive Verfahren zur Messung in einer fermentierten Wurst

Reagenzien (Bitte nur Reagenzien anerkannter Analysequalität verwenden, wenn nicht anders angegeben. Wasser sollte mindestens Grad 3 nach ISO 3696 entsprechen.)

In der Norm wird die Herstellung von Pufferlösungen beschrieben, wir bieten aber auch gebrauchsfertige Lösungen an:

Die folgenden Certipur® Lösungen sind auch mit 20 °C-Spezifikationen erhältlich.

Pufferlösungen:

1. Zitronensäure – Natriumhydroxid – Chlorwasserstoff, rückführbar auf SRM von NIST und PTB, pH 4,00 (25 °C), Certipur® (1.09445)
2. Kaliumdihydrogenphosphat – Dinatriumhydrogenphosphat, rückführbar auf SRM von NIST und PTB, pH 7,00 (25 °C), Certipur® (1.09407)
3. Borsäure – Kaliumchlorid – Natriumhydroxid, (rückführbar auf SRM von NIST und PTB, pH 9,00 (25 °C), Certipur® (1.09408)

Natronlauge

c(NaOH) = 1 mol/l (1 N), Titripur® Reag. Ph. Eur., Reag. USP (1.09137)

Reinigung:

Ethanol; 96 % EMSURE® Reag. Ph. Eur. (1.59010)

Diethylether; EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph. Eur. (1.00921)

Geräte

- Hochgeschwindigkeits-Cutter, geeignet zum Homogenisieren der Laborprobe (mit einem Durchmesser von höchstens 4,0 mm)
- pH-Messgerät, auf 0,01 pH-Einheiten genau
- Kombinierte Elektrode (Indikator- und Referenzelektrode in einem einzigen Stab)
- Stabhomogenisator (geeignet für eine Drehfrequenz von 20.000 min⁻¹)
- Magnetrührer

pH-Messung in Fleisch und Fleischprodukten

ISO 2917:1999

Die **Probenahme** ist nicht Teil dieser Norm, in ISO 3100-1 wird aber ein empfohlenes Verfahren beschrieben. Wichtig ist, dass Proben repräsentativ sind. Es empfiehlt sich, mit mindestens 200 g zu beginnen.

Kalibrierung des pH-Meters

Kalibrieren Sie das pH-Meter nach Herstellerangaben mit mindestens zwei Pufferlösungen unter Rühren mit dem Magnetrührer. Wenn das pH-Meter nicht über ein Temperaturkorrektursystem verfügt, sollte die Temperatur der Pufferlösung innerhalb des Bereichs von 20 ± 2 °C liegen.

Nicht destruktives Verfahren

Stechen Sie mit einem Messer oder einer scharfen Nadel ein Loch in die Probe und stecken Sie die Elektrode hinein. Wenn das pH-Meter nicht über ein Temperaturkorrektursystem verfügt, sollte die Temperatur der Probe innerhalb des Bereichs von 20 ± 2 °C liegen.

Verwenden Sie für die nicht destruktive Messung eine pH-Elektrode mit speerförmiger Spitze. Wählen Sie eine repräsentative Stelle der Probe. Wenn es zweckdienlich ist zu wissen, inwieweit sich die pH-Werte an verschiedenen Stellen der Probe unterscheiden, wiederholen Sie die Messung an unterschiedlichen Stellen der Probe.

Destruktives Verfahren

Homogenisieren Sie die Laborprobe. Sorgen Sie dafür, dass die Temperatur der Probe nicht auf über 25 °C ansteigt. Homogenisieren Sie eine bestimmte Masse der vorbereiteten Probe in einem Überschuss (10-fache Menge) von Kaliumchloridlösung mit einem Stabhomogenisator. Halten Sie die Elektroden in den Probenextrakt und stellen Sie das Temperaturkorrektursystem des pH-Meters auf die Temperatur des Extrakts ein. Wenn das pH-Meter nicht über ein Temperaturkorrektursystem verfügt, sollte die Temperatur der Probe innerhalb des Bereichs von 20 ± 2 °C liegen. Messen Sie den pH-Wert unter Rühren mit dem Magnetrührer. Wenn ein konstanter Wert erreicht ist, lesen Sie den pH-Wert direkt von dem Instrument ab.

Tipps:

Füllen Sie die homogenisierte Probe in einen geeigneten luftdichten Behälter. Es empfiehlt sich, die Probe sobald wie möglich zu analysieren, stets jedoch innerhalb von 24 h nach der Homogenisierung. Es sollte der genaue Zeitpunkt der pH-Messung notiert werden. Bei frischem Fleisch, das in der Regel bei Temperaturen von 0–5 °C aufbewahrt wird, muss ein Temperaturkorrektursystem verwendet werden.

Ergebnisse (geben Sie das Ergebnis auf 0,05 pH-Einheiten genau an).

Schweinelende: 5,80; 5,75; 5,90

Fermentierte Wurst: 4,95; 5,00; 4,95

pH-Bestimmung in Obst und Gemüse

ISO 1842:1991

Die Methode verwendet die Spannungsdifferenz, die zwischen zwei Elektroden gemessen wird, die in die zu untersuchende Flüssigkeit getaucht werden.

Reagenzien (Bitte nur Reagenzien anerkannter Analysequalität verwenden, wenn nicht anders angegeben. Wasser sollte mindestens Grad 3 nach ISO 3696 entsprechen.)

In der Norm wird die Herstellung von Pufferlösungen beschrieben, wir bieten aber auch gebrauchsfertige Lösungen an:

Die folgenden Certipur® Lösungen sind auch mit 20 °C-Spezifikationen erhältlich.

Pufferlösungen:

1. Zitronensäure – Natriumhydroxid – Chlorwasserstoff, rückführbar auf SRM von NIST und PTB, pH 4,00 (25 °C), Certipur® (1.09445)
2. Kaliumdihydrogenphosphat – Dinatriumhydrogenphosphat, rückführbar auf SRM von NIST und PTB, pH 7,00 (25 °C), Certipur® (1.09407)
3. Borsäure – Kaliumchlorid – Natriumhydroxid, rückführbar auf SRM von NIST und PTB, pH 9,00 (25 °C), Certipur® (1.09408)

Geräte

- pH-Messgerät, auf 0,01 pH-Einheiten genau
- Kombinierte Elektrode (Indikator- und Referenzelektrode in einem einzigen Stab)

pH-Messung in Obst und Gemüse

ISO 1842:1991

Kalibrierung des pH-Meters

Kalibrieren Sie das pH-Meter nach Herstellerangaben mit mindestens zwei Pufferlösungen unter Rühren mit dem Magnetrührer. Wenn das pH-Meter nicht über ein Temperaturkorrektursystem verfügt, sollte die Temperatur der Pufferlösung innerhalb des Bereichs von 20 ± 2 °C liegen.

Probenvorbereitung

- Flüssige Produkte: Mischen Sie die Laborprobe sorgfältig, bis sie homogen ist.
- Dickflüssige oder halbflüssige Produkte: Mischen Sie einen Teil der Laborprobe und zerkleinern Sie diesen bei Bedarf mit einem Mixer oder in einem Mörser. Wenn das erhaltene Produkt immer noch zu dickflüssig ist, fügen Sie die gleiche Menge destilliertes Wasser hinzu und mischen Sie gut.

Teilprobe

Verwenden Sie als Teilprobe ein Volumen der vorbereiteten Probe, das je nach verwendetem Gerät ausreicht, um die Elektroden darin einzutauchen.

Bestimmung

Halten Sie die Elektroden in die Teilprobe und stellen Sie das Temperaturkorrektursystem des pH-Meters auf die Temperatur der Messung ein.

Führen Sie die Bestimmung mit dem für das verwendete pH-Meter geeigneten Verfahren durch. Sobald ein konstanter Wert erreicht ist, lesen Sie den pH-Wert direkt ab, mindestens auf 0,05 pH-Einheiten genau. Führen Sie zwei Bestimmungen in zwei getrennten Teilproben durch.

Notieren der Ergebnisse

Nehmen Sie als Ergebnis das arithmetische Mittel der Ergebnisse der beiden Bestimmungen. Geben Sie das Ergebnis auf mindestens 0,05 pH-Einheiten genau an.

pH-Werte der analysierten Proben:

Apfelsaft: 3,70 und 3,70	Mittel: 3,70
Orangensaft: 3,99 und 3,99	Mittel: 3,99
Aprikosenmarmelade: 3,46 und 3,47	Mittel: 3,47
Karottenpüree: 4,60 und 4,59	Mittel: 4,60

Chloridgehalt in Fleisch und Fleischprodukten

ISO 1841-1:1996

Das Verfahren besteht in der Extraktion einer Teilprobe mit heißem Wasser und der Fällung von Proteinen. Nach Filtration und Ansäuerung wird Silbernitratlösung zum Extrakt gegeben, und die Titration wird aus dem Überschuss mit Kaliumthiocyanatlösung durchgeführt.

Reagenzien (Bitte nur Reagenzien anerkannter Analysequalität verwenden, wenn nicht anders angegeben.
Wasser sollte mindestens Grad 3 nach ISO 3696 entsprechen.)

Wasser, destilliert und halogenfrei (zur Chromatographie; LiChrosolv® (1.15333)
Nitrobenzol, ACS-Reagenz, $\geq 99,0\%$ (8.06770)
Salpetersäure; Suprapur®, $c(\text{HNO}_3) = 4 \text{ mol/l}$ (1.00441)

Testsatz zur Carrez-Klärung. Reagenziensatz für die Probenvorbereitung in der Lebensmittelanalytik, 5-fach-Konzentrat (1.10537)
(Der gebrauchsfertige Testsatz zur Carrez-Klärung kann die Analyse beschleunigen)

Silbernitratlösung; Reag. Ph. Eur., Reag. USP; $c(\text{AgNO}_3) = 0,1 \text{ mol/l}$ (0,1 N), Titripur® (1.09081)
Kaliumthiocyanat, EMPLURA® (1.05124)
Ammoniumeisen(III)sulfat, EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph. Eur. (1.03776)

Lösen Sie ca. 9,7 g Kaliumthiocyanat in Wasser auf.
Überführen Sie die Lösung quantitativ in einen 1000-ml-Messkolben und füllen Sie bis zur Markierung mit Wasser auf.
Eichen Sie die Lösung auf 0,0001 mol/l genau gegen die Silbernitratlösung mit der Ammoniumeisen(III)-sulfat-Lösung als Indikator.

Geräte:

Analysenwaage
Homogenisiergeräte
Messkolben, Fassungsvermögen 200 ml
Erlenmeyerkolben, Fassungsvermögen 250 ml
Bürette, Fassungsvermögen 50 ml
Siedewasserbad

Chloridgehalt in Fleisch und Fleischprodukten

ISO 1841-1:1996

Verfahren:

Wiegen Sie ca. 10 g der Probe (auf 0,001 g genau) ab und überführen Sie diese Teilprobe quantitativ in einen Erlenmeyerkolben.

Deproteinisierung (Entfernung von Proteinen aus der Probe)

1. Fügen Sie 100 ml heißes Wasser zu der Teilprobe hinzu.
2. Erhitzen Sie den Kolben samt Inhalt 15 Minuten lang im siedenden Wasserbad.
3. Schütteln Sie dabei alle 3–5 Minuten den Inhalt des Kolbens.
4. Lassen Sie Kolben und Inhalt auf Raumtemperatur abkühlen und fügen Sie 2 ml Carrez-I- und 2 ml Carrez-II-Lösung hinzu. Mischen Sie gründlich nach jeder Zugabe.

Lassen Sie den Kolben 30 Minuten lang bei Raumtemperatur stehen.

Überführen Sie den Inhalt quantitativ in einen 200-ml-Messkolben und füllen Sie bis zur Markierung mit Wasser auf. Mischen Sie den Inhalt und filtrieren Sie ihn durch einen Faltenfilter.

Bestimmung:

Überführen Sie 20 ml des Filtrats in einen Erlenmeyerkolben und fügen Sie 5 ml der verdünnten Salpetersäure und 1 ml der Ammonium Eisen(III)sulfatlösung als Indikator hinzu. Überführen Sie 20 ml der Silbernitratlösung in den Erlenmeyerkolben; fügen Sie dann 3 ml Nitrobenzol hinzu und mischen Sie gründlich. Schütteln Sie kräftig, um das Präzipitat zu koagulieren. Titrieren Sie den Inhalt des Erlenmeyerkolbens mit Kaliumthiocyanat, bis eine bleibende rosarote Färbung eintritt. Notieren Sie das Volumen der benötigten Kaliumthiocyanatlösung auf 0,05 ml genau.

Blindversuch: Führen Sie einen Blindversuch mit demselben Volumen Silbernitratlösung durch.

Berechnung: Chloridgehalt = $58,44 \times (V_2 - V_1) / m \times C$

V₁ ist das Volumen der in der Bestimmung verwendeten Kaliumthiocyanatlösung in Millilitern

V₂ ist das Volumen der in dem Blindversuch verwendeten Kaliumthiocyanatlösung in Millilitern

m ist die Masse der Teilprobe in Gramm

C ist die Konzentration der Kaliumthiocyanatlösung in Mol pro Liter

Berechnung für die analysierte Probe (2015/34018)

V₁ = 16,75; V₂ = 19,90; m = 10,112 und c = 0,1

Chloridgehalt = 1,82 %

Salzgehalt = 3,00 %

(Tipps: Zur Berechnung des Salzgehalts: Chlorid x 1,65

Fettsäuremethylester (FAME) in Ölproben

EN ISO 12966-2:2011 und EN ISO 12966-4:2015

Die Methode nutzt die Tatsache, dass durch Transmethylierung mit methanolischer Kaliumhydroxidlösung Methylester gebildet werden. Mithilfe von Kapillargaschromatographie werden Fettsäuremethylester (FAME) auf einer stark polaren stationären Phase nach ihrer Kettenlänge, dem Sättigungsgrad sowie der Geometrie und Lage der Doppelbindungen getrennt.

In den vorgestellten Normen wird der Arbeitsablauf beschrieben, entsprechende Produkte finden Sie nachstehend:

Reagenzien (Bitte nur Reagenzien anerkannter Analysequalität verwenden, wenn nicht anders angegeben.
Wasser sollte mindestens Grad 3 nach ISO 3696 entsprechen.)

Wasser, destilliert und halogenfrei (zur Chromatographie; LiChrosolv® (1.15333)
Methanol für die Gaschromatographie, ECD und FID, SupraSolv® (1.06011)
Natriumhydrogensulfat-Monohydrat, zur Analyse, EMSURE® (1.06352)
Isooctan für die Gaschromatographie, ECD und FID, SupraSolv® (1.15440)
Kaliumhydroxid; Plättchen zur Analyse, EMSURE® (1.05033)

FAME-Standards

Geräte:

Reagenzgläser mit Schraubverschluss, 10 ml
Kleine Probengefäße aus Glas
Messkolben, Fassungsvermögen 50 und 100 ml

Gaschromatograph mit FID, ausgestattet mit:
GC-Kapillarsäule: SLB®-IL60 GC-Kapillarsäule; L×I.D. 60 m × 0,32 mm, df 0,26 µm

Analysebedingungen:

Trärgas: Helium, 2,2 ml/min; Flammengase: Wasserstoff und Luft; Make-up-Gas: Stickstoff
Injektortemperatur: 250 °C
Detektortemperatur (FID): 300 °C
Ofentemperatur: siehe Tabelle
Injektionsvolumen: 1 µL

Zeit (min)	Temperatur (°C)
0-2	80
2-152	80-230 (1 °C/min)
152-162	230

Fettsäuremethylester (FAME) in Ölproben

EN ISO 12966-2:2011 und EN ISO 12966-4:2015

Verfahren: (Probe: Sonnenblumenöl – hoher Ölsäuregehalt)

1. Darstellung von Fettsäuremethylestern

Pipettieren Sie 60 µl der Testprobe in ein 10-ml-Reagenzglas mit Schraubdeckel.

Fügen Sie 5 ml Isooctan hinzu und mischen Sie mit einem Vortex-Mischer.

Fügen Sie 400 µl Kaliumhydroxidlösung (2 mol/l) hinzu, verschließen Sie das Reagenzglas sofort fest mit der Verschlusskappe und schütteln Sie es kräftig 1 min lang. Die Lösung wird klar und kurz darauf wieder trüb, wenn sich Glycerin abtrennt. Lassen Sie die Lösung ca. 2 min lang stehen.

Fügen Sie ca. 1 g Natriumhydrogensulfat zu und schütteln Sie kurz. Saugen Sie die Isooctanschicht ab und überführen Sie diese in ein Probengefäß. Die Isooctanlösung ist geeignet für die Analyse mittels GC.

2. Berechnungen

Die einzelnen FAMEs werden anhand ihrer Retentionszeiten und dem Vergleich mit FAME-Referenzstandards identifiziert. Bei der Berechnung der Fettsäurezusammensetzung sollten Signalpeaks mit unbekannter Identität bei der Summierung der Peakflächen nicht einbezogen werden, wenn nicht bestätigt wurde, dass es sich dabei um Fettsäuren handelt. Es ist auch möglich, unbekannte Peaks als solche zusammenzufassen.

$AFFAME = AFAME / \Sigma A \times 100$; dabei ist:

AFFAME: der Flächenanteil einzelner Fettsäuremethylester

AFAME: die Fläche des einzelnen Fettsäuremethylesters

ΣA : die Summe der Flächen unter allen Peaks aller einzelnen Fettsäuremethylester

Ergebnisse:

FAME	Retentionszeit (min)	%
Methylpalmitat	68,4	4,10
Methylpalmitoleat	70,8	0,15
Methyloctadecanoat	82,7	2,94
Ölsäuremethylester	84,6	83,5
Methylinolenat	88,2	5,95
Gamma-Linolensäuremethylester	92,8	0,11
Methyl-cis-11-Eicosenoat	95,6	0,42
Methylinolenat	97,3	0,30
cis-11,14,17-Eicosatriensäuremethylester	107,8	0,97
Methyl-cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoat	119,1	0,33
Nicht identifiziert		1,21
Summe		100,00

Bestimmung von Blei und Cadmium in Fisch

EN 14084:2003

Mit diesem Verfahren werden Proben analysiert, die in geschlossenen Gefäßen mithilfe von Salpetersäure und einem Mikrowellengerät aufgeschlossen wurden. Die resultierende Lösung wird mit Wasser verdünnt; Blei- und Cadmiumgehalt werden mithilfe von Graphitofen-Atomabsorptionsspektrometrie (GFAAS) mit Matrixmodifizier bestimmt.

Reagenzien (Bitte nur Reagenzien anerkannter Analysequalität verwenden, wenn nicht anders angegeben. *Wasser sollte mindestens Grad 3 nach ISO 3696 entsprechen.*) Verwenden Sie also nur Reagenzien/Wasser mit einem Elementgehalt, der so gering ist, dass er das Ergebnis nicht beeinflusst.

Wasser, LiChrosolv® (1.15333)
Salpetersäure 65 %, Suprapur® (1.00441)
Magnesiumnitrat-Hexahydrat, 99,99 %, Suprapur® (1.05855)

Blei (1000 mg/l Pb in HNO₃, 0,5 mol/l), rückführbar auf SRM des NIST, Certipur® (1.19776)
Cadmium (1000 mg/l Cd in HNO₃, 0,5 mol/l), rückführbar auf SRM des NIST, Certipur® (1.19777)

Geräte:

Labormühle (z.B. Messermühle)
Labor-Mikrowellengerät
Atomabsorptionsspektrometer
Graphitrohrchen
Elementspezifische Lampen

Bestimmung von Blei und Cadmium in Fisch

EN 14084:2003

Verfahren:

1. Homogenisieren Sie die Probe mit einer Labormühle.

Empfehlung: In einigen Fällen ist es notwendig, die Probe zu trocknen, und zwar ohne, dass der Elementgehalt beeinflusst wird, z.B. durch Gefriertrocknung.

2. Probenvorbereitung

- Wiegen Sie 0,5–1,5 g der Probe in einem Gefäß ab.
- Fügen Sie 5,0 ml Salpetersäure hinzu. Nach 30 Minuten fügen Sie 5,0 ml destilliertes Wasser hinzu und mischen vorsichtig.
- Lassen Sie Proben zum Voraufschluss mindestens 15 Minuten lang offen stehen, bevor Sie die Gefäße verschließen und mit dem Erwärmen beginnen.

Typischerweise umfasst ein Mikrowellenprogramm eine Phase von einigen Minuten bei niedriger Leistung mit steigender Temperatur, gefolgt von einer oder mehr Phasen bei höherer Leistung. Es wird eine allmähliche Steigerung zwischen den gewählten Phasen empfohlen, um zu verhindern, dass innerhalb der Druckgefäße plötzliche Druckspitzen auftreten.

Empfehlung: Proben mit einem hohen Kohlenstoffgehalt (z.B. Zucker, Fett) können zu plötzlichen Druckspitzen während des Prozesses führen. Lassen Sie diese Proben zum Voraufschluss über Nacht stehen.

3. Programm zur Mikrowellenerwärmung

Schritt	Zeit (min)	Temperatur (°C)
1	20	bis zu 200 °C
2	20–30	200 °C
3	30 und mehr	Abkühlen

Empfehlung: Seien Sie vorsichtig beim Aufschluss unbekannter Proben, da eine zu große Probenmenge zum Bersten der Sicherheitsmembran des Aufschlussgefäßes führen kann. Insbesondere Proben mit einem hohen Kohlenstoffgehalt (z.B. Zucker und Fett) können plötzliche Druckspitzen während des Prozesses verursachen. In jedem Fall sollten die Empfehlungen des Herstellers bezüglich der Probenmenge genau eingehalten werden.

Bestimmung von Blei und Cadmium in Fisch

EN 14084:2003

4. Messung mit der Graphitofentechnik

Zur Bestimmung von Blei und Cadmium ist die Graphitofentechnik erforderlich. Verwenden Sie pyrolytisch beschichtete Rohre mit Plattform. Programmieren Sie den automatischen Probenehmer so, dass er ein Probenvolumen in den Graphitofen abgibt, dessen Hintergrund-Extinktion nicht mehr als 0,5 Extinktionseinheiten beträgt.

Geräteparameter bei einem Injektionsvolumen von 20 µl.

Element	Wellenlänge (nm)	Hintergrund korrektur	Parameter	Schritt 1	Schritt 2	Schritt 3	Schritt 4
Cd	228,8	Zeeman	Temp. (°C)	110	450	1000	2500
			Steigerung (°C/Sek)	10	150	0	0
			Wartezeit (Sek)	30	20	3	3
Pb	217	Zeeman	Temp. (°C)	120	800	1200	2500
			Steigerung (°C/Sek)	10	150	0	0
			Wartezeit (Sek)	10	20	3	3

5. Berechnung

Erstellen Sie eine Standardkurve und lesen Sie die Konzentration des Metalls aus der Kurve ab.

Berechnen Sie den Gehalt (c) als Massenanteil des zu bestimmenden Elements in µg/kg der Probe:

$$c = ((a-b) \times V) / m$$

a: ist die Konzentration der Probenlösung in µg/l.

b: ist die mittlere Konzentration in der Blindprobenlösung in µg/l.

V: ist das Volumen der Probenlösung in ml.

m: ist die Probenmasse in Gramm.

Ergebnis:

(für Probe 2015/33632

- *Patagonotothen* spp - Fisch)

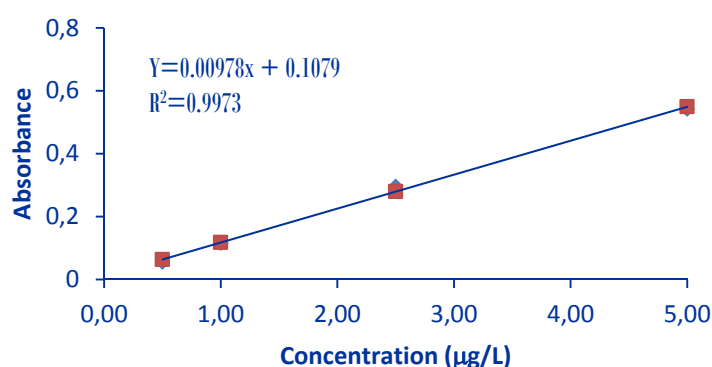
	Blei	Cadmium
m (g)	1,0115	1,0015
a	0,8493	0,3025
b	-	-
V (ml)	100	100
C (µg/kg)	84	29,9

Bestimmung von Blei und Cadmium in Fisch

EN 14084:2003

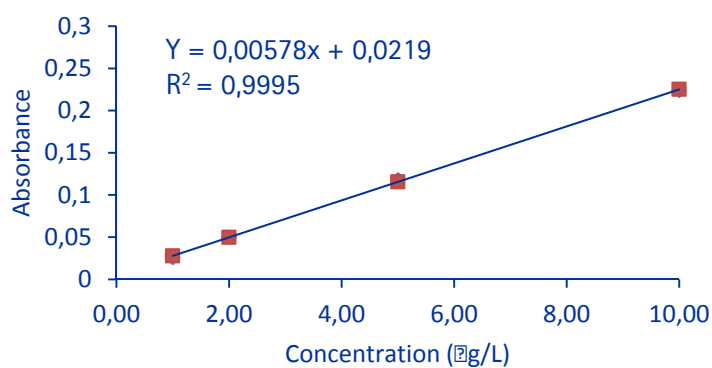
6. Kalibrierungsdaten – Cadmium (Cd)

Proben-ID	"SignalAbs" (Höhe)	"Konz." (µg/l)
Cd-Blindprobe	0,002	0,0000
Cd-Standard 1	0,056	0,5000
Cd-Standard 2	0,116	1,0000
Cd-Standard 3	0,296	2,5000
Cd-Standard 4	0,542	5,0000
Cd-Blindprobe	0,002	0,0005
Cd-Blindprobe	0,002	0,0065
Cd 33632	0,034	0,3025
Cd Ha94	0,191	1,6413
Pb-Std, 2,5 ppb	0,296	2,4974
Cd-Blindprobe	0,002	0,0005



7. Kalibrierungsdaten – Blei (Pb)

Proben-ID	"SignalAbs" (Höhe)	"Konz." (µg/l)
Pb-Blindprobe	0,003	0,0000
Pb-Standard 1	0,026	1,0000
Pb-Standard 2	0,050	2,0000
Pb-Standard 3	0,118	5,0000
Pb-Standard 4	0,224	10,0000
Pb-Blindprobe	0,003	0,0022
Pb-Blindprobe	0,002	-0,0218
Pb 33632	0,022	0,8493
Pb Ha94	0,036	1,4433
Pb-Std, 25,0 ppb	0,122	5,2115
Pb-Blindprobe	0,002	-0,0524



„Pb Ha94“ und „Cd Ha94“ sind Referenzmaterialien.

Bestimmung von Deoxynivalenol (DON)

EN 15791:2009

Deoxynivalenol (DON) wird mithilfe von Wasser aus der Probe extrahiert. Der wässrige Extrakt wird mit einer Immunoaffinitätssäule gereinigt, um Verunreinigungen aus der Probe zu entfernen. Anschließend wird DON durch HPLC mit UV-Detektion quantitativ bestimmt.

Die EN-Norm beschreibt das vollständige Verfahren; nachstehend finden Sie passende Produkte:
Reagenzien (Bitte nur Reagenzien anerkannter Analysequalität verwenden, wenn nicht anders angegeben.

Methanol für die Gradientenanalyse; LiChrosolv®, Reag. Ph. Eur. (1.06007)
Wasser, LiChrosolv® (1.15333)

Deoxynivalenol (DON) Analysenstandard

DON-Kalibrierungslösung: 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1,0 und 2,5 µg/ml

Geräte:

Analysenwaage
Homogenisator
Laborschüttler
Vortex-Mischer
Schraubdeckelkolben, Fassungsvermögen 500 ml
Trichter
Filterpapier
Messkolben
Verdampfer mit Luft- oder Stickstoffstrom

DON-Immunoaffinitätssäulen zur Aufreinigung

HPLC-System, ausgestattet mit:

Analytische Säule: Purospher® STAR RP-18, mit Endcapping (5 µm), Hibar®, 125 x 4 mm (1.50036)
Ausgestattet mit Purospher® STAR RP-18, mit Endcapping (5 µm), LiChroCART® 4-4 Vorsäulen (1.50250)

Bestimmung von Deoxynivalenol (DON)

EN 15791:2009

1. Probenvorbereitung:

- Die Proben sollten mithilfe einer Mühle fein gemahlen und gründlich durchmischt werden.
Wir haben Weizen (Id2015/B/4586) als Probenmatrix verwendet.

2. Probenextraktion

Wiegen Sie eine Teilprobe von 25,0 g in einem 500 ml Schraubdeckelkolben ab.
Fügen Sie 200 ml vollentsalztes Wasser hinzu, verschließen Sie den Kolben und schütteln Sie ihn 1 h lang auf einem Schüttler.
Bereiten Sie einen Trichter mit Filterpaper vor.
Filtrieren Sie die extrahierte Probe in einen sauberen 500-ml-Schraubdeckelkolben.

Tipps: Manchmal dauert die Filtration sehr lange. Sie kann durch die Anwendung von zwei Filterpapieren mit unterschiedlicher Porengröße beschleunigt werden.

3. Immunoaffinitätssäulen-Reinigung

Befestigen Sie einen Vorratsbehälter an einer Immunoaffinitätssäule. Überführen Sie 2,0 ml des filtrierten Extrakts in den Vorratsbehälter. Lassen Sie die Lösung durch Schwerkraft langsam, mit einer Geschwindigkeit von 1–2 Tropfen/Sekunde, durch die Säule laufen. Wenn der Extrakt vollständig durch die Immunoaffinitätssäule gelaufen ist, lassen Sie 5 ml vollentsalztes Wasser durch die Säule laufen. Entfernen Sie verbleibende Flüssigkeit, indem Sie ca. 5 Sekunden lang Stickstoff oder Luft durch die Säule leiten. Verwerfen Sie das Eluat aus diesem Schritt des Reinigungsverfahrens vollständig.

Tipps: Die Kapazität der verwendeten Immunoaffinitätssäule muss regelmäßig überprüft werden. Die Säule sollte eine Kapazität von mindestens 2500 ng aufweisen.

Schließlich stellen Sie ein HPLC-Autosampler-Gefäß unter die Säule, lassen 0,5 ml Methanol durch die Säule laufen und sammeln das Eluat. Nachdem die letzten Tropfen Methanol durch die Säule gelaufen sind, lassen Sie das Methanol ca. 1 Minute lang auf der Säule einwirken. Dann fügen Sie 1,0 ml Methanol hinzu und sammeln das Eluat. Leiten Sie vorsichtig Stickstoff oder Luft durch die Säule, um verbliebenes Eluat zu sammeln.

4. Vorbereitung der Testlösung für die HPLC-Analyse

Stellen Sie das Gefäß mit dem Eluat in den Verdampfer und verdampfen Sie vorsichtig unter Stickstoff oder Luft bei ca. 50 °C zum trocknen. Kühlen Sie das HPLC-Gefäß anschließend sofort auf Raumtemperatur ab und rekonstituieren Sie den Rückstand mit 1,0 ml mobiler Phase für die HPLC. Mischen Sie gründlich mindestens 30 Sekunden lang auf dem Vortex-Mischer, um sicherzustellen, dass der Rückstand vollständig aufgelöst ist. Wenn die Testlösung trüb ist, filtrieren Sie sie durch einen Spritzenvorsatzfilter.

Bestimmung von Deoxynivalenol (DON)

EN 15791:2009

5. Chromatographische Bedingungen

Säule:	Purospher® STAR RP-18, mit Endcapping (5 µm), 125 x 4 mm, Hibar® (1.50036)
Injektion:	100 µl
Detektion:	UV-Detektion bei 220 nm
Flussrate:	0,7 ml/min
Mobile Phase:	Methanol / Wasser 20:80 (v/v)
Temperatur:	25 °C
Verdünnungsmittel:	Mobile Phase
Probe:	Weizen
Druckverlust:	120 bar

6. Berechnung

$w(\text{DON}) = c(\text{DON}) \times (V(3))/(V(2)) \times (V(1))/(m(s))$, dabei ist

$c(\text{DON})$ die Massenkonzentration von DON, bestimmt durch Kalibrierung,
 $V(1)$ das Gesamtvolumen des Extraktionslösungsmittels (200 ml),
 $V(2)$ das Volumen der Teilprobe des Extrakts, das zur Aufreinigung verwendet wurde,
 $V(3)$ das Gesamtvolumen der Testlösung,
 $m(s)$ die Masse der extrahierten Teilprobe.

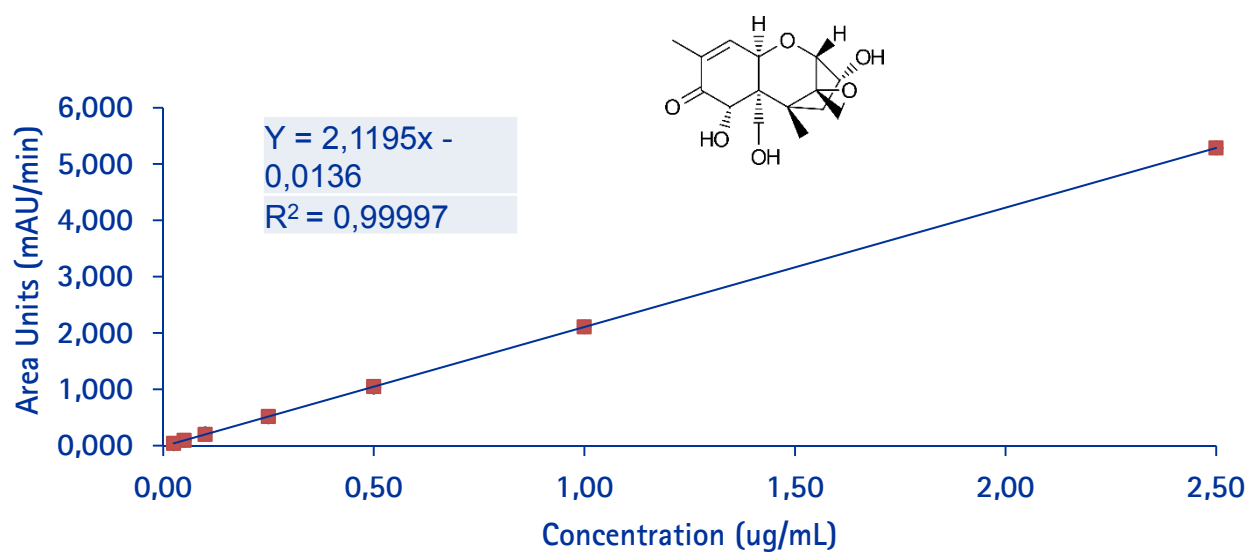
Berechnung für Probe 2015/B/4586

$c(\text{DON})$:	1.221
$V(1)$:	200 ml
$V(2)$:	2 ml
$V(3)$:	1 ml
$m(s)$:	25 g
$w(\text{DON})$:	4,9 mg/kg

In der analysierten Probe konnten demnach 4,9 mg/kg Deoxynivalenol (DON) nachgewiesen werden.

Bestimmung von Deoxynivalenol (DON)

EN 15791:2009

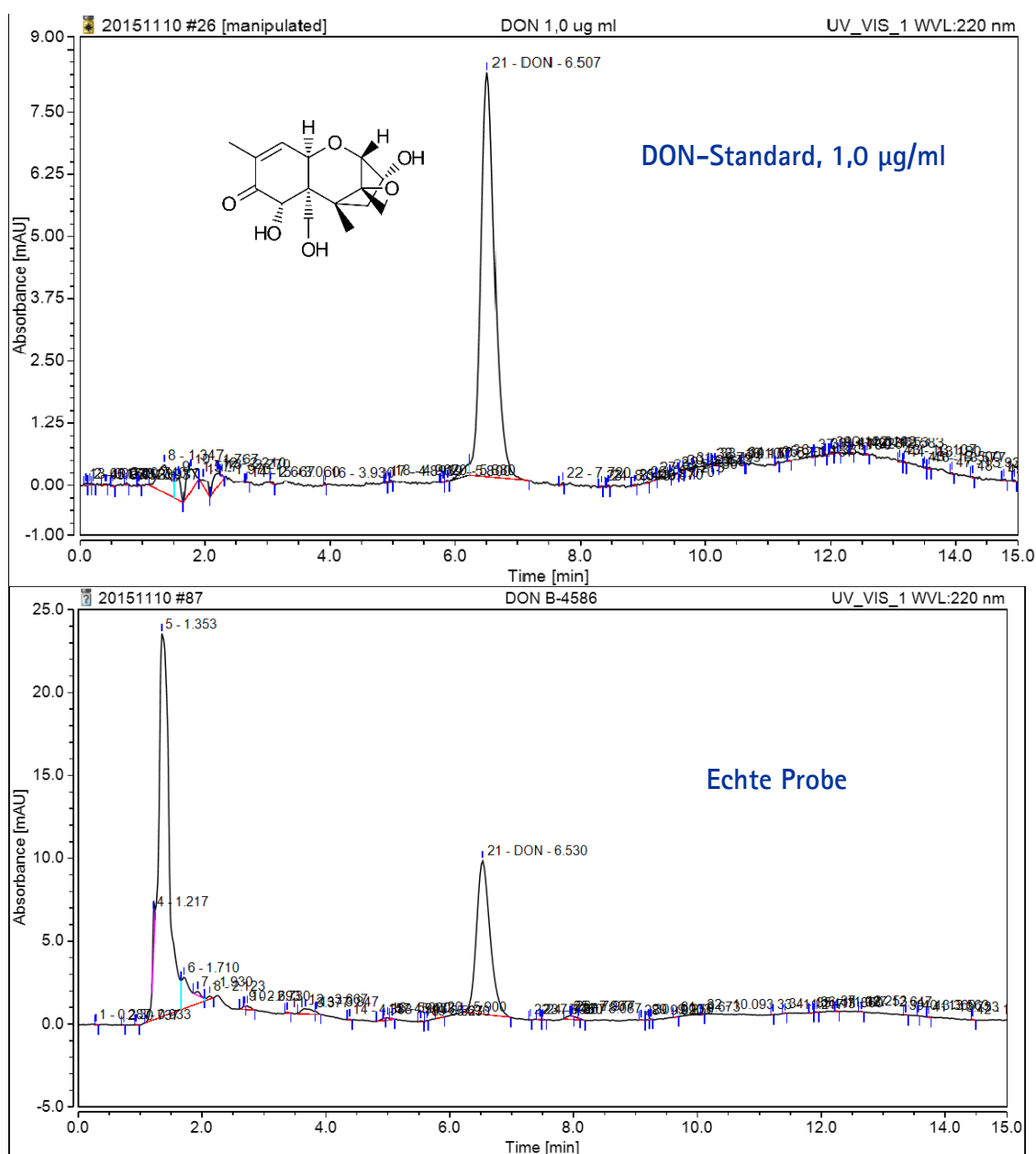


Kalibrierungsergebnisse

ID	Kalibrierungs-niveau	Konzentration (µg/ml)	Fläche (mFE/min)	Höhe (mFE)
DON 2,5 µg/ml	04	2,5000	5,286	18,75
DON 1,0 µg/ml	05	1,0000	2,109	8,107
DON 0,5 µg/ml	01	0,5000	1,034	4,127
DON 0,25 µg/ml	02	0,2500	0,509	1,777
DON 0,1 µg/ml	03	0,1000	0,219	0,961
DON 0,05 µg/ml	06	0,0500	0,092	0,398
DON 0,025 µg/ml	07	0,0250	0,034	0,176

Bestimmung von Deoxynivalenol (DON)

EN 15791:2009



		Verweilzeit (min)	Breite 50 % (min)	Auflösung (EP)	Asymmetrie (EP)	Theor. Böden (EP)
1	DON	6,5	0,23	5,1	1,2	4285

Dieselbe Probe – verschiedene Methoden

Auf den folgenden Seiten sind Beispiele für die Analyse des Salzgehalts für dieselben Proben (eine Art italienischer Aufschnitt und eine Salami) mit unterschiedlichen Analysentechniken aufgeführt. Der Natriumgehalt wird mittels Atomabsorptionsspektroskopie, der Chloridgehalt mittels Titration bestimmt.

Für die Nährwertbestimmung gemäß EU-Verordnung Nr. 1169/2011 muss der Salzgehalt auf dem Produktetikett angegeben sein (früher war nur der Natriumgehalt angegeben). Nach dieser Vorschrift darf der Salzgehalt nur anhand des Natriumgehalts berechnet werden ($\text{Salzgehalt} = \text{Natriumgehalt} \times 2,5$). Es gibt andere Vorschriften, in denen Grenzwerte für Natriumchlorid angegeben sind. Es ist nicht vorgeschrieben, welche Art der Messung (chloridbasiert oder natriumbasiert) angewendet werden soll.

Der Vorteil eines chloridbasierten Verfahrens ist die Geschwindigkeit (viel schneller); zudem sind dafür keine großen Kapitalinvestitionen in Geräte erforderlich. In der Regel verwenden alle betriebsinternen Labore in der Fleischindustrie das chloridbasierte Verfahren. Ein Titrationsverfahren ist jedoch weniger exakt und weist eine größere Unsicherheit auf.

Bei der Natriumbestimmung wird ein spezielles Gerät benötigt. Dies ist jedoch das präzisere Verfahren, das zur Nährwertbestimmung angewendet werden muss.

Die Erfahrung aus der Industrie zeigt, dass besonders in der Fleischindustrie neben Kochsalz verschiedene Lebensmittelzusatzstoffe verwendet werden, die ebenfalls Natrium enthalten (z.B. Natriumnitrit). In diesem Fall ist der auf Natrium basierte Salzgehalt für gewöhnlich höher als der auf Chlorid basierte Salzgehalt. Die letztere Aussage wird in diesem Beispiel bestätigt, in dem ein Unterschied von 0,22 bzw. 0,14 % im Salzgehalt für die Proben von italienischem Aufschnitt und Salami berechnet wurde.

Chloridgehalt in Fleisch und Fleischprodukten

ISO 1841-1:1996

Das Verfahren besteht in der Extraktion einer Teilprobe mit heißem Wasser und der Fällung von Proteinen. Nach Filtration und Ansäuerung wird Silbernitratlösung zum Extrakt gegeben, und die Titration wird aus dem Überschuss mit Kaliumthiocyanatlösung durchgeführt.

Reagenzien (Bitte nur Reagenzien anerkannter Analysequalität verwenden, wenn nicht anders angegeben.)

Wasser, destilliert und halogenfrei (zur Chromatographie; LiChrosolv® (1.15333) *Wasser sollte mindestens Grad 3 nach ISO 3696 entsprechen.*)

Nitrobenzol, $\geq 99,0\%$ (8.06770)

Salpetersäure; Suprapur®, $c(\text{HNO}_3) = 4 \text{ mol/l}$ (1.00441)

Testsatz zur Carrez-Klärung. Reagenziensatz für die Probenvorbereitung in der Lebensmittelanalytik, 5-fach-Konzentrat (1.10537)

(Der gebrauchsfertige Testsatz zur Carrez-Klärung kann die Analyse beschleunigen)

Silbernitratlösung; Reag. Ph. Eur., Reag. USP; $c(\text{AgNO}_3) = 0,1 \text{ mol/l}$ (0,1 N), Titripur® (1.09081)

Ammonium Eisen(III)sulfat, EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph. Eur. (1.03776)

Kaliumthiocyanat, EMPLURA®, $c(\text{KSCN}) = 0,1 \text{ mol/l}$; (1.05124)

Lösen Sie ca. 9,7 g Kaliumthiocyanat in Wasser auf.

Überführen Sie die Lösung quantitativ in einen 1000-ml-Messkolben und füllen Sie bis zur Markierung mit Wasser auf.

Eichen Sie die Lösung auf $0,0001 \text{ mol/l}$ genau gegen die Silbernitratlösung mit der Ammonium Eisen(III)-sulfat-Lösung als Indikator.

Geräte:

Analysenwaage

Homogenisiergeräte

Messkolben, Fassungsvermögen 200 ml

Erlenmeyerkolben, Fassungsvermögen 250 ml

Bürette, Fassungsvermögen 50 ml

Siedewasserbad

Chloridgehalt in Fleisch und Fleischprodukten

ISO 1841-1:1996

Verfahren:

Wiegen Sie ca. 10 g der Probe (auf 0,001 g genau) ab und überführen Sie diese Teilprobe quantitativ in einen Erlenmeyerkolben.

Deproteinisierung (Entfernung von Proteinen aus der Probe)

1. Fügen Sie 100 ml heißes Wasser zu der Teilprobe hinzu.
2. Erhitzen Sie den Kolben samt Inhalt 15 Minuten lang im siedenden Wasserbad.
3. Schütteln Sie dabei alle 3–5 Minuten den Inhalt des Kolbens.
4. Lassen Sie Kolben und Inhalt auf Raumtemperatur abkühlen und fügen Sie 2 ml Carrez-I- und 2 ml Carrez-II-Lösung hinzu. Mischen Sie gründlich nach jeder Zugabe.

Lassen Sie den Kolben 30 Minuten lang bei Raumtemperatur stehen.

Überführen Sie den Inhalt quantitativ in einen 200-ml-Messkolben und füllen Sie bis zur Markierung mit Wasser auf. Mischen Sie den Inhalt und filtrieren Sie ihn durch einen Faltenfilter.

Bestimmung:

Überführen Sie 20 ml des Filtrats in einen Erlenmeyerkolben und fügen Sie 5 ml der verdünnten Salpetersäure und 1 ml der Ammonium Eisen(III)sulfatlösung als Indikator hinzu.

Überführen Sie 20 ml der Silbernitratlösung in den Erlenmeyerkolben; fügen Sie dann 3 ml Nitrobenzol hinzu und mischen Sie gründlich. Schütteln Sie kräftig, um das Präzipitat zu koagulieren.

Titrieren Sie den Inhalt des Erlenmeyerkolbens mit Kaliumthiocyanat, bis eine bleibende rosarote Färbung eintritt. Notieren Sie das Volumen der benötigten Kaliumthiocyanatlösung auf 0,05 ml genau.

Blindversuch: Führen Sie einen Blindversuch mit demselben Volumen Silbernitratlösung durch.

Berechnung:

$$\text{Chloridgehalt} = 58,44 \times (V_2 - V_1) / m \times C$$

V₁ ist das Volumen der in der Bestimmung verwendeten Kaliumthiocyanatlösung in Millilitern

V₂ ist das Volumen der in dem Blindversuch verwendeten Kaliumthiocyanatlösung in Millilitern

m ist die Masse der Teilprobe in Gramm

C ist die Konzentration der Kaliumthiocyanatlösung in Mol pro Liter (l).

Chloridgehalt in Fleisch und Fleischprodukten

ISO 1841-1:1996

Proben:

Proben-ID 2015/P/20298 (Italienischer Aufschnitt)

Proben-ID 2015/36814 (Salami)

Ergebnisse:

Chloridgehalt = $58,44 \times (V2 - V1) / m \times C$

Salzgehalt = Chloridgehalt $\times 1,65$

	Probe 2015/P/20298 (Aufschnitt)	Probe 2015/36814 (Salami)
V1	18,4	15,7
V2	19,9	19,9
m	10,0514	10,0597
C	0,1	0,1
Chloridgehalt (%)	0,87	2,43
Salzgehalt (%)	1,43	4,01

Bestimmung des Natriumgehalts in Fleisch

EN 15505:2008

Die Probe wird in Salpetersäure in einem geschlossenen Gefäß in einem Mikrowellengerät aufgeschlossen. Die resultierende Lösung wird mit Wasser verdünnt, und der Natriumgehalt wird mittels Flammen-AAS mit Matrixmodifizier bestimmt.

Reagenzien (Bitte nur Reagenzien anerkannter Analysequalität verwenden, wenn nicht anders angegeben.)

Verwenden Sie also nur Reagenzien/Wasser mit einem Elementgehalt, der so gering ist, dass er das Ergebnis nicht beeinflusst.

Wasser, LiChrosolv® (1.15333)
Wasser sollte mindestens Grad 3 nach ISO 3696 entsprechen.)

Salpetersäure 65 %, Suprapur® (1.00441)
Natrium (1000 mg/l Na in HNO₃, 0,5 mol/l), rückführbar auf SRM des NIST; CertiPUR® (1.70238)
Cäsiumchlorid, 99,995 %, Suprapur® (1.02039)

Geräte:

(Sämtliche Glaswaren und Plastikwaren sollten sorgfältig gereinigt und gespült werden, um eine wechselseitige Verunreinigung zu vermeiden. Das genaue Reinigungsverfahren ist in der Norm EN 13804 beschrieben.)

Labormühle (z.B. Messermühle)
Labor-Mikrowellengerät
Atomabsorptionsspektrometer

Elementspezifische Lampen:

Für Natrium werden elementspezifische Lampen mit einer Wellenlänge von 589,0 nm angewendet.
(Tipps: Natrium kann mittels AAS im Emissionsmodus gemessen werden.)

Acetylen von geeigneter Qualität.
Luft

Bestimmung des Natriumgehalts in Fleisch

EN 15505:2008

Verfahren:

1. Homogenisieren Sie die Probe mit einer Labormühle.

Empfehlung: In einigen Fällen ist es notwendig, die Probe zu trocknen, und zwar ohne, dass der Elementgehalt beeinflusst wird, z.B. durch Gefriertrocknung.

2. Probenvorbereitung

- Wiegen Sie 1,0–2,5 g der Probe in einem Gefäß ab.
- Fügen Sie 5,0 ml Salpetersäure hinzu. Nach 30 Minuten fügen Sie 5,0 ml destilliertes Wasser hinzu und mischen vorsichtig.
- Lassen Sie Proben zum Voraufschluss mindestens 15 Minuten lang offen stehen, bevor Sie die Gefäße verschließen und mit dem Erwärmen beginnen.

Tipps: Bei Proben mit hohem Fettgehalt reduzieren Sie die Teilprobe auf 0,5–1,0 g.

Bei Proben mit hohem Wassergehalt kann die Teilprobe auf 2,0–3,0 g erhöht werden.

Proben mit einem hohen Kohlenstoffgehalt (z.B. Zucker, Fett) können zu plötzlichen Druckspitzen während des Prozesses führen. Lassen Sie diese Proben zum Voraufschluss über Nacht stehen.

3. Programm zur Mikrowellenerwärmung

Schritt	Zeit (min)	Temperatur (°C)
1	0–15	bis zu 190 °C
2	15–35	200 °C
3	35 und mehr	Abkühlen

4. Verdünnung

Pipettieren Sie ein geeignetes Volumen der Probenlösung in einen 500-ml-Messkolben, fügen Sie 1 ml Cs-Lösung hinzu und verdünnen Sie dieses Volumen (praktischerweise auf 500 ml) mit 2,7%iger Salpetersäure, sodass die Endkonzentration von Na innerhalb des Messbereichs des Elements liegt.

5. Atomabsorptionsspektrometrie

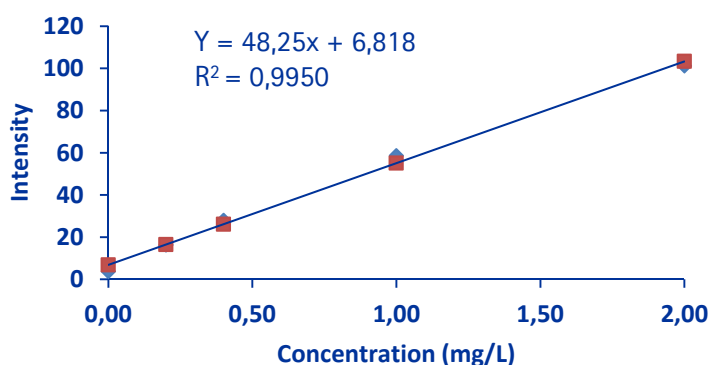
Vor jeder Bestimmung justieren Sie das Gerät nach den Angaben des Herstellers in der Betriebsanleitung. Die genauen Einstellungen unseres Geräts finden Sie im Anhang in einem getrennten Dokument.

Bestimmung des Natriumgehalts in Fleisch

EN 15505:2008

6. Kalibrierung – Natrium

Proben-ID	„Intensität“ (Höhe)	„Konz.“ (mg/l)
Blindprobe	3,7	0,0000
Std. 1	16,3	0,2000
Std. 2	28	0,4000
Std. 3	58,6	1,0000
Std. 4	101,2	2,0000
P-20298	50,4	0,8246
36814	55,1	0,9231



7. Berechnung

$c = (a \times V \times F)/m$, dabei ist

c: der Massenanteil von Natrium in Milligramm pro Kilogramm

a: der Gehalt an dem jeweiligen Element in mg/l

V: das Volumen der Aufschlusslösung in ml

F: der Verdünnungsfaktor der Testlösung

m: die Masse der ursprünglichen Probe in Gramm

	Probe 2015/P/20298 (Aufschnitt)	Probe 2015/36814 (Salami)
a (mg/l)	0,8246	0,9231
V (ml)	500	500
F (verdünnung)	25	50
m (g)	1,5713	1,3890
Natriumgehalt (%)	0,66	1,66
Salzgehalt (%)	1,65	4,15

Bestimmung des Wassergehalts in Ölproben

DIN EN ISO 8534:2009

Aufgelöstes Fett wird gegen eine Iodlösung titriert, und Schwefeldioxid (SO₂) wird in Gegenwart von Wasser durch Iod oxidiert. Der Alkohol reagiert mit SO₂ und einer stickstoffhaltigen (RN) Base unter Bildung eines Alkylsulfitsalzes als Zwischenprodukt, das anschließend durch Iod zu einem Alkylsulfatsalz oxidiert wird. Diese Oxidationsreaktion verbraucht in der Probe enthaltenes Wasser.

Reagenzien für die Karl-Fischer-Analyse:

(Bitte nur Reagenzien mit anerkannter Analysequalität verwenden, wenn nicht anders angegeben.)

CombiCoulomat Fritte (1.09255.0500)

Einkomponenten-Reagenzien: enthalten alle Reaktionspartner in der Titrationsmittellösung

Wasserstandard (1.88052.0010, 1 %)

Geräte: Cou-Lo Aquamax (zum Beispiel)

Bestimmung:

1. Überprüfen Sie das Gerät durch Messen eines Standards (Injizieren Sie 0,5 ml).
2. Wenn das Messergebnis nicht mehr als 10 % vom Standardwert abweicht, ist es verwendbar.
3. Injizieren Sie die Probe in das Titrationsgefäß (0,5 ml Probe).
4. Notieren Sie die Masse.
5. Geben Sie die Probenmasse in das Gerät.
6. Das Gerät errechnet das Endergebnis.
7. Messen Sie die Probe zweimal und nehmen dann den Mittelwert.
8. Der Unterschied zwischen den beiden Messungen darf nicht mehr als 10 % betragen.

Ergebnisse:

	Standard	Probe 1	Probe 2
Gesamtgewicht (g)	3,3128	2,9408	2,9561
Probengewicht (g)	0,4561	0,4657	0,4786
Ergebnis (mg/kg)	9767,38	292,53	292,17

Bestimmung von Spurenelementen

EN 13805:2002

Dies ist ein Verfahren zur Bestimmung von Eisen, Magnesium, Kalium, Natrium und Calcium in Lebensmitteln. Die Probe wird durch Aufschluss mit Salpetersäure unter Druck mineralisiert. In der resultierenden Aufschlusslösung werden Eisen, Magnesium, Kalium, Natrium und Calcium durch optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES) quantifiziert.

Reagenzien:

(Bitte nur Reagenzien mit anerkannter Analysequalität verwenden, wenn nicht anders angegeben. Die Konzentration von Eisen, Magnesium, Kalium, Natrium und Calcium in den Reagenzien und dem verwendeten Wasser sollte so gering sein, dass das Ergebnis der Bestimmung nicht beeinflusst wird.)

Wasser, LiChrosolv® (1.15333)

Salpetersäure 65 %, Suprapur® (1.00441)

Multielement-Stammlösung – Certipur® ICP Multielement-Standardlösung IV (1.11355.0100)

$\rho(\text{Fe}) = 1000 \text{ mg/l}$

$\rho(\text{Mg}) = 1000 \text{ mg/l}$

$\rho(\text{K}) = 1000 \text{ mg/l}$

$\rho(\text{Na}) = 1000 \text{ mg/l}$

$\rho(\text{Ca}) = 1000 \text{ mg/l}$

Multielement-Standard- und Kalibrierungslösungen

Die Standard- und Kalibrierungslösungen werden aus der Stammlösung durch Verdünnung in Glas-Messkolben hergestellt. Zur Kalibrierung stellen Sie mindestens fünf (5) Kalibrierungslösungen mit unterschiedlichen Konzentrationen her. Die Säurekonzentration soll der Konzentration in der Messlösung entsprechen. Die Herstellung der nachstehenden Lösungen wird als Beispiel angeführt.

Kalibrierungslösungen von $\rho(\text{Fe, Mg, K, Na, Ca}) = 0,5 \text{ mg/l}; 1,0 \text{ mg/l}; 2,5 \text{ mg/l}; 5,0 \text{ mg/l}; 10,0 \text{ mg/l}$ für die ICP-OES.

Füllen Sie fünf 100-ml-Messkolben mit 10–20 ml Wasser, fügen Sie 10 ml Salpetersäure hinzu und mischen Sie. Kühlen Sie die Lösungen auf Raumtemperatur ab und pipettieren Sie genau 0,05; 0,1; 0,25; 0,5 bzw. 1,0 ml der Multielement-Stammlösung für die entsprechenden Kalibrierungslösungen mit Massenkonzentrationen von 0,5 mg/l; 1,0 mg/l; 2,5 mg/l; 5,0 mg/l und 10,0 mg/l in die fünf verschiedenen 100-ml-Messkolben. Mischen Sie die Lösungen und füllen Sie bis zum Eichstrich mit Wasser auf.

Die hier beschriebenen Kalibrierungslösungen sollen als Beispiel dienen. Die hergestellten Konzentrationen sollen im linearen Bereich des Messgeräts liegen. Die Säurekonzentration der Kalibrierungslösungen soll an die Säurekonzentration der Probenlösung angeglichen sein.

Bestimmung von Spurenelementen

EN 13805:2002

Blindprobe

Die Blindprobenlösung enthält Wasser und Salpetersäure in einer Menge, die der Konzentration in der Messlösung entspricht, z.B. 10 ml Salpetersäure in 100 ml Wasser.

Geräte

Mikrowellenreaktionssystem
ICP-OES (Axiale Ansicht).

Aufschluss der Probe

Mineralisieren Sie die Probe durch Aufschluss unter Druck gemäß EN 13805:2002. Die Aufschlussbedingungen sind abhängig von den technischen Angaben des Geräteherstellers, der Reaktivität der Probe, der maximalen Druckfestigkeit des Aufschlussgefäßes und der erreichbaren Temperatur.

Wiegen Sie 0,8–0,9 g der Probe präzise im Aufschlussgefäß ab und mischen Sie die Teilprobe mit 5 ml Salpetersäure und 1 ml Wasser. Die aus dem normgemäßen Aufschluss unter Druck resultierende Aufschlusslösung kann direkt verwendet werden oder für die anschließende Quantifizierung von Eisen, Magnesium, Kalium, Natrium und Calcium verdünnt werden.

Optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP – OES)

Starten Sie das Gerät und lassen Sie es sich stabilisieren. Dann optimieren Sie es nach Herstellerangaben und beginnen mit der Messung. Verwenden Sie die Blindprobenlösung für den Nullabgleich des Geräts. Injizieren Sie die Kalibrierungslösungen der Reihe nach (beginnend mit der niedrigsten Konzentration) in das Plasma und messen Sie die Emission des zu bestimmenden Elements.

Auswertung

In der folgenden Tabelle sind relevante Analysenlinien für die Bestimmung mit ICP-OES und die jeweiligen Bestimmungsgrenzen (LOQ) angegeben.

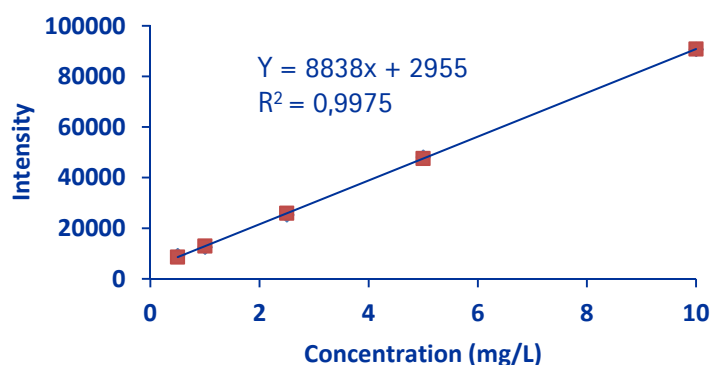
Element	Emissionswellenlänge (nm)	LOQ (mg/kg)
Fe	239,562	2,0
Mg	280,271	1,0
Ca	315,887	3,0
Na	589,592	3,0
K	766,490	1,5

Bestimmung von Spurenelementen

EN 13805:2002

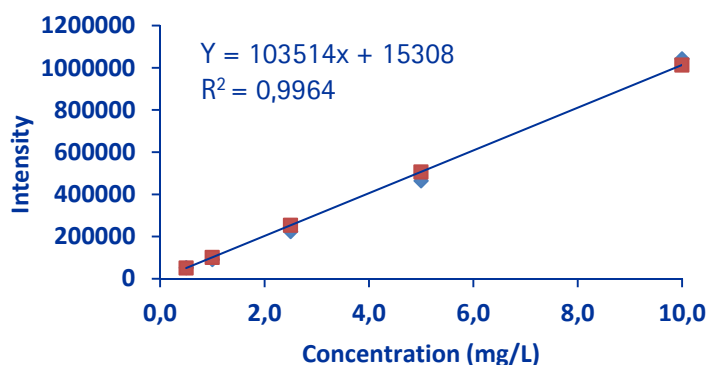
Kalibrierungsdaten – Calcium (Ca):

Proben-ID	„Intensität“ (Höhe)	„Konz.“ (mg/l)
1	9208	0,5
2	12475	1,0
3	25234	2,5
4	48070	5,0
5	90670	10,0



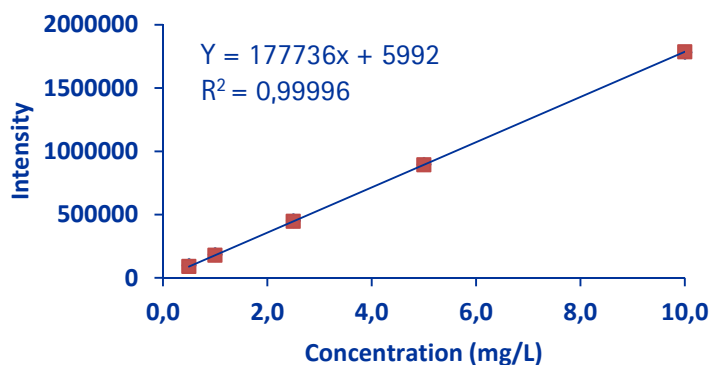
Kalibrierungsdaten – Natrium (Na)

Proben-ID	„Intensität“ (Höhe)	„Konz.“ (mg/l)
1	52753	0,5
2	91055	1,0
3	224058	2,5
4	464668	5,0
5	1042380	10,0



Kalibrierungsdaten – Magnesium (Mg)

Proben-ID	„Intensität“ (Höhe)	„Konz.“ (mg/l)
1	98003	0,5
2	184064	1,0
3	453123	2,5
4	895895	5,0
5	1781856	10,0

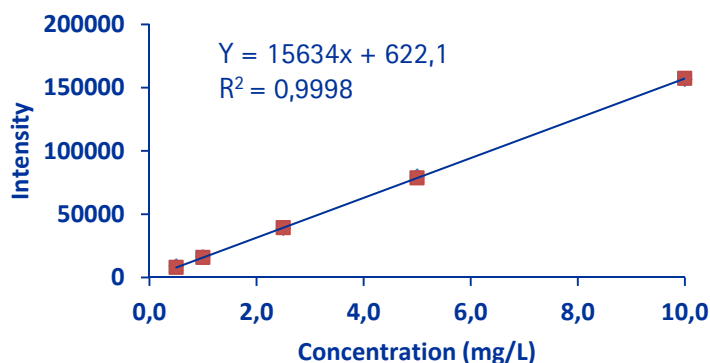


Bestimmung von Spurenelementen

EN 13805:2002

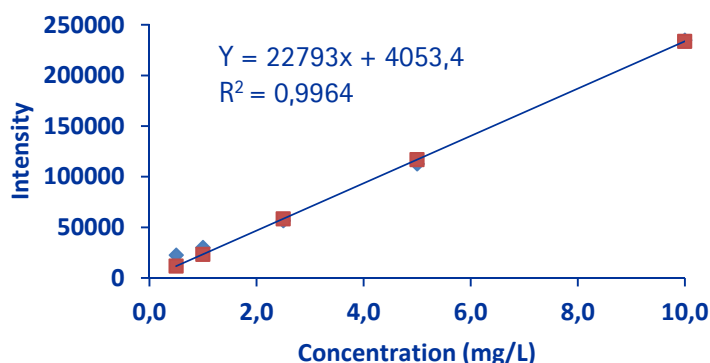
Kalibrierungsdaten – Eisen (Fe):

Proben-ID	„Intensität“ (Höhe)	„Konz.“ (mg/l)
1	9052	0,5
2	16226	1,0
3	38950	2,5
4	80062	5,0
5	156491	10,0



Kalibrierungsdaten – Kalium (K)

Proben-ID	„Intensität“ (Höhe)	„Konz.“ (mg/l)
1	22605	0,5
2	30335	1,0
3	56651	2,5
4	112827	5,0
5	234966	10,0



Ergebnisse: In der nachstehenden Tabelle sind die Mittelwerte der Konzentration von Eisen (Fe), Magnesium (Mg), Calcium (Ca), Natrium (Na) und Kalium (K) angegeben, die in den drei verschiedenen Probenarten erfasst wurden.

Probe	Fe	Mg	Ca	Na	K
	(mg/kg)				
Rindfleisch	31,04	246,3	69,34	921,8	2692,5
Hühnerfleisch	4,996	364,8	38,91	499,9	2946,3
Milch	1,329	123,5	402,2	402,2	1284,3

Rückstände

Definition

Pestizide

1. Die Bezeichnung Pestizide umfasst alle Stoffe oder Stoffgemische, die dafür vorgesehen sind, unerwünschte Arten von Pflanzen oder Tieren abzuhalten, zu zerstören oder einzudämmen, die Schäden während der Produktion, der Verarbeitung, der Lagerung, des Transports oder der Vermarktung von reinen Waren verursachen oder diese Prozesse auf andere Weise stören. Die Bezeichnung umfasst Stoffe, die zur Anwendung als Wachstumsregulatoren, Entlaubungsmittel und Entfeuchtungsmittel vorgesehen sind, sowie jeden Stoff, der auf Nutzpflanzen vor oder nach der Ernte angewendet wird, um das Produkt vor Verderb während Lagerung und Transport zu schützen.
2. Die Anwendung von Pestiziden ist in der Landwirtschaft allgemein üblich. Pestizide können in kleinen Mengen (Rückständen) in oder auf Obst, Gemüse, Getreide und anderen Lebensmitteln zurückbleiben. Um zu gewährleisten, dass das Lebensmittel für den Verzehr unbedenklich ist, bestimmen offizielle Behörden wie die Umweltschutzbehörde der USA (United States Environmental Protection Agency, EPA) die Menge jedes Pestizids, die in oder auf Lebensmitteln zurückbleiben darf.
3. Man unterscheidet vier Hauptkategorien von Pestiziden: Herbizide, Fungizide, Insektizide und Bakterizide.

Antibiotika

1. Im Laufe ihres Lebens müssen Tiere unter Umständen mit verschiedenen Arzneimitteln zur Verhinderung oder Heilung von Krankheiten behandelt werden. In lebensmittelproduzierenden Tieren wie Rindern, Schweinen, Geflügel und Fisch kann dies zu Rückständen der zur Behandlung verwendeten Substanzen in den Lebensmitteln führen, die von diesen Tieren stammen (z.B. Fleisch, Milch, Eier). Die Rückstände sollten jedoch für den Verbraucher nicht schädlich sein. Um ein hohes Niveau an Verbraucherschutz zu gewährleisten, fordert die Gesetzgebung, dass die Toxizität von potenziellen Rückständen bewertet wird, bevor die Anwendung eines Arzneimittels bei lebensmittelerzeugenden Tieren genehmigt wird. Wenn es für notwendig erachtet wird, wird ein Rückstandshöchstgehalt (MRL-Wert) festgesetzt; in einigen Fällen wird die Anwendung der entsprechenden Substanz verboten.

Weitere Informationen zu Pestizid- und Antibiotikarückständen:

<http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodContaminantsAdulteration/Pesticides/default.htm>

<http://www.epa.gov/pesticides/index.htm>

<http://www.agf.gov.bc.ca/pesticides/>

http://ec.europa.eu/food/food/index_en.htm

http://ec.europa.eu/food/plant/protection/pesticides/index_en.htm

http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm

<http://en.wikipedia.org/wiki/Pesticide>

Pestizide

Pestizide sind biologische (wie Viren, Bakterien, antimikrobielle Stoffe oder Desinfektionsmittel) oder chemische Stoffe oder Stoffgemische, die jeglichen Schädlingsbefall verhindern, zerstören, abwehren oder abschwächen sollen. Zielschädlinge umfassen Insekten, Pflanzenpathogene, Unkräuter, Weichtiere, Vögel, Säugetiere, Fische, Nematoden (Rundwürmer) und Mikroben, die Eigentum zerstören, Beeinträchtigungen verursachen, Krankheiten verbreiten oder Vektoren für Krankheiten sind.

Derzeit sind 507 Pestizide mit von der Europäischen Union festgesetzten MRL-Werten verzeichnet. Viele davon sind mit traditionellen Verfahren schwer nachzuweisen. Chlormequat und Mepiquat z.B. sind zwei stark hydrophile Pestizide, die häufig als pflanzliche Wachstumsregulatoren eingesetzt werden. Sie wirken durch Hemmung des vegetativen Wachstums und Förderung der Blüte bei einer Vielfalt an Obst, Gemüse, Getreide und Baumwolle. Sie werden im Boden durch mikrobiologische Prozesse eliminiert (das Endprodukt ist Kohlendioxid), können sich aber auch in Pflanzen, Tieren und Menschen anreichern. Die Umweltbehörde der USA (US-EPA) hat diese Verbindungen aufgelistet, sodass deren Rückstände durch entsprechende Messungen bestimmt werden müssen.



Food Safety and Food Quality Control
Analysis of Polar Compounds
in Complex Samples

Applications for HPLC and LC-MS with
SeQuant® ZIC®-HILIC columns

www.merckmillipore.com/chromatography



Merck Millipore is a Division of 



Food Safety and Food Quality Control
Beat your own record!

Dirty sample analysis even faster with monolithic Columns

www.merckmillipore.com/chromatography



Merck Millipore is a Division of 

In früheren Anw
iter
suchung.

Bestimmung von Pestiziden

EN 15662:2009

Dies ist ein Verfahren für die Analyse von Pestizidrückständen in Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs, wie Obst (einschließlich Trockenfrüchte), Gemüse, Getreide und daraus hergestellte Verarbeitungsprodukte. Das Verfahren kann 300 Bestandteile gleichzeitig analysieren. Es basiert auf der Acetonitril-Extraktion/Verteilung und dem SPE – QuEChERS-Verfahren zur Aufreinigung gefolgt von GC-MS und/oder LC-MS/MS. In diesem Beispiel werden jedoch nur 10 Bestandteile bestimmt.

Reagenzien:

(Bitte nur Reagenzien mit anerkannter Analysequalität verwenden, wenn nicht anders angegeben.)

Wasser (1.15333)
Acetonitril (1.00029)
Methanol, für die LC-MS
Ammoniumformiat, LC-MS-Qualität
Ameisensäure (1.00264.1000)
Magnesiumsulfat, wasserfrei (1.06067)
Natriumchlorid (1.06404)
Bondesil-PSA, 40 µm, 100 g
Kohlenstoff-SPE, loses Sorptionsmittel, 25-g-Flasche

Pestizidstandards

Azoxystrobin
Buprofezin
Fenpyroximat
Hexythiazox
Myclobutanil
Penconazol
Tetraconazol
Tolyfluanid
Trifloxystrobin
Triflumizol

Bestimmung von Pestiziden

EN 15662:2009

Probenvorbereitung (Tomaten)

1. Nehmen Sie eine repräsentative Probe (10 g) und füllen Sie sie in einen geeigneten Behälter.
2. Fügen Sie 10 ml Ameisensäure und Acetonitril im Verhältnis 1:1 (% v/v)) hinzu und homogenisieren Sie die Probe.
3. Fügen Sie das Puffersalz-Gemisch hinzu und homogenisieren Sie die Mischung:
 - Magnesiumsulfat (4 g)
 - Natriumchlorid (1 g)
 - Zentrifugieren bei 4200 rpm, 2,5 min
4. Nehmen Sie so viel wie möglich von der oberen Phase ab (4 ml).
5. Fügen Sie das Sorptionsmittel-Salz-Gemisch zu dieser Phase hinzu und homogenisieren Sie die Mischung:
 - Kohlenstoff-SPE loses Sorptionsmittel (35,0 mg)
 - Bondesil-PSA (113,0 mg)
 - Magnesiumsulfat (652,0 mg)
 - Zentrifugieren bei 4200 rpm, 2,5 min
6. Füllen Sie 1 ml von der oberen Phase in ein kleines Gefäß.

LC-MS/MS-Analyse (verwenden Sie ein geeignetes UHPLC-System)

MS-MS-Detektor: Q Trap MS/MS System oder vergleichbar

HPLC-Säule: Fused core C18 (10 cm x 3,0 mm; 2,7 µm)

Vorsäule: Fused core C18 (0,5 cm x 3,0 mm; 2,7 µm)

Eluentensystem: A: 1 mmol/l Ammoniumformiat mit 0,1 % Ameisensäure in Wasser

B: Methanol

Flussrate: 500 µl/min

Injektion: 20 µl

Temperatur: 40 °C

Gradientenprofil:

Zeit (min)	A (%)	B (%)
0	95	5
2,0	65	35
8,5	5	95
15,0	5	95
16,0	95	5
20,0	95	5

Bestimmung von Pestiziden

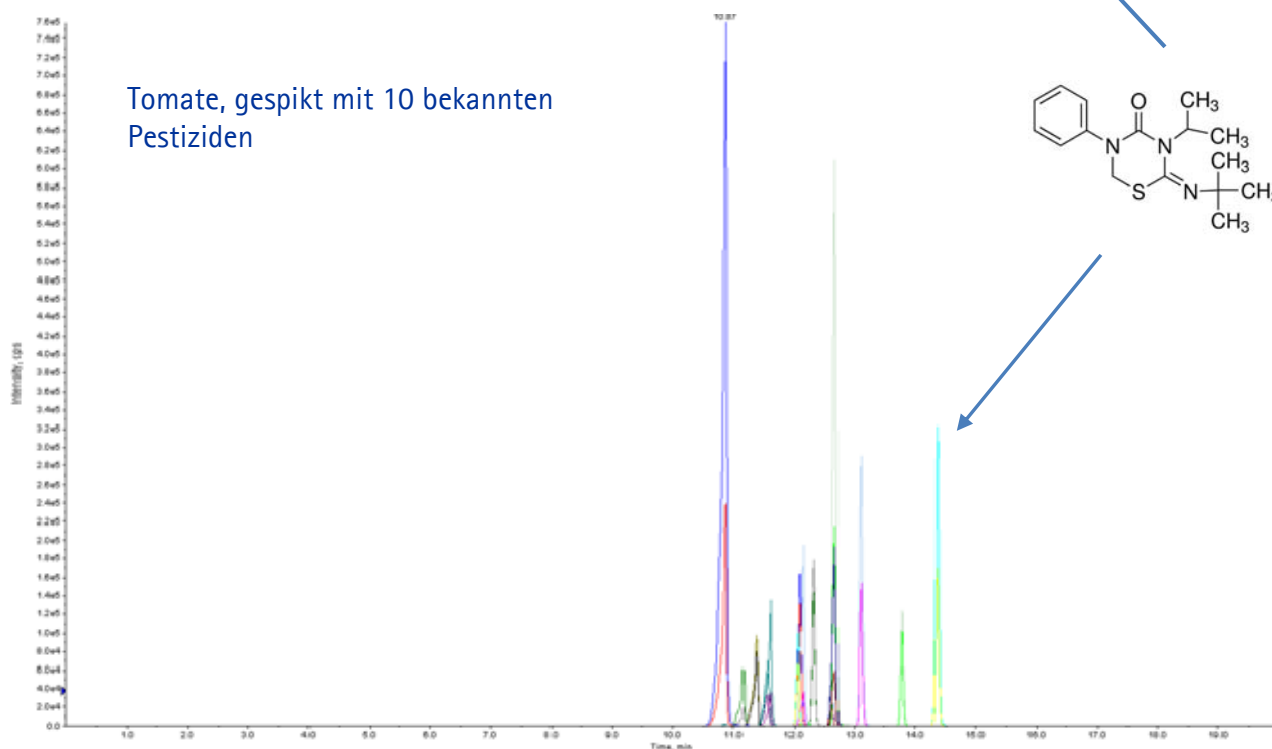
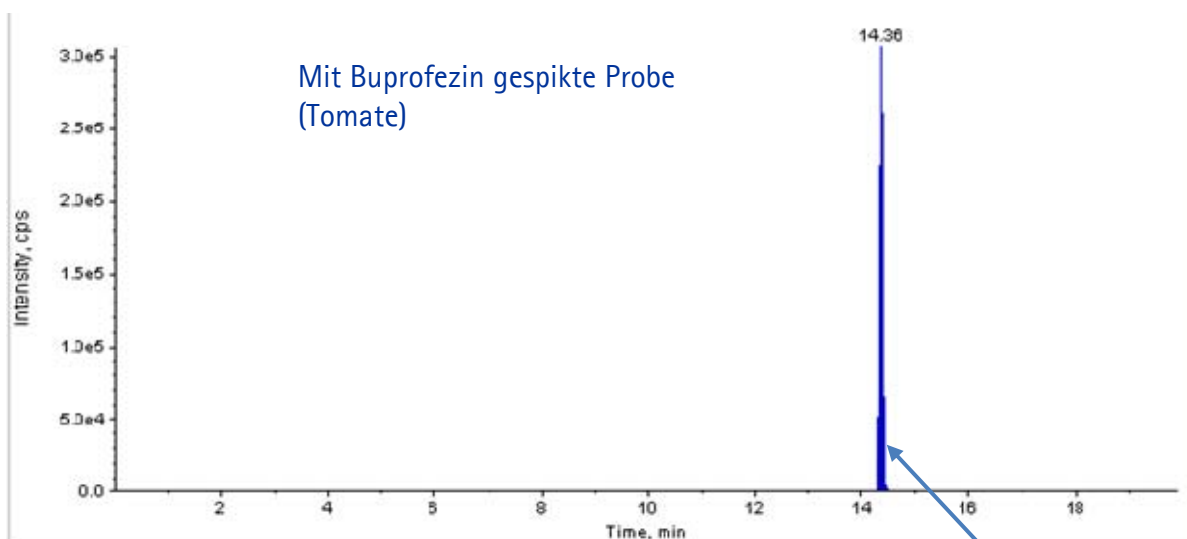
EN 15662:2009

MS-MS-Parameter	
Polarität	+
CUR	40 psi
CAD	Hoch
IS	5500 V
Temp	400 °C
GS1	35 psi
GS2	45 psi

	Q1	Q3	DP-(V)	EP- (V)	CE- (V)	CXP-(V)	RT (min)
Azoxystrobin 1	404,1	372,3	31	6,5	19	6	11,04
Azoxystrobin 2	404,1	344,2	31	6,5	25	6	11,04
Buprofezin 1	306,1	201,3	50	4	17	4	13,34
Buprofezin 2	306,1	106,0	50	4	31	4	13,34
Fenpyroximat 1	422,3	366,3	46	6	21	4	14,62
Fenpyroximat 2	422,3	135,2	46	6	45	4	14,62
Hexythiazox 1	353,3	228,0	41	6,5	19	4	14,02
Hexythiazox 2	353,3	168,3	41	6,5	31	4	14,02
Myclobutanil 1	289,1	70,2	41	5,5	31	4	11,56
Myclobutanil 2	289,1	125,1	41	5,5	39	4	11,56
Penconazol 1	284,2	159,1	36	5,5	35	4	12,28
Penconazol 2	284,2	70,2	36	5,5	29	4	12,28
Tetraconazol 1	372,1	159,0	46	4	39	4	11,79
Tetraconazol 2	372,1	70,1	46	4	39	4	11,79
Tolyfluanid 1	347,2	137,2	41	5,5	37	4	12,23
Tolyfluanid 2	347,2	238,0	41	5,5	15	4	12,23
Trifloxystrobin 1	409,3	189,1	41	4	23	4	12,85
Trifloxystrobin 2	409,3	206,3	41	4	19	4	12,85
Triflumizol 1	346,2	278,3	36	4	15	4	12,89
Triflumizol 2	346,2	73,1	36	4	23	4	12,89

Bestimmung von Pestiziden

EN 15662:2009



Instrumentelle Techniken

in Normverfahren

In dieser Sammlung werden mehrere Parameter erörtert, die von der Lebensmittelindustrie überprüft werden müssen.

Sie enthält Beispiele für die Anwendung von Normverfahren, die von globalen Organisationen oder lokalen Behörden zur Bestimmung verschiedener Parameter vorgeschrieben sind.

Sie enthält Beispiele für die Anwendung von Normverfahren, die von globalen Organisationen oder lokalen Behörden zur Bestimmung verschiedener Parameter vorgeschrieben sind. Aber wie wurden diese Verfahren ausgewählt, und gibt es Alternativen?

Die Normen folgen der Weiterentwicklung der Analysentechniken, aber aufgrund ihrer komplexen Natur geschieht dies nur langsam. Eine neue Technik muss getestet und auf Robustheit und Verwendbarkeit geprüft werden.

Ein weiterer wichtiger Faktor ist, dass sich die Liste der kritischen Parameter und die Konzentrationsbereiche einiger Bestandteile in den Normen mit der Zeit verändern. Die Zahl der Moleküle, die sich als schädlich herausstellen, nimmt zu. Diese Zunahme beruht auf neuen Technologien und neuen künstlichen Materialien, aber auch auf der stetigen Erweiterung unseres Wissens über Krankheiten. Das bedeutet, dass wir nicht nur Messverfahren für neue Stoffe, sondern auch neue Verfahren für neue Matrices oder für sehr geringe Konzentrationsbereiche entwickeln müssen.

Bevor wir mit einer quantitativen Bestimmung beginnen, müssen wir dafür sorgen, dass das Zielmolekül oder -element in einer messbaren Form vorliegt, dass weder physikalische noch chemische Bindungen unser Ergebnis beeinflussen und dass das gemessene Ergebnis tatsächlich nur von der Zielverbindung stammt. Im Fall von Lebensmitteln ist dies oft ein sehr mühseliger Prozess. Aus diesem Grund werden, sofern möglich, Verfahren, die weniger empfindlich gegenüber Verunreinigungen sind, und solche, bei denen eine einfache Probenvorbereitung genügt, in der Lebensmittelindustrie bevorzugt.

In den folgenden Kapiteln finden Sie eine Übersicht und eine kurze Einführung in die in dieser Sammlung erwähnten Techniken. Wir geben eine grobe Beschreibung und sprechen die oben erwähnten Aspekte kurz an.

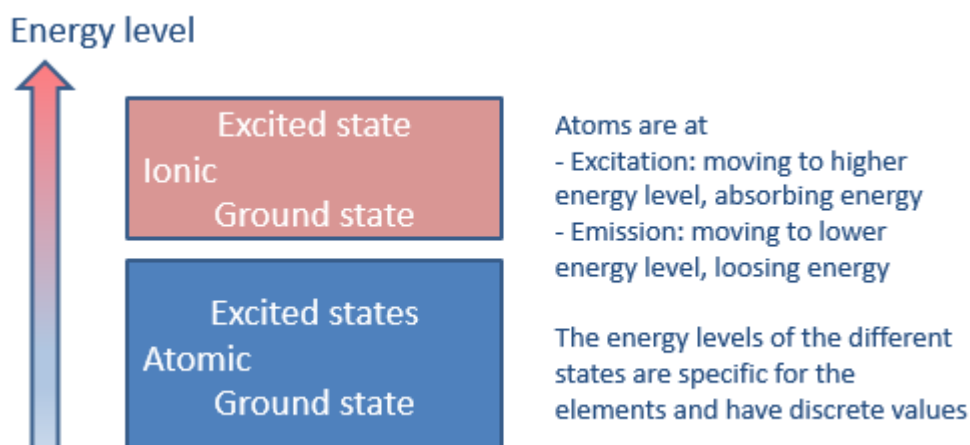
Instrumentelle Techniken

Atomspektroskopie

Mithilfe der Atomspektroskopie können qualitative und quantitative Bestimmungen von Elementen anhand einzelner Merkmale auf Atomebene durchgeführt werden. Dies können sein:

- Absorption: AAS (Atomabsorptionsspektrometrie)
- Emission: ICP (Induktiv gekoppeltes Plasma)

In beiden Fällen muss das Zielement zur Durchführung der Messung in seine atomare Form überführt werden.



Die optische Spektroskopie begann mit Newton im 17. Jahrhundert, aber es dauerte lange, bis der atomare Ursprung der Emissionslinien und Absorptionsspektren erkannt wurde und die Anwendung der Spektroskopie als analytische Messtechnik entwickelt wurde.

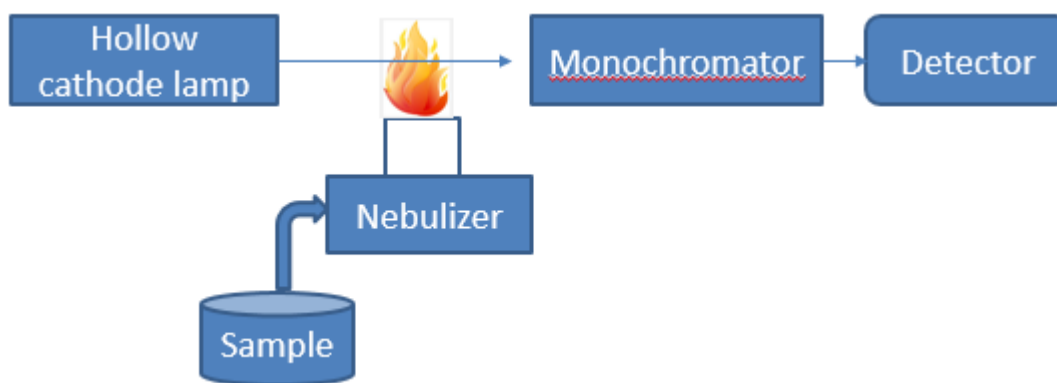
Die ersten Messungen wurden mithilfe der Atomemissionsspektrometrie vorgenommen und ermöglichten die Entdeckung mehrerer neuer Elemente wie Cäsium, Rubidium, Thallium, Indium und Gallium.

Heute werden die AAS und ICP zumeist für die Bestimmung der Elementzusammensetzung einer Probe verwendet.

Instrumentelle Techniken

Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)

Die Atomabsorptionsspektroskopie quantifiziert die Absorption von Atomen im Grundzustand in gasförmigem Zustand. Für einen Übergang zu einem höheren Energieniveau absorbieren die Atome Licht im sichtbaren oder UV-Bereich. Die Konzentration kann anhand der Absorption mithilfe einer Kalibrierungskurve bestimmt werden.



Man unterscheidet zwischen Ein- und Zweistrahlgeräten. In Zweistrahlgeräten wird das Licht von der Lampe in „Probenstrahl“ und „Referenzstrahl“ gespalten. Als Lichtquelle wird in der Regel eine Hohlkathodenlampe (HKL) oder eine elektrodenlose Entladungslampe (EDL) verwendet.

Die Atomisierung ist die Trennung von Teilchen, in diesem Fall bis auf die atomare Ebene. Dies wird erreicht, indem der Analyt hohen Temperaturen ausgesetzt wird. Man unterscheidet Systeme mit:

- Flamme
- Graphitrohr
- Hydrid dampfgenerator

Die Atomisatoren saugen die Probe in den Strahlengang, wo sie von der Lampe beleuchtet wird. Die Lampe ist spezifisch für jedes Element und emittiert Licht in dessen charakteristischer Wellenlänge. Für die quantitative Analyse werden eine Blindprobe und eine Kalibrierungskurve benötigt.

Das Verfahren ist für ca. 70 Elemente geeignet. Eine Einschränkung ist die Wellenlänge: Im Allgemeinen kann bei einer Wellenlänge oberhalb von 200 nm gearbeitet werden, aber Wasserstoff und einige andere Elemente haben ihre Resonanzlinie unterhalb von 200 nm.

Instrumentelle Techniken

Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)

- Flammenzerstäuber

Benötigt wird ein Gemisch aus Oxidationsmittel und Brenngas für die Flamme (z.B. Acetylen-Luft-Gemisch, mit einer typischen Temperatur von ca. 2200 °C, oder N₂O-Acetylen mit ca. 2700 °C).

Im Durchschnitt erreichen 5–15% der vernebelten Probe die Flamme.

Das Probenvolumen muss im Bereich von ca. 0,5–1,0 ml liegen.

- Graphitofen

Ein graphitbeschichteter Ofen wird zum Verdampfen verwendet, indem das Rohr mit der Probe mithilfe einer Hochstromquelle erhitzt wird. Es ist keine Probenvorbereitung notwendig, die Probengröße ist gering und eine direkte Analyse von Feststoffen ist möglich. Das System kann die vollständige Probe atomisieren und die atomisierte Probe für eine ausgedehnte Zeitspanne im Strahlengang halten, was die Empfindlichkeit der Methode verbessert. Es ist nur die Bestimmung von ca. 40 Elementen möglich, aber das Probenvolumen liegt im Mikroliterbereich und die Nachweisgrenzen sind typischerweise 100–1000 mal niedriger als die von Flammenzerstäuber-Systemen.

- Dampfgenerator

Um den Analyten von der Probenmatrix zu trennen, kann das Verfahren der chemischen Dampferzeugung verwendet werden, bei dem eine gasförmige Spezies als Ergebnis einer chemischen Reaktion erzeugt wird. Man unterscheidet zwischen:

1. dem Kaltdampfverfahren (CVAAS) zur Bestimmung von Quecksilber (Hg) und
2. dem Hydridverfahren (HGAAS) für Elemente, die gasförmige kovalente Hydride bilden (As, Bi, Ge, In, Pb, Sb, Se, Sn und Te).

Bei diesen Anwendungen können Interferenzen wie Ionisierung, Matrix-, chemische oder Hintergrundinterferenz auftreten und die Signalstärke erhöhen oder vermindern. Da dies das Ergebnis erheblich beeinflussen kann, müssen diese Interferenzen bei der Entwicklung des Verfahrens berücksichtigt werden.

Ein gutes Beispiel ist der gleichzeitige Nachweis von Cd (228.802 nm) und As (228.812 nm). In diesem Fall muss die Wellenlänge verändert werden, oder es muss eines der beiden Elemente entfernt werden.

Instrumentelle Techniken

Induktiv gekoppeltes Plasma (ICP)

Plasma (griechisch „Gebilde“) ist neben fest, flüssig und gasförmig einer der vier Aggregatzustände von Materie. Plasma hat andere Eigenschaften als die übrigen Aggregatzustände. Plasma kann durch Erhitzen eines Gases erzeugt werden, oder indem ein Gas einem starken elektromagnetischen Feld ausgesetzt wird.

Ein induktiv gekoppeltes Plasma (ICP) ist eine Art von Plasmaquelle, in der die Energie von elektrischen Strömen geliefert wird, die durch elektromagnetische Induktion erzeugt werden, d.h. durch zeitvariante Magnetfelder.*

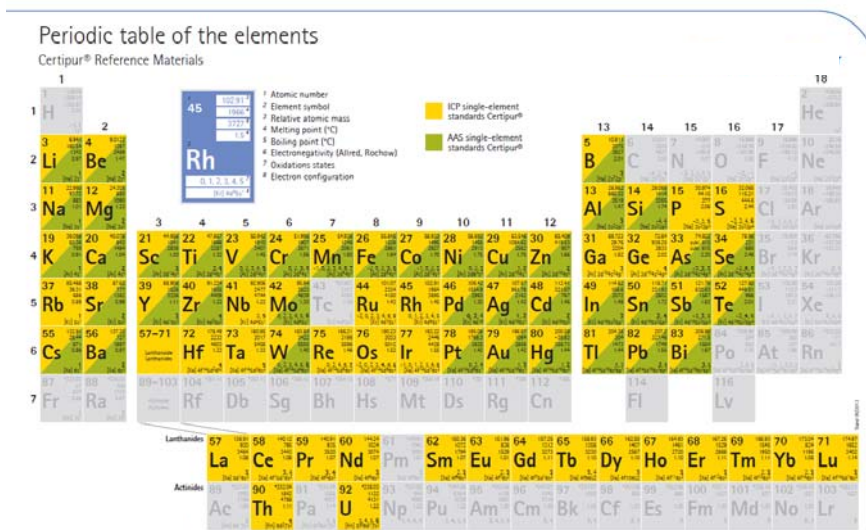
**[A. Montaser and D. W. Golightly, eds. (1992). Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry. VCH Publishers, Inc., New York]*

Die Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-ES) basiert auf der charakteristischen Energieemission der Atome und Ionen der Elemente in der Probe beim Übergang vom angeregten Zustand in den Grundzustand.

Für diesen Prozess wird ein Hochtemperaturplasma verwendet (in einem Argonplasma können 10 000 K erreicht werden). Zum Nachweis des emittierten Lichts werden ein oder mehrere Photomultiplier-Rohre räumlich so positioniert, dass sie spezifische Wellenlängen detektieren; in moderneren Einheiten übernehmen Halbleiter-Photodetektoren (ladungsgekoppelte Elemente, CCD-Elemente) die Detektion.

Die gemessenen Intensitäten werden mit den Intensitäten von Standards bekannter Konzentration verglichen, um die unbekannten Elementkonzentrationen in der Probe zu berechnen. Auch bei dieser Technik können bestimmte Kombinationen von Elementen zu Interferenzen führen. In den meisten Fällen kann dies durch spezielle Gerätesoftware korrigiert werden.

Periodic table of the elements
Certipur® Reference Materials



Legend:

- ICP single-element standards Certipur®
- AAS single-element standards Certipur®

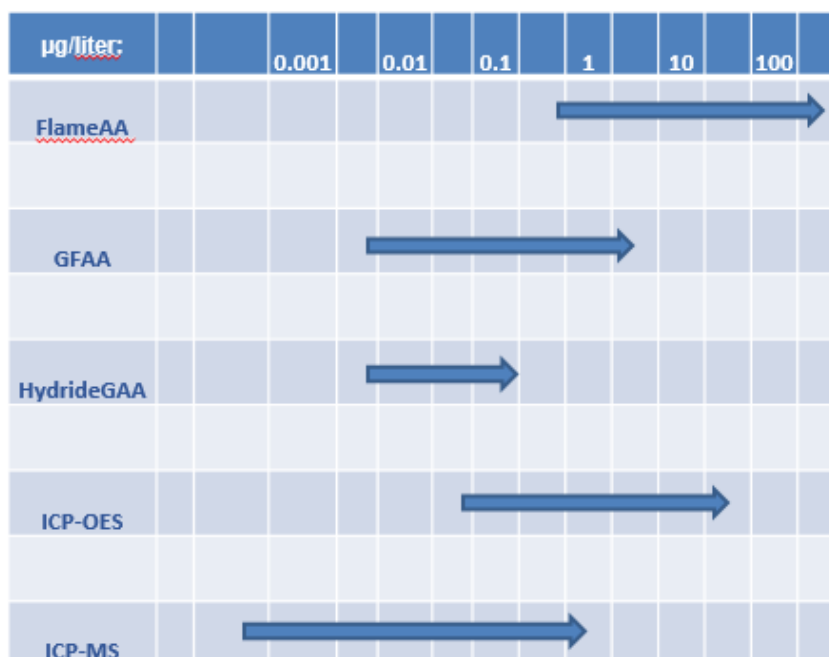
Instrumentelle Techniken

Induktiv gekoppeltes Plasma mit Massenspektrometrie (ICP-MS)

Eine spezielle Form der ICP ist die Kombination mit Massenspektrometrie (ICP-MS), wobei eine Hochtemperatur-ICP-Quelle mit einem Massenspektrometer kombiniert wird. Die Elemente in der Probe werden durch die ICP in Ionen umgewandelt und anschließend vom Massenspektrometer getrennt und detektiert. Dies bietet mehrere Vorteile:

- Aufgrund der hohen Temperatur der ICP-Quelle können sowohl einfache als auch komplexe Matrices mit geringen Matrixinterferenzen bewältigt werden.
- Die Nachweisgrenzen sind in der Regel ebenso gering oder geringer als jene, die bei der Graphitofen-AAS (GFAAS) erreicht werden.
- Das Nachweisvermögen ist im Vergleich zur ICP-AES sehr gut, bei gleichem Probendurchsatz.
- Es kann ein höherer Durchsatz als bei der GFAAS erreicht werden.
- Es ist möglich, Isotope zu unterscheiden.

In der Tabelle sind die typischen Erfassungsbereiche der verschiedenen Atomspektroskopietechniken aufgeführt:



Instrumentelle Techniken

pH

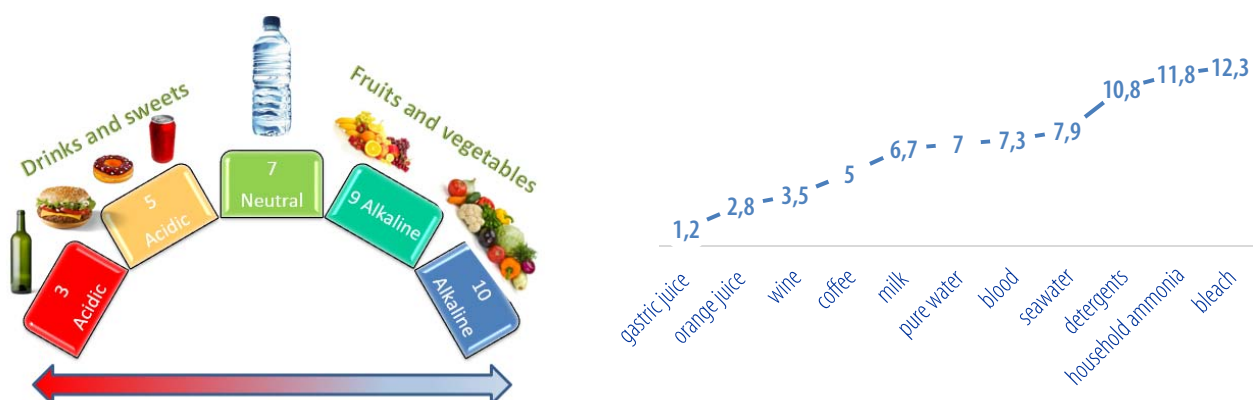
Der pH-Wert ist ein schnell messbarer Parameter, der erste Informationen über die Qualität verschiedener Arten von rohen oder verarbeiteten Lebensmitteln liefert.

Bei Milch beispielsweise liegt der pH-Wert bei ca. 6,8 und wird sowohl direkt nach dem Melken als auch am Endpunkt der Lieferkette überprüft. Bei verschiedenen Prozessen, wie der Sterilisation, wird der pH-Wert regelmäßig überprüft, da ein geringer Wert den Prozess beschleunigen kann. Ein erniedrigter pH-Wert kann aber beispielsweise auch auf Leukozyteninfektionen beim Rind hinweisen.

Ein anderes Beispiel ist Fleisch. Die pH-Messung von Schlachtkörpern ist eine wichtige Erstuntersuchung zur Bestimmung des Zustands von Tieren vor der Schlachtung, der Qualität der Aufzucht und von Anzeichen für Stress während der Schlachtung. Der typische pH-Wert, im Bereich von 5,4 bis 7,0, kann auch einen Hinweis darauf geben, ob das frische Fleisch sachgerecht gelagert wurde, da der pH-Wert in verschiedenen Teilen des Tieres abhängig von der Muskelmasse variiert (Lende hat z.B. einen niedrigeren pH-Wert).

Zu hohe pH-Werte sind Anzeichen für einen Aromaverlust und ein sichtbar dunkleres Fleisch, was zu einem niedrigeren Marktwert führt. Neben dem rohen Fleisch werden auch die Inhaltsstoffe, die bei der Herstellung von Schinken und Würsten verwendet werden, oft gekühlt. Durch einfache Überprüfung des pH-Werts an den Zulauf- und Abflusspunkten des Verflüssigers lässt sich bestimmen, ob Ammoniak ausgetreten ist.

Einige typische Beispiele für pH-Werte von Lebensmitteln:



Instrumentelle Techniken

pH

Das Konzept des pH-Werts wurde im Jahr 1909 von dem Dänischen Chemiker Søren Peder Lauritz Sørensen im Carlsberg-Labor eingeführt und besteht in seiner modernen, überarbeiteten Form seit 1924. Die genaue Bedeutung des „p“ in „pH“ ist umstritten. Der Carlsberg-Stiftung zufolge steht pH für „power of hydrogen“. Ein anderer Vorschlag ist, dass „pH“ für die lateinischen Begriffe „pondus hydrogenii“ (Wasserstoffmenge) oder „potentia hydrogenii“ (Wasserstoffkapazität oder Wasserstoffpotenzial) steht.

Bei der heutigen Verwendung in der Chemie steht p für „negativ dekadischer Logarithmus von“, wie auch in der Bezeichnung pK_a, die für die Säuredissoziationskonstante verwendet wird. Per Definition ist der pH-Wert ein Maß für die Azidität oder Basizität einer wässrigen Lösung, der von der relativen Anzahl der enthaltenen Wasserstoffionen (H⁺) bzw. Hydroxidionen (OH⁻) bestimmt wird.

Für gewöhnlich wird der pH-Wert als der negative Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration betrachtet:

$$\text{pH} = -\log_{10} [\text{H}^+].$$

H ⁺ -Konzentration (mol/l)	OH ⁻ -Konzentration (mol/l)	pH
1	0,000000000000001	0
0,1	0,00000000000001	1
0,01	0,00000000000001	2
0,001	0,0000000000001	3
0,0001	0,000000000001	4
0,00001	0,00000000001	5
0,000001	0,0000000001	6
0,0000001	0,00000001	7
0,00000001	0,000001	8
0,000000001	0,00001	9
0,0000000001	0,0001	10
0,00000000001	0,001	11
0,000000000001	0,01	12
0,0000000000001	0,1	13
0,00000000000001	1	14

Auf diese Weise wurde eine einfache Skala von 0 bis 14 erstellt, die pH-Wert-Skala.

Die pH-Wert-Skala ist logarithmisch, demnach ist der pH-Wert eine dimensionslose Größe.

Instrumentelle Techniken

pH

Eigentlich handelt es sich genau genommen um die Wasserstoff- bzw. Protonenaktivität. Eine pH-Messung bestimmt nur die Konzentration aktiver Wasserstoffionen in einer Lösung, nicht die Gesamtkonzentration an Wasserstoffionen. Nur in verdünnten Lösungen sind alle Anionen und Kationen so weit voneinander entfernt, dass die H^+ -Ionen-Konzentration und die H^+ -Ionen-Aktivität identisch sind.

Dies ist der Grund für die in reinem Wasser bei Temperaturänderungen beobachtete pH-Wert-Änderung. Wenn die Temperatur in reinem Wasser steigt, nimmt die Dissoziation von Wasserstoff- und Hydroxylionen zu. Da der pH-Wert nur von der Konzentration der dissoziierten Wasserstoffionen abhängt, nimmt der pH-Wert ab, obwohl das Wasser immer noch neutral ist.

Gemäß der Nernst-Gleichung gilt:

$$E = E^0 + \frac{RT}{F} \ln(a_{H^+}) = E^0 - \frac{2.303RT}{F} pH$$

E ist ein gemessenes Potenzial,
 E^0 ist das Standardelektrodenpotenzial,
 R ist die Gaskonstante,
 T ist die Temperatur in Kelvin,
 F ist die Faraday-Konstante.

Für H^+ ist die Anzahl der übertragenen Elektronen gleich eins.

Das bedeutet, dass das Elektrodenpotenzial proportional zum pH-Wert ist, wenn der pH-Wert auf die Aktivität bezogen definiert ist und der pH-Wert einer Probe sich mit der Temperatur der Probe ändert.

Der pH-Wert wird gewöhnlich mit Indikatorstreifen bestimmt oder mit Geräten unter Anwendung einer pH-empfindlichen Glaselektrode, einer Referenzelektrode und eines Temperaturfühlers gemessen. Diese Komponenten können in einer kombinierten Glaselektrode vereint sein.

Die pH-Elektrode enthält ein speziell formuliertes, pH-empfindliches Glas, das in Kontakt mit der Lösung steht und ein Potenzial (d.h. eine Spannung) aufbaut, das proportional zum pH-Wert der Lösung ist. Die Referenzelektrode ist so gestaltet, dass sie ein konstantes Potenzial bei jeder Temperatur aufrechterhält.

Instrumentelle Techniken

pH

Im Messprozess ist die Kalibrierung der Elektrode sehr wichtig: Das Potenzial ist proportional zum pH-Wert, aber um den absoluten Wert zu kennen, müssen Kalibrierungslösungen verwendet werden, deren pH-Werte idealerweise im Bereich oder in der Nähe des pH-Bereichs der Probe liegen.

Die meisten Geräte bieten eine automatische Berechnung der Kalibrierungskurve anhand einer Zweipunkt- oder Dreipunkt-Kalibrierung.

Die pH-Wert-Messung scheint einfach zu sein, aber es gibt mehrere potenzielle Fehlerquellen:

- Qualität der Kalibrierungslösung
- Probleme mit dem Kalibrierungsprozess
- Korrekte Rekalibrierungszeit
- Fehler aufgrund der Funktion der Elektrode bei hohem oder niedrigem pH-Wert („Basenfehler“, „Säurefehler“)
- Korrektheit der Temperaturkompensation
- Alterung der Elektrode



Certipur® Standard reference materials and buffers

Not all reference materials
are the same ...



Merck Millipore is a division of  MERCK

Instrumentelle Techniken

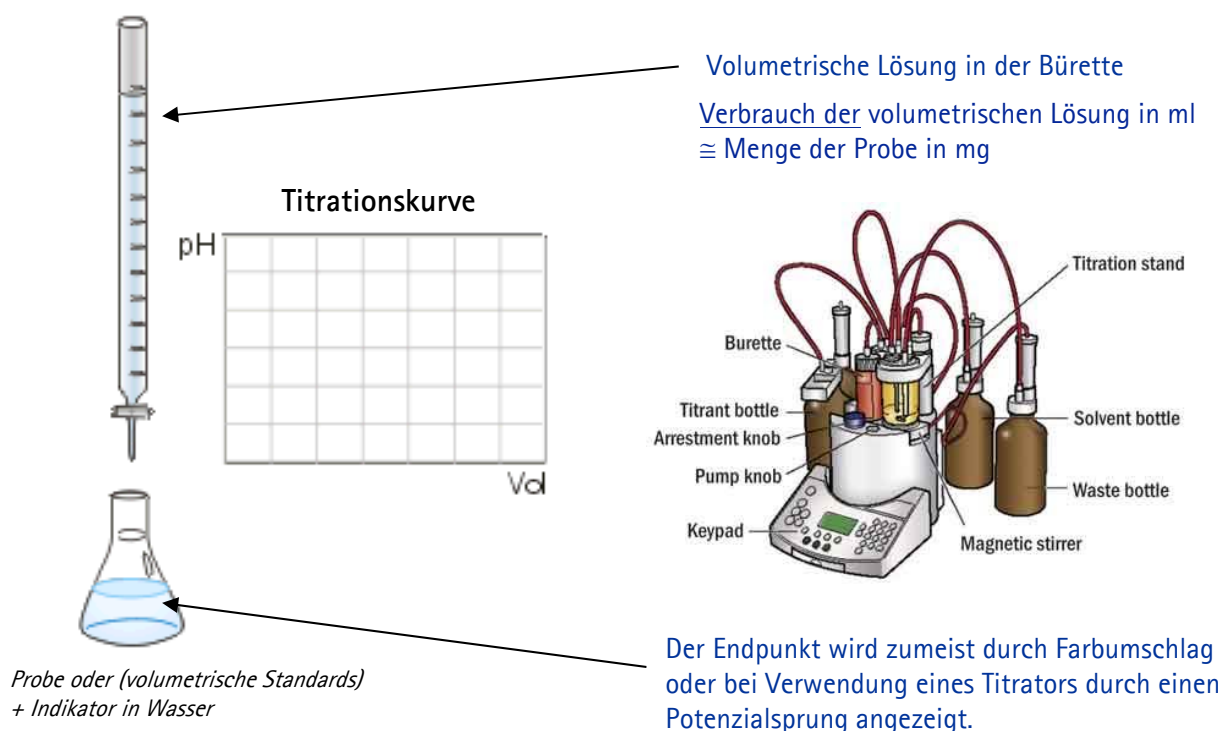
Titration

Bei Lebensmittelproben ist die Titration ein sehr häufig verwendetes Verfahren zur Bestimmung verschiedener Inhaltsstoffe.

Die Titration kann per Hand oder instrumentell durchgeführt werden. Sie kann abhängig von der Zahl und Diversität der Proben, der Zeit sowie dem Budget und der Personalkapazität, die dem Labor zur Verfügung stehen, problemlos an die Anforderungen des Unternehmens angepasst werden.

Prinzip:

Die Titration ist eine Analysetechnik zur quantitativen Bestimmung einer bestimmten in einer Probe gelösten Substanz (des Analyten).

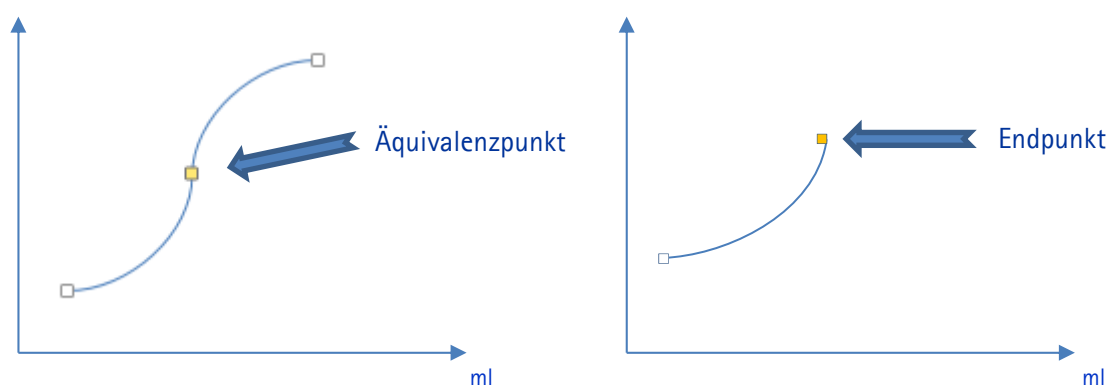


Die volumetrische Titration beruht auf einer vollständigen chemischen Reaktion zwischen dem Analyten und einem Reagenz (Titrationsmittel) bekannter Konzentration, das der Probe zugesetzt wird.

Instrumentelle Techniken

Titration

Man unterscheidet verschiedene Arten der Titration nach dem Reaktionstyp, dem Nachweisverfahren oder nach Art der gewünschten Titrationskurve (Äquivalenzpunkt oder Endpunkt).



Klassische Titrationsen wurden mit einem Indikator durchgeführt, der einen Farbumschlag verursacht (siehe Beispiele für Säure-Base-Titration in der Tabelle).

Heute ist es auch bei manuellen Titrationsen üblicher, eine Elektrode für den Nachweis zu verwenden.

Indikator	Farbe im sauren Bereich	pH-Bereich des Farbumschlags	Farbe im basischen Bereich
Methylviolett	Gelb	0,0–1,6	Violett
Bromphenolblau	Gelb	3,0–4,6	Blau
Methylorange	Rot	3,1–4,4	Gelb
Methylrot	Rot	4,4–6,3	Gelb
Litmus	Rot	5,0–8,0	Blau
Bromthymolblau	Gelb	6,0–7,6	Blau
Phenolphthalein	Farblos	8,3–10,0	Rosa
Alizarin gelb	Gelb	10,1–12,0	Rot

Instrumentelle Techniken

Titration

Einige Beispiele für typische Titrationen in Lebensmittelproben sind:

- Säure-Base-Titration Verseifungszahl, mithilfe einer pH-Glaselektrode
- Redox Titration Vitamin-C-Gehalt, mithilfe einer Platinredoxelektrode
- Komplextometrische Titration Calciumgehalt, mithilfe eines photometrischen oder ionenselektiven Sensors
- Thermometrische Titration Salz als Natriumgehalt, mithilfe eines Temperatursensors
- Fällungstitration Salz als Chloridgehalt, mithilfe einer Silberringelektrode

Titrationen:

Man versteht wie wichtig die exakte Konzentration des Titrationenmittels (der sog. Titer) ist, wenn man bedenkt, dass das Ergebnis daraus berechnet wird!

Von Fall zu Fall muss die Stabilität eines Titrationenmittels im Lauf der Zeit berücksichtigt werden. Es können verschiedene Faktoren zu einer Abweichung vom Titer führen:



- Ungenaue Herstellung des Titrationenmittels
- Mangelnde Reinheit des verwendeten Titrationenmittels
- Mangelnde Stabilität des Titrationenmittels

Titripur®
The Measure of all Things
Titration Guide for
Titer Determination



Ein Beispiel für den letzten Punkt sind basische Titrationenmittel wie Hydroxide.

Sie nehmen im Laufe der Zeit Kohlendioxid aus der Luft auf, sodass sich ihre Molarität ändert. Ein anderes Beispiel ist die bekannte Karl-Fischer-Titration, bei der es praktisch nicht zu vermeiden ist, dass Feuchtigkeit aus der Umgebung in das Titrationenmittel gelangt.

Der Faktor für die effektive Konzentration wird mithilfe einer Titerbestimmung ermittelt, d.h. der Titration eines Stoffes mit exakt bekannter Konzentration, in der Regel ein Primärstandard.

Instrumentelle Techniken

Rückführbarkeit von volumetrischen Lösungen und Volumetrie-Standards auf Standardreferenzmaterialien (SRM) des NIST

Volumetrisches Verfahren	Standardreferenzmaterial (SRM)	Volumetrische Lösung	Volumetrische Standards Produkte
Azidimetrie	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan (NIST)	HCl	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan Volumetrie-Standard, sekundäres Referenzmaterial für die Acidimetrie, rückführbar auf Standardreferenzmaterial (SRM) des NIST, Certipur® Reag. USP 1.02408.0080
		HCl	Natriumcarbonat Volumetrie-Standard, sekundäres Referenzmaterial für die Acidimetrie, rückführbar auf Standardreferenzmaterial (SRM) des NIST, Certipur® Reag. Ph. Eur. 1.02405.0080
Alkalimetrie	Kaliumhydrogenphthalat (NIST)	NaOH	Natriumcarbonat Volumetrie-Standard, sekundäres Referenzmaterial für die Acidimetrie, rückführbar auf Standardreferenzmaterial (SRM) des NIST, Certipur® Reag. Ph. Eur. 1.02405.0080
	Benzoessäure (NIST)	NaOH	Kaliumhydrogenphthalat Volumetrie-Standard, sekundäres Referenzmaterial für die Alkalimetrie, rückführbar auf Standardreferenzmaterial (SRM) des NIST, Certipur® Reag. Ph. Eur., Reag. USP 1.02400.0080
Argentometrie	Kaliumchlorid (NIST)	AgNO ₃ -Lösung	Benzoessäure Volumetrie-Standard, sekundäres Referenzmaterial für die Alkalimetrie, rückführbar auf Standardreferenzmaterial (SRM) des NIST, Certipur® Reag. Ph. Eur., Reag. USP 1.02401.0060
Reduktometrie	Kaliumdichlorat (NIST)	Natriumthiosulfatlösung	Natriumchlorid Volumetrie-Standard, sekundäres Referenzmaterial für die Argentometrie, rückführbar auf Standardreferenzmaterial (SRM) des NIST, Certipur® 1.02406.0080
		Natriumthiosulfatlösung	Kaliumdichromat Ursubstanz, Sekundäres Referenzmaterial für Redox titrationen, Zurückgeführt auf Standard Referenz Material (SRM) von NIST Certipur® Reag. USP 1.02403.0100
Oxidometrie	di-Natriumoxalat (NIST)	Kaliumpermanganatlösung	Eisen(II)-ethylendiammoniumsulfat Volumetrie-Standard, sekundäres Referenzmaterial für Redox titrationen, rückführbar auf Standardreferenzmaterial (SRM) des NIST, Certipur® 1.02402.0080
		Kaliumpermanganatlösung	di-Natriumoxalat Volumetrie-Standard, sekundäres Referenzmaterial für Redox titrationen, rückführbar auf Standardreferenzmaterial (SRM) des NIST Certipur® Reag. USP 1.02407.0060
Komplexometrie	Zink (NIST)	EDTA (Titrplex-III-Lösung)	Zink Volumetrie-Standard, sekundäres Referenzmaterial für die Komplexometrie, rückführbar auf Standardreferenzmaterial (SRM) des NIST Certipur® Reag. Ph Eur 1.02409.0100
		EDTA (Titrplex-III-Lösung)	Calciumcarbonat Volumetrie-Standard, sekundäres Referenzmaterial für die Komplexometrie, rückführbar auf Standardreferenzmaterial (SRM) des NIST Certipur® Reag. USP 1.02410.0100

Instrumentelle Techniken

Titration

Weitere potenzielle Fehlerquellen:

Sensor:

- Wenn die Titration mit pH-Endpunkt-Detektion durchgeführt wird, müssen alle im Kapitel pH-Wert erwähnten Faktoren berücksichtigt werden.
- Grundsätzlich muss für die Instandhaltung der Elektrode gesorgt werden, um die erforderliche Empfindlichkeit und Reaktionszeit zu gewährleisten.

Temperatur:

- Wenn die Titration mit pH-Endpunkt-Detektion durchgeführt wird, müssen die im Kapitel pH-Wert erwähnten Faktoren berücksichtigt werden.
- Grundsätzlich wird jede volumetrische Titration durch temperaturbedingte Dichteänderungen und die damit verbundenen Konzentrationsänderungen beeinflusst (wenn man beispielsweise im Sommer eine Titerbestimmung morgens bei 22 °C durchführt und die Temperatur im Labor am Nachmittag bis auf 32 °C ansteigt, wird sich der Titer erheblich verändert haben.)

Konditionierung der Geräte/Ausrüstung:

Sie müssen sicherstellen, dass Sie geeignete Glaswaren verwenden und die regelmäßigen Wartungen nicht vergessen.

Probenhandhabung:

Um sicher zu gehen, dass zuverlässige Ergebnisse erzielt werden, muss der gesamte Arbeitsablauf der Titration überprüft werden, einschließlich der Probenahme, der Handhabung/Lagerung der Proben und der Wiegens (einschließlich der Überprüfung der Waage).



Instrumentelle Techniken

Karl-Fischer-Titration

Eine besondere Art der Titration ist die sogenannte Karl-Fischer-Titration (KF-Titration) zur Bestimmung des Wassergehalts.

Der Wassergehalt hat eine wichtige Bedeutung für die Qualität und die Haltbarkeit der meisten Lebensmittelprodukte. Doch wie kann der Gehalt an Wasser (in all seinen Formen) spezifisch, aber ohne jegliche andere Zersetzungsprodukte bestimmt werden? Dies kann entweder mit großer und teurer Messausrüstung (z.B. GC, NMR usw.) oder durch die wasserspezifische KF-Titration erreicht werden.

Die Reaktion:



Wasser und Iod werden bei dieser Reaktion in äquimolaren Mengen verbraucht – das bedeutet, dass man, wenn die Menge an verbrauchtem I₂ bekannt ist, auch die Menge an Wasser kennt, die in der Probe vorhanden war.

Der Endpunkt wird meistens durch ein bipotentiometrisches Verfahren bestimmt.

Man unterscheidet zwischen dem volumetrischen und dem coulometrischen Verfahren.

	Titrimetrie	Coloumetrie
Geeignet für Proben mit:	Hoher Feuchtigkeitsgehalt	Wassergehalt im ppm-Bereich
Titration	Bipotentiometrisch	Bipotentiometrisch
Ioderzeugung	In den Reagenzien enthalten	An der Elektrode erzeugt

Daumenregel:

Proben mit > 1 % Wasser = volumetrisches Verfahren

Proben mit < 1 % Wasser = coulometrisches Verfahren

Instrumentelle Techniken

Karl-Fischer-Titration

In den meisten Fällen besteht die Probenvorbereitung nur aus einer Homogenisierung. Diese kann mit einem Homogenisator direkt im Titrationsgefäß durchgeführt werden.

Grundsätzlich müssen bei der KF-Titration verschiedene Nebenreaktionen mit Aldehyden und Ketonen beachtet werden. Allerdings ist in Lebensmittelproben die Konzentration dieser Verbindungen in der Regel sehr niedrig, sodass das Ergebnis bezüglich des Wassergehalts nicht signifikant beeinflusst wird.

Bei der Titration sollten einige wichtige Aspekte beachtet werden:

- Wasser kann in verschiedenen Formen (Oberfläche, innere Löcher, Komplexe) in der Probe vorliegen. Es ist wichtig seine Probe zu kennen.
- Wählen Sie das richtige Verfahren, das dem Wassergehalt angemessen ist.
- Prüfen Sie, ob der Titer noch korrekt ist.
- pH-Wert und Temperatur können das Ergebnis beeinflussen.



Apura®
For highest standards.

Water determination according to Karl Fischer



Merck Millipore is a division of  MERCK

Instrumentelle Techniken

Chromatographie

Chromatographie ist ein Sammelbegriff für verschiedene Techniken zur Trennung von Gemischen. Ein Träger/Vehikel, das als mobile Phase bezeichnet wird, trägt das Probengemisch durch eine permanente Struktur (mit oder ohne chemische Modifizierung), die als stationäre Phase bezeichnet wird. Die verschiedenen Bestandteile des Probengemisches wandern mit unterschiedlicher Geschwindigkeit und interagieren unterschiedlich stark mit der stationären Phase, wodurch sie aufgetrennt werden. Der Trennprozess beruht auf der unterschiedlichen Verteilung zwischen der mobilen und der stationären Phase.

Es gibt Unterschiede bezüglich der Wahl von:

- Träger oder Basismaterial der stationären Phase
- Zusammensetzung der mobilen Phase
- physikalischen Parametern (wie Temperatur, Druck, verschiedene Größen bezüglich Länge, Durchmesser)

Die Techniken können nach der mobilen und der stationären Phase unterschieden werden.

- | | |
|-------------------------------------|----------------------|
| - Gaschromatographie (GC): | Gas + Säule |
| - Flüssigkeitschromatographie (LC): | Flüssigkeit + Säule |
| - Dünnschichtchromatographie (TLC): | Flüssigkeit + Platte |

Wenn man eine große Anzahl von Proben mit einer komplexen Matrix hat und nur eine minimale Probenvorbereitung vornehmen möchte, empfiehlt sich die Dünnschichtchromatographie.

Wenn man an flüchtigen Verbindungen interessiert ist, ist die Gaschromatographie die bevorzugte Technik.

Wenn man Verunreinigungen in geringer Konzentration nachweisen will, ist die Ultra/Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC/UHPLC) eine brauchbare Alternative, da sie eine sehr hohe Trenneffizienz bietet und die gewünschten Moleküle in scharfen Peaks eluiert und so einen sensitiven Nachweis erlaubt.

Im Anschluss an den Chromatographie-Schritt muss eine Methode zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung der Verbindungen verfügbar sein. Verschiedene Arten von Molekülen und verschiedene Konzentrationsbereiche erfordern unterschiedliche Nachweistechiken.

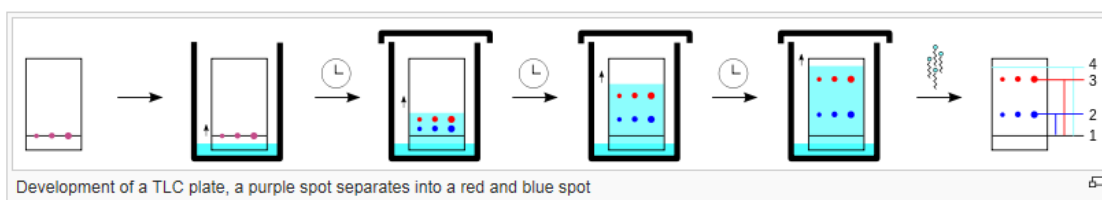
Um die am besten geeignete Nachweismethode auszuwählen, sollten die folgenden wichtigen Parameter beachtet werden: die chemische Natur der Analyte, potenzielle Interferenzen, die erforderliche Nachweisgrenze (LOD) und Erfassungsgrenze (LOQ), Linearitätsbereich, Verfügbarkeit und/oder Kosten des Detektors.

Instrumentelle Techniken

Dünnschichtchromatographie (TLC)

Die Dünnschichtchromatographie (TLC) ist eine Technik, bei der Verbindungen auf einer dünnen Schicht eines Adsorptionsmittelmaterials – typischerweise eine Schicht Kieselgel auf einer dünnen Glas- oder Plastikplatte bzw. Aluminiumfolie – getrennt werden.

Die TLC ist eine unkomplizierte und äußerst kostengünstige Technik, die aufgrund der hohen Matrixtoleranz Probenvorbereitung und chromatographische Trennung in einem Schritt ermöglicht.



Ein kleiner Punkt der die Probe enthaltenden Lösung wird auf eine TLC-Platte aufgetragen. Eine kleine Menge eines geeigneten Lösungsmittels (Elutionsmittel) wird in eine Trennkammer gegossen. Die TLC-Platte wird dann so in die Kammer gelegt, dass der Punkt bzw. die Punkte der Probe die Oberfläche des Elutionsmittels in der Kammer nicht berühren, und die Kammer wird mit einem Deckel verschlossen. Das Lösungsmittel wandert durch Kapillarkräfte die Platte herauf, trifft auf das Probengemisch und trägt es mit sich nach oben.

Die Verbindungen werden nach ihrer unterschiedlichen Anziehung an die stationäre Phase und aufgrund der unterschiedlichen Löslichkeit im Lösungsmittel getrennt. In einigen Fällen sind farbige Bestandteile darunter, sodass die verschiedenen Verbindungen visuell auf der Platte erkennbar sind. Häufiger verwendete Nachweismöglichkeiten sind:

1. die Verwendung einer speziellen Lösung, die zu einer Farbreaktion mit dem Analyten führt (z.B. Iod)
2. UV-Licht (366 nm, um fluoreszierende organische Verbindungen sichtbar zu machen, oder 254 nm mit einer Platte mit einer Adsorptionsmittelschicht, die bei dieser Wellenlänge fluoresziert und auf der die Punkte des Analyten diese Fluoreszenz löschen.)
3. Nach der Elution des Punktes kann eine beliebige andere Analysetechnik verwendet werden, um die Verbindung zu identifizieren (z.B. MS).

Die TLC wird oft als manuelle Technik verwendet, aber es gibt verschiedene Möglichkeiten der Automatisierung von Anwendung, Detektion oder Auswertung sowie Dokumentation.

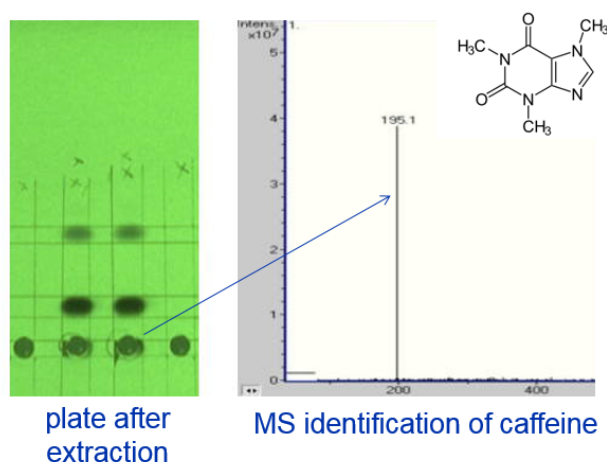
Instrumentelle Techniken

Dünnschichtchromatographie mit Massenspektrometrie (TLC-MS)

Im Laufe der letzten Jahre wurden mehrere Kopplungstechniken für die Massenspektrometrie entwickelt, die den Anwendungsbereich der TLC-MS-Analyse erweitern und die eindeutige Identifizierung von Stoffen ermöglichen.

Die am häufigsten verwendete Technik zur Kopplung von TLC und MS ist die elutionsbasierte Probenahme. Dabei handelt es sich um ein halbautomatisches System, das Analyte aus der TLC-Platte extrahiert und sie direkt in das Massenspektrometer überführt. Es ist für alle Dünnschichtmaterialien und alle LC-MS-kompatiblen Elutionsmittel geeignet. Die Schnittstelle kann problemlos mit jeder Art von LC-gekoppeltem Massenspektrometer verbunden werden. Demnach ist das Anwendungsgebiet ziemlich groß.

Das wahrscheinlich bedeutendste Leistungsmerkmal der elutionsbasierten Kopplung ist die vollständige Unabhängigkeit vom Massenspektrometer – es kann im Prinzip ein beliebiges MS-System verwendet werden. Außerdem ist eine prozessentkoppelte Extraktion in Gefäße möglich, wenn eine zusätzliche Analyse (z.B. mit NMR) benötigt wird. Im direkten TLC-MS-Betrieb befindet sich die Schnittstelle zwischen der HPLC-Pumpe und dem MS-System und ist mehr oder weniger ein Plug-and-Play-Gerät. Man kann durchaus sagen, dass solche Systeme die niedrigste Schwelle für den Einstieg in die TLC-MS bieten und mit beinahe jeder Art von Platte verwendet werden können.



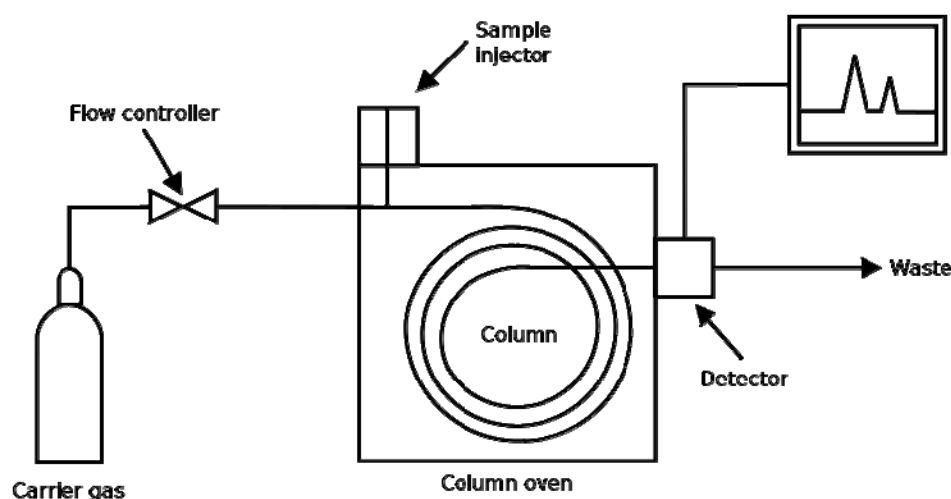
Instrumentelle Techniken

Gaschromatographie (GC)

Die Gaschromatographie (GC) ist eine Technik zur Trennung von flüchtigen, wärmebeständigen Verbindungen. Sie ist einfach, leicht anzuwenden und kann im hohen Maße automatisiert werden.

Bei der Gaschromatographie wird ein Gas verwendet, um ein Gemisch mithilfe von Druck als treibender Kraft über ein Säulenbett zu tragen. Demnach gehört zum System eine Gasquelle (Tank oder Gaserzeuger) mit Reglern zur Regelung des Gasstroms. Die am häufigsten verwendeten Trägergase sind Helium, Wasserstoff und Stickstoff.

Außerdem werden ein Ofen, ein Injektor für den Probeneintrag, die Säule und ein Detektor benötigt. Die Injektion muss unter Druck erfolgen. Die stationäre Phase ist eine Kapillarsäule mit verschiedenen Modifikationen der inneren Oberfläche.



Die am häufigsten verwendeten Detektoren sind Flammenionisationsdetektor (FID) und Wärmeleitfähigkeitsdetektor (WLD oder TCD).

TCDs sind im Wesentlichen universell einsetzbar und können zur Detektion jedes Bestandteils mit Ausnahme des Trägergases verwendet werden (vorausgesetzt, dass sich die Wärmeleitfähigkeit der Verbindung bei der Temperatur des Detektors von der des Trägergases unterscheidet). FIDs sind in erster Linie empfindlich gegenüber Kohlenwasserstoffen.

In den letzten Jahren werden immer häufiger Massenspektrometer (MS) in Verbindung mit GC eingesetzt. Sie sind hocheffektiv und hochempfindlich, selbst bei kleinen Probenmengen.

Instrumentelle Techniken

Flüssigkeitschromatographie (LC)

Die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) ist eine Trenntechnik, bei der man die am besten geeignete Trennweise auswählt, und zwar anhand der Löslichkeit der Probe und danach, wie die Zielanalyte sich von anderen Verbindungen der Probe oder der Probenmatrix unterscheiden. Bei der Umkehrphasen-Chromatographie (RP) ist die mobile Phase polar und die stationäre Phase unpolar. Der Hauptunterschied zwischen den Analyten ist ihre Hydrophobizität. Die Proben sollten in Wasser oder einem polaren organischen Lösungsmittel löslich sein.

Bei der Normalphasen-Chromatographie (NP) ist die mobile Phase unpolar und die stationäre Phase stärker polar. Der Hauptunterschied zwischen den Analyten ist nicht ihre Hydrophobizität. Die Proben sollten in einem hydrophoben Lösungsmittel wie Hexan löslich sein und die mobile Phase sollte ein schwaches bis mittelstarkes Lösungsmittel für die Probe sein.

Bei der Hydrophilen Interaktionschromatographie (HILIC) sind die Phasen dieselben wie für die Umkehrphasen-Chromatographie, aber mit entgegengesetzter Elutionsstärke. Der Hauptunterschied zwischen den Analyten ist ihre Hydrophilität. Die Probe sollte in einem polaren organischen Lösungsmittel oder einem Gemisch aus organischem Lösungsmittel und Wasser löslich sein. Der herkömmliche Ansatz für polare und hydrophile Verbindungen verwendet die Umkehrphasen-Trennung mit Ionenpaarmechanismus; diese wurde für ionische oder potenziell ionische Analyten verwendet. In diesem Fall enthält die mobile Phase einen Puffer, ein Ionenpaarreagenz und ein polares organisches Lösungsmittel. Typische Ionenpaarreagenzien sind Alkylsulfonate (Heptansulfonsäure, Octansulfonsäure), die für Basen verwendet werden, und quartäre Amine (Tetrabutylammoniumchlorid), die für Säuren verwendet werden.

Die Wahl der richtigen HPLC-Säule

Die Auflösung der chromatographischen Trennung wird hauptsächlich von der Selektivität (α) beeinflusst. Die Änderung der Zusammensetzung der mobilen oder der stationären Phase ist die wirksamste Weise, die Selektivität zu optimieren. Partikelgröße, Porengröße, Säulenlänge, Temperatur und Stärke der mobilen Phase haben deutlich geringere Auswirkungen. Wenn keine zufriedenstellenden Ergebnisse erzielt werden oder keine Retention erreicht wird, ist es demnach besser, die Selektivität durch Verwendung eines anderen Säulentyps und/oder einer anderen mobilen Phase zu ändern.

Die Auflösung (R_s oder R) kann mithilfe von drei Parametern angegeben werden (k , α , und N), die direkt mit den experimentellen Bedingungen zusammenhängen. Der Faktor k ist der durchschnittliche Retentionsfaktor für zwei benachbarte Banden, N ist die Bodenzahl der Säule und α ist der Trennfaktor (oder Selektivitätsfaktor). Die Parameter k und α werden durch die experimentellen Bedingungen bestimmt (Zusammensetzung der mobilen Phase, chemische Eigenschaften und Temperatur der stationären Phase). Die Bodenzahl N hängt von der Säulenlänge, der Partikelgröße und der Porengröße ab.

Instrumentelle Techniken

Flüssigkeitschromatographie (LC)

Wahl des richtigen Säulenformats

Wählen Sie die beste Säulenkonfiguration, die eine minimale Analysezeit und gleichzeitig hohe Effizienz und Auflösung bietet. Passen Sie die Säule dem Trennziel an, um zu gewährleisten, dass das gewählte Format in der Lage ist, eine Auflösung zu liefern, die zum Anwendungszweck passt, d.h. wählen Sie die richtige Säulenlänge, einen geeigneten Säuleninnendurchmesser und die richtige Partikel- und Porengröße. Wenn Sie eine hohe Massenbelastbarkeit benötigen, empfiehlt sich eine größere Säule (bezüglich Länge und Durchmesser), da diese mehr Masse aufnehmen kann. Wenn Sie mit herkömmlichen Detektoren arbeiten, wie UV, RI (Refraktionsindex), FL (Fluoreszenz) usw., sind Säulen mit einem Innendurchmesser (ID) von 4,6 oder 3,0 mm geeignet; für die MS werden im Allgemeinen Säulen mit einem ID von 2 mm oder weniger empfohlen.

Wenn Sie eine ausreichende Auflösung erzielen, ist es möglich, die Trennung durch Erhöhen der Flussrate oder Wahl einer kürzeren Säule zu beschleunigen. Kieselgelbasierte Materialien sind physikalisch stabil und schrumpfen oder quellen nicht auf. Zugleich sind sie kompatibel mit einer großen Auswahl polarer und unpolarer Lösungsmittel und daher anfänglich oft die beste Wahl. Die meisten Kieselgelsäulen sind im pH-Bereich von 2 – 7,5 stabil. In der Vergangenheit boten polymere Füllmaterialien eine bessere Säulenstabilität unter extremen pH-Bedingungen. Ein polymerbasiertes Füllmaterial ist komprimierbar und kann bei Verwendung bestimmter Lösungsmittel schrumpfen oder aufquellen. Darauf muss bei Verwendung einer Polymersäule geachtet werden; zudem ist die Obergrenze für den Gegendruck der Säule geringer als bei entsprechenden stationären Phasen aus Kieselgel. Neuere Phasen aus hochreinem Kieselgel, wie Purospher STAR, sind im pH-Bereich von 1,5 – 10,5 stabil. Dabei sind die funktionellen Gruppen auf der Oberfläche an mehreren Verknüpfungspunkten über polymere Modifikation an die Partikel der Kieselgelbasis gebunden.

Partikelgröße

Eine geringere Partikelgröße bietet eine höhere Trenneffizienz und eine höhere chromatographische Auflösung als eine größere Partikelgröße. Größere Partikel bieten jedoch höhere Flussraten und niedrigeren Gegendruck der Säule. Sie sind zudem weniger anfällig für Verstopfen und aus diesen Gründen toleranter gegenüber Matrixeffekten. Die typische Partikelgröße liegt im Bereich von 3 – 20 µm, doch sind neuerdings auch 2 µm große Partikel erhältlich, um die Auflösung auf kurzen Purospher STAR-Säulen zu maximieren. Für die meisten (nicht Hochdurchsatz-) Anwendungen stellt eine Partikelgröße von 5 µm den besten Kompromiss aus Effizienz und Gegendruck dar.

Kohlenstoffgehalt

Bei kieselgelbasierten Umkehrphase-Füllmaterialien gibt der Kohlenstoffgehalt die Menge an funktionell gebundener Phase an, die mit dem Basismaterial verknüpft ist. Phasen mit geringem Kohlenstoffgehalt sind schwächer hydrophob. Dies kann die Retentionszeit gegenüber Phasen mit höherem Kohlenstoffgehalt erheblich reduzieren. Ein höherer Kohlenstoffgehalt bietet eine größere Kapazität und häufig eine höhere Auflösung, besonders bei Verbindungen von ähnlicher Hydrophobizität. Der Kohlenstoffgehalt ist kein relevanter Parameter für Säulen, die bei der Normalphasen oder HILIC-Chromatographie eingesetzt werden.

Instrumentelle Techniken

Flüssigkeitschromatographie (LC)

Porengröße

Wählen Sie Poren, die groß genug sind, um das Zielmolekül vollständig einzuschließen. Wenn das Zielmolekül größer ist als die Pore, kommt es zu Größenausschlusseffekten und es ist schwierig, oder unmöglich, das Molekül zurückzuhalten. Im Allgemeinen haben Füllmaterialien mit einer geringeren Porengröße eine größere Oberfläche und eine größere Kapazität als Füllmaterialien mit größeren Poren. Eine größere Oberfläche weist typischerweise auf eine größere Anzahl an Poren und damit eine größere Gesamtkapazität hin. Kleinere Oberflächen äquilibrieren schneller, dies ist wichtig für Analysen mit Gradientenelution. Größere Poren sind besser für die Wechselwirkung mit großen Verbindungen, wie Proteinen.

Endcapping

Kieselgelbasierte Umkehrphasen-Füllmaterialien haben freie Silanolgruppen, die mit polaren Verbindungen interagieren. Das Endcapping der gebundenen Phase minimiert diese sekundären Wechselwirkungen. Wählen Sie Phasen mit Endcapping, wenn Sie Wechselwirkungen mit polaren Verbindungen vermeiden wollen. Wählen Sie Phasen ohne Endcapping, wenn Sie die polare Selektivität verbessern wollen und eine stärkere Retention von polaren organischen Verbindungen erreichen wollen.

Wahl der mobilen Phase – Lösungsmittel und Pufferlösungen

Die Lösungsmittelstärke der mobilen Phase ist ein Maß für die Fähigkeit, Analyten aus der Säule zu eluieren. Sie wird im Allgemeinen durch die Konzentration des Lösungsmittels mit der höchsten Lösungsmittelstärke bestimmt. Bei der Umkehrphasen-HPLC mit wässrigen mobilen Phasen beispielsweise wäre das starke Lösungsmittel der organische Modifier, bei Normalphasen- und HILIC-Chromatographie wäre es das am stärksten polare Lösungsmittel. Es sei erwähnt, dass sich bei Normalphasentrennungen mit cyangebundenen Phasen leichter arbeiten lässt als mit einfachem Kieselgel. Das Ziel besteht darin, die richtige Konzentration des starken Lösungsmittels zu finden. Bei vielen Proben gibt es einen Bereich von Lösungsmittelstärken, der innerhalb der oben genannten Kapazitätsgrenzen angewendet werden kann. Es gibt weitere Faktoren (wie den pH-Wert), welche die Gesamtretention der Analyten beeinflussen können.

Detektion

Für die Spurenanalyse können Fluoreszenz-, elektrochemische oder Massendetektoren verwendet werden. UV-Detektoren werden am häufigsten verwendet, da diese Nachweismethode robust, kostengünstig und vielseitig ist. Die meisten Verbindungen absorbieren Licht, besonders bei niedrigen UV-Wellenlängen. Es ist möglich, einen Diodenarray-Detektor (DAD) zu verwenden, der die gleichzeitige Beobachtung mehrerer Wellenlängen erlaubt. Der Nachteil ist, dass UV-Detektoren nicht analytenspezifisch sind und die Technik erfordert, dass der Analyt bei der gewählten Wellenlänge mehr Licht absorbiert als die Probenmatrix.

Weitere Informationen finden Sie im „Chrombook“.

Instrumentelle Techniken

Massenspektrometrie (MS)

Die Massenspektrometrie wird heute als etabliertes Standardnachweisverfahren angesehen. MS-Detektoren können mit verschiedenen Trennverfahren wie Flüssigkeitschromatographie (LC), Dünnschichtchromatographie (TLC) oder Gaschromatographie (GC) gekoppelt werden, wobei die Kombination mit der LC der weitaus häufigste Aufbau ist. Im Gegensatz zu einfacheren Detektoren, d.h. UV, Refraktionsindex (RI), Fluoreszenz (FL) usw., erzeugt die MS Daten zu Molekülmassen und detaillierte Strukturparameter und bietet damit die Möglichkeit, im SIM-Modus (SIM: Selected Ion Monitoring) zwischen koeluiierenden Peaks zu unterscheiden. Dieser Modus reduziert die Anforderungen an die chromatographische Retention und die Auflösung vor der Detektion. Trotzdem ist es immer besser, eine gute Retention und vollständige Auflösung der Peaks zu erreichen, um Ionensuppression oder Ionenverstärkung zu vermeiden.

Massenspektrometer können vom Quadrupol-, Magnetsektor-, Time-of-Flight-, Ionenfallen- oder Ionen-Cyclotron-Resonanz-Typ sein. Ein Quadrupol-Massenanalysator besteht aus vier parallelen Stäben, an die eine konstante Gleichstrom- und eine alternierende Hochfrequenzspannung angelegt werden. Das HPLC-System trennt gelöste Analyten unter Umgebungsdruck (760 Torr) und liefert die Probe an das MS, wo die Detektion der gasförmigen, ionisierten Proben unter Hochvakuumbedingungen (10^{-5} - 10^{-6} Torr) durchgeführt wird. Die Überführung der Analytenlösung von der LC zum MS geschieht über eine Schnittstelle. Die Schnittstelle wandelt die Probe schrittweise in ein Aerosol um, ionisiert sie und entfernt das Lösungsmittel. Dann werden die Ionen fokussiert und entlang der Mitte der Quadrupole geleitet. Ihre Bewegung hängt von den elektrischen Feldern ab, sodass sich nur Ionen mit einem bestimmten Masse-Ladungs-Verhältnis (m/z) auf einer stabilen Bahn zum Detektor bewegen. Die Hochfrequenzspannung wird variiert, um Ionen mit unterschiedlichem m/z -Masse-Ladungs-Verhältnis in den Brennpunkt des Detektors zu bringen und so ein Massenspektrum aufzubauen.

Abhängig von den physikalischen Eigenschaften und der Molekülmasse der Moleküle werden verschiedene Arten von Schnittstellen verwendet. Sie unterscheiden sich in der Art der Ionisierung der Moleküle und dem während dieses Vorgangs angewandten Druck. Derzeit arbeiten alle üblichen Ionisierungstechniken unter Umgebungsdruck; dazu gehören die Elektrospray-Ionisierung (ESI), die chemische Ionisierung bei Atmosphärendruck (APCI), Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization (MALDI) und die weniger bedeutende Photoionisierung unter Atmosphärendruck (APPI). ESI und APCI sind die bei weitem am häufigsten verwendeten Techniken in LC-MS-Verfahren. Die abseitigeren Techniken Elektronenionisierung (EI) und chemische Ionisierung (CI) arbeiten unter Hochvakuumbedingungen und haben den Vorteil, dass sie für die GC-MS-Kopplung geeignet sind. Quadrupol-Massenspektrometer haben bei Verwendung in Kombination mit der Flüssigkeitschromatographie normalerweise zwei Konfigurationen, und zwar entweder als einfaches Einzel-Quadrupol-System oder in Tandem-Anordnung. Das letztere Prinzip, das Triple-Quadrupol-Massenspektrometer, ermöglicht Untersuchungen mit Ionenfragmentierung (Tandem-Massenspektrometrie oder MS/MS).

Instrumentelle Techniken

Massenspektrometrie (MS)

Elektrospray-Ionisierung (ESI)

Im ESI-Modus werden Lösungen geladener oder polarer Stoffe, die von einem HPLC-System geliefert werden, mithilfe einer Metallkapillare („Sprühnadel“) und einem Verneblergas (Stickstoff) in das MS gesprüht. Die entstehenden Tröpfchen werden getrocknet (Desolvatisierung) und die verdampften isolierten Analyten werden zum Detektor überführt. Die thermische Belastung ist sehr gering, daher zerfallen die Analytenmoleküle nicht. Die ESI hat beinahe keine Grenzen bezüglich der Molekülgröße und ist geeignet für mittelstark bis stark polare Moleküle, z.B. Amine, Carboxylsäuren, Heteroaromaten und Sulfonsäuren. Die ESI wird angewendet, wenn Fragmentierungen unerwünscht sind und die Molekülmasse von Biomolekülen bestimmt werden soll. Die ESI-MS ist gut geeignet für die Kopplung mit der LC, und solange die Flussraten nicht maximal 1–2 ml/min überschreiten, ist die erreichbare Empfindlichkeit sehr hoch. Häufiger sind aber Flussraten zwischen 1 und 500 µl/min.

In Lösung liegen Moleküle entweder bereits als Ionen vor oder werden durch Zusatzstoffe in der Probenlösung und der mobilen Phase protoniert bzw. deprotoniert. Um die höchste Empfindlichkeit zu erzielen, sollten mobile Phasen auf einen pH-Wert eingestellt werden, bei dem die Analyten ionisiert vorliegen. Eine Daumenregel empfiehlt, einen neutralen bis basischen pH-Wert (7–9) für Säuren zu verwenden und einen eher sauren pH-Wert (3–4) für basische Verbindungen. Wenn der Zielanalyt mehrere pKa-Werte hat und seinen Ionisierungszustand ändern kann, können andere pH-Werte von Vorteil sein, sowohl bezüglich der Ionisierung des Analyten, als auch im Hinblick auf das Verhalten in der Säule. Demnach kann abhängig von der Wahl des Lösungsmittels und der Zusatzstoffe entweder ein positiver und/oder ein negativer ESI-Modus verwendet werden. Typischerweise wird der positive ESI-Modus in Verbindung mit eher basischen Molekülen angewendet, während saure Verbindungen im negativen Modus analysiert werden. Üblicherweise wird der mobilen Phase im positiven ESI-Modus 0,1 % Ameisensäure zugesetzt, um einen niedrigen pH (3) zur Protonierung der Analyten zu erreichen. Saure Analyten werden unter solchen Bedingungen neutralisiert, weshalb für diese der negative ESI-Modus bevorzugt und ein höherer pH der mobilen Phase empfohlen wird. Flüchtige Pufferlösungen wie Ammoniumacetat oder Ammoniumformiat werden im pH-Bereich von 4,5–7 verwendet, um die Analyten zu deprotonieren. Zur pH-Wert-Erhöhung kann entweder Ammoniumcarbonat oder Ammoniumhydroxid (wässrige Ammoniaklösung) verwendet werden.

Sowohl die negative als auch die positive ESI setzen voraus, dass alle Lösungsmittel und Zusatzstoffe flüchtig sind, um eine Verunreinigung des Massenspektrometers zu vermeiden, und dass die Gesamtionenstärke der mobilen Phase angemessen ist (im Allgemeinen 2–25 mM), um eine unnötige Ausfallzeit zur Reinigung des Detektors zu verhindern. Starke Säuren wie Salzsäure oder Salpetersäure sind aus zwei Gründen ungeeignet: Sie bilden Ionenpaare mit Analytenmolekülen (Analytensignalsuppression) und zeigen stark oxidierende Eigenschaften. Trifluoressigsäure (TFA) ist ein Spezialfall: Sie wird verbreitet als Ionenpaarreagens verwendet, um die flüssigkeitschromatographische Trennung von Peptiden und Proteinen zu verbessern. Andererseits kann TFA eine starke Ionensuppression in der Massenspektrometrie verursachen (vorwiegend im negativen ESI-Modus) und zudem das LC-MS-System verunreinigen.

Instrumentelle Techniken

Massenspektrometrie (MS)

Leider ist weder eine quantitative Abschätzung noch eine allgemeine Empfehlung bezüglich dieser Effekte möglich, da ihre Ausprägung stark vom verwendeten MS-System abhängt. Triethylamin als alternativer Zusatzstoff verhält sich ähnlich. Wenn sich die Anwendung von TFA nicht vermeiden lässt, kann eine schwache Säure (wie Propansäure) oder Isopropanol zum Elutionsmittel gegeben werden, um die signal-
unterdrückende Wirkung zu verringern.

Puffer regulieren nicht nur den pH-Wert des Elutionsmittels und führen zur Ionisierung von Zielmolekülen, sie können auch Addukte mit dem Analyten bilden. Addukte $[M + \text{Puffer}]$, z.B. mit Ammoniak, Alkali, Halogenen, Formiat oder Acetat, führen zur Detektion eines zusätzlichen Peaks im MS-Spektrum. Sogar eine vollständige Unterdrückung des Analytensignals ist möglich, wenn der Dampfdruck des resultierenden Addukts (vorwiegend Alkali) erheblich erniedrigt ist. Aus diesem Grund und um die ESI-Quelle sauber zu halten, empfehlen sich flüchtige Puffer. Nicht flüchtige Salze wie Phosphate, Borate, Sulfate oder Citrate können in der MS-Quelle ausfallen, diese blockieren und mühsame Reinigungsprozeduren notwendig machen!

Chemische Ionisierung bei Atmosphärendruck (APCI)

Diese Technik ist komplementär zur ESI und ebenfalls für die LC-MS-Kopplung geeignet. Sie erfordert keine leitfähige mobile Phase, weshalb Aceton oder Essigsäureester als Lösungsmittel verwendet werden können. Somit ist eine Kopplung von APCI und Normalphasen-Chromatographie möglich. Im APCI-Modus wird die Analytenlösung vor der Ionisierung verdampft. Anschließend werden Lösungsmittelmoleküle (wässrig-organisch, z.B. Methanol, Propanol, Acetonitril, Aceton usw., kombiniert mit 2 – 20 mM eines flüchtigen organischen Puffers wie Ameisen- oder Essigsäure, Ammoniumacetat, Ammoniumformiat oder Triethylamin) mithilfe einer Corona-Nadel ionisiert, wobei ihre Ladung anschließend über Protonentransfer oder -Abspaltung auf die Analytenmoleküle übertragen wird. Die APCI ist für die Analyse weniger polarer, schwach ionisierbarer Stoffe mit geringem oder mittelgroßem Molekulargewicht geeignet (Analyten ohne saure oder basische funktionelle Gruppen, z.B. Kohlenwasserstoffe, Alkohole, Aldehyde, Ketone, Ester) und ist demnach komplementär zur ESI, vorausgesetzt, dass die Probe wärmebeständig und verdampfbar ist. Im Allgemeinen werden bei der APCI Fragmentierungen beobachtet. Die höchste Empfindlichkeit wird mit Acetonitril, Methanol oder Wasser als Lösungsmittel erzielt. Der Grad der Analyten-Ionisierung kann über den pH des Elutionsmittels optimiert werden. Wie bei der ESI können Flussraten von bis zu 1–2 ml/min toleriert werden.

Vorschriften für die Lebensmitteluntersuchung

Die chemische Analyse von Lebensmitteln ist eine Voraussetzung für die Sicherstellung der korrekten Kennzeichnung von Lebensmitteln und den Schutz der Verbraucher vor Verfälschungen und Fehlkennzeichnungen von Lebensmitteln. Selbstverständlich können diese Aufgaben nur in Verbindung mit einer geeigneten Lebensmittelgesetzgebung, vermehrten Kontrollen durch Lebensmittel- und Verbraucherschutzbehörden und fortlaufenden Studien durch Behörden für Lebensmittelsicherheit und Forschungseinrichtungen zur Vermehrung der Kenntnisse über Lebensmittel und deren Verarbeitung sowie durch vermehrte Eigenverantwortlichkeit der Lebensmittelindustrie erzielt werden. Diese wird durch Lebensmittel-Qualitätsmanagement-Systeme wie HACCP (Konzept für Gefahrenanalyse und kritische Kontrollpunkte) unterstützt, um chemische, mikrobielle und physikalische Gefahren innerhalb der Lebensmittelkette zu vermeiden bzw. unter Kontrolle zu bringen. Solche Qualitätssicherungsverfahren erfordern chemische Analysen während des gesamten Prozesses der Lebensmittelverarbeitung, beginnend mit den Rohstoffen bis hin zum gekennzeichneten Lebensmittel als Endprodukt [1]. Um sicherzustellen, dass ein Lebensmittel einem gewissen Mindeststandard genügt, werden häufig verbindliche Qualitätsstandards angewendet, die festlegen, welche Inhaltsstoffe das Lebensmittel enthalten darf bzw. mindestens enthalten muss, und wie die Nährstoffzusammensetzung beschaffen sein muss [2, 3, 4]. Manchmal umfassen diese Standards auch die anzuwendenden analytischen Verfahren. Beispiele für solche umfassenden Qualitätsstandards sind die US-amerikanischen Identitätsstandards (Standards of Identity) oder die Standards des Codex Alimentarius [2, 3].

Nährwertangaben auf verpackten Lebensmitteln sind notwendig, um den Verbrauchern zu helfen, Lebensmittel entsprechend ihrem individuellen Ernährungsbedarf oder zur Vermeidung ernährungsbedingter Erkrankungen auszuwählen [6, 7, 8, 34]. Daher beschreiben Kennzeichnungsvorschriften ausführlich die Anforderungen an die Nährwertangaben (Nährstoffe, Mengen und Kalorienangaben) auf Lebensmittelverpackungen [5, 6]. Um einheitliche Nährwertangaben zu gewährleisten, muss der Lebensmittelhersteller zusätzliche Tests für Nährstoffe wie Zucker, organische Säuren, Zuckeralkohole, Fett und Fettsäuren, Protein und Natrium sowie für Vitamine und Mineralstoffe durchführen [5].

Alle der oben beschriebenen Maßnahmen zur Sicherstellung der Lebensmittelsicherheit, der Bereitstellung gesunder Lebensmittel und dem Schutz der Verbraucher vor Verfälschung und Fehlkennzeichnung erfordern zuverlässige Daten, die durch die chemische Analyse von Lebensmitteln gewonnen werden. Zuverlässige Analysenergebnisse sind zudem wichtig, um den internationalen Handel mit Lebensmitteln zu erleichtern.

Haftungsausschluss:

„Wir informieren und beraten unsere Kunden über Anwendungstechnologien und behördliche Angelegenheiten nach unserem besten Wissen und Gewissen, jedoch ohne Verpflichtung oder Verantwortung. Bestehende Gesetze und andere Vorschriften sind in jedem Falle von unseren Kunden zu beachten. Bestehende Gesetze und andere Vorschriften sind in jedem Fall von unseren Kunden zu beachten. Dies gilt auch hinsichtlich der Rechte Dritter. Unsere Information und Beratung entbinden unsere Kunden nicht von der Verantwortung, unsere Produkte auf die Eignung für die vorgesehenen Zwecke zu prüfen.“

Anwendung von Qualitätsmanagementsystemen in Laboratorien und Laborakkreditierung

Die Zuverlässigkeit chemischer Daten hängt erheblich davon ab, wie diese Daten gewonnen wurden. Die Einführung eines Qualitätsmanagementsystems für Labore ist eine anerkannte Maßnahme zur Gewährleistung der Zweckdienlichkeit der technischen Ausrüstung und der Reproduzierbarkeit der Analysenverfahren [9] sowie um sicherzustellen, dass das Personal für seine Aufgaben entsprechend qualifiziert ist und über ausreichende Erfahrung verfügt.

Folglich ist die Laborakkreditierung nach einem international anerkannten System eine Voraussetzung für die Ausarbeitung zuverlässiger und international anerkannter Analysendaten [9].

Die wichtigste Norm für Labore ist die internationale DIN ISO Norm 17025 „Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien“ [9, 10], die auch eine der wichtigsten Normen für die weltweite Globalisierung des Handels darstellt. Die Norm regelt die technische Kompetenz von Laboren zur Durchführung bestimmter Prüfungen und wird weltweit von Laborakkreditierungsorganen als Grundanfordernis verwendet [9, 10]. Die DIN ISO 17025 Norm umfasst fünf Abschnitte, nämlich „Anwendungsbereich“, „Normative Verweisungen“, „Begriffe“, „Anforderungen an das Management“ und „Technische Anforderungen“ [9]. Der Abschnitt „Technische Anforderungen“ umfasst Faktoren, welche die Korrektheit und Zuverlässigkeit der im Labor durchgeführten Prüfungen und Kalibrierungen bestimmen, wie menschliche Faktoren, Räumlichkeiten und Umgebungsbedingungen, Prüf- und Kalibrierverfahren, Verfahrensvalidierung, Ausrüstung, messtechnische Rückführung und die Handhabung von Prüf- und Kalibriergegenständen [9].

EU – Verordnung 882/2004 – Konsequenzen für die Akkreditierung von Lebensmittelprüflaboren

Innerhalb der Europäischen Union müssen die amtlichen Labore (d.h. jene Laboratorien, welche die Analyse der während amtlicher Kontrollen der zuständigen Lebensmittelbehörden der einzelnen Mitgliedsstaaten gezogenen Proben durchführen) gemäß EU-Verordnung 882/2004 nach DIN ISO 17025 akkreditiert sein [11]. Die Akkreditierung kann sich allerdings auf einzelne Prüfungen oder eine Gruppe von Prüfungen beziehen.

Vertragslabore und Labore, die im Unterauftrag arbeiten, müssen nach dieser Norm nur dann akkreditiert sein, wenn die von diesen Laboren erhaltenen Ergebnisse rechtlich vertretbare Daten darstellen, d.h. dass diese Daten verwendet werden oder werden sollen, falls es zu Streitigkeiten zwischen den zuständigen Lebensmittelbehörden und einem Lebensmittelunternehmer bzw. -hersteller kommt.

Als indirekte Konsequenz dieser Verordnung akzeptiert der Europäische Lebensmittelmarkt nicht akkreditierte Vertragslabore nicht länger zur Lebensmittelprüfung [10].

Akkreditierung in den USA nach Vorgabe des Lebensmittelsicherheitsgesetzes (Food Safety Modernization Act)

Im Jahre 2011 erließen die USA das neue Lebensmittelsicherheitsgesetz „Food Safety Modernization Act“ (FSMA) [12]. Es ist ein gewaltiges Reformprogramm zur Verbesserung der Lebensmittelsicherheit und zur Vermeidung absichtlicher sowie unbeabsichtigter Lebensmittelverfälschung innerhalb der gesamten Lieferkette, einschließlich der Prüflabore für Lebensmittel. Der FSMA gliedert sich in vier Hauptteile. Teil 2 des FSMA („Verbesserung der Fähigkeit zum Nachweis von Problemen bei der Lebensmittelsicherheit“) behandelt den Nachweis von Problemen bei der Lebensmittelsicherheit über die gesamte Lebensmittelkette. Abschnitt 202 enthält Regeln, die sicherstellen sollen, dass Lebensmittelprüflabore (einschließlich unabhängiger Privatlabore, ausländischer Labore und von bundesstaatlichen und lokalen Regierungsbehörden betriebene Laboratorien) die vorgeschriebenen Qualitätsstandards einhalten.

Die FDA ist verpflichtet, Kriterien für die Laborakkreditierung zu etablieren und entsprechende Standards zu entwickeln, die von den Laboren für ihre Akkreditierung erfüllt werden müssen. Die dafür vorgesehene gesetzliche Frist im Jahr 2013 wurde von der FDA nicht eingehalten, aber FDA-Funktionäre haben angegeben, dass eine Arbeitsgruppe eine Beschlussvorlage entwickelt und bis Anfang 2016 ein Vorschlag für eine Regelung herausgegeben werden soll.

Dementsprechend müssen Akkreditierungsorgane für die Laborakkreditierung von der FDA eingerichtet werden [12]. Außerdem soll von der FDA ein öffentlich zugängliches Verzeichnis von Akkreditierungsorganen erstellt werden [12]. Nach Abschnitt 202 des FSMA werden die FDA-Standards, die von Akkreditierungslaboren eingehalten werden müssen, unter anderem Folgendes umfassen:

- die Verwendung geeigneter Probenahmeverfahren,
- die Zweckdienlichkeit analytischer Verfahren,
- die Zertifizierung von Prüfberichten,
- die Einrichtung und Erhaltung eines internen Qualitätssicherungssystems,
- die Existenz von Prüfungsverfahren und Handlungsabläufen als Reaktion auf Beschwerden und
- die Qualifizierung von technischem Personal durch Schulung und Erfahrung.

Diese Anforderungen sind mehr oder weniger dieselben, die von der DIN ISO Norm 17025 zur Laborakkreditierung beschrieben werden und daher bereits in vielen Laboren weltweit Anwendung finden. Es ist geplant, dass die FDA-akkreditierten Labore von Lebensmittelherstellern- und -unternehmen zumindest für Folgendes eingesetzt werden:

- jede spezifische rechtliche oder behördliche Prüfungsanforderung, wenn ein identifiziertes oder vermutetes Problem mit der Lebensmittelsicherheit zu klären ist;
- jede von der FDA vorgeschriebene Prüfung aufgrund eines erkannten oder vermuteten Problems bei der Lebensmittelsicherheit
- jede Prüfung zur Zulassung eines importierten Lebensmittels sowie
- jede Prüfung aufgrund einer Importwarnung, die erfolgreiche Folgeprüfungen erfordert.

Eine Schlüsselforderung des Abschnitts 202 ist, dass akkreditierte Labore die Ergebnisse solcher Prüfungen direkt der FDA melden müssen [12]. Die Gründe für diese Auflage könnten sein, dass aufgrund der anderen Vorschriften der FSMA die Anzahl der notwendigen Lebensmittelproben erheblich ansteigen wird. Andererseits verfügt die FDA nicht über die notwendigen Ressourcen, um diesen plötzlichen Anstieg der zu prüfenden Lebensmittelproben zu bewältigen. Die FDA macht daher den Lebensmittelhersteller/-unternehmer dafür verantwortlich, dass die Proben untersucht werden bzw. deren Prüfung extern, z.B. in Vertragslaboren in Auftrag gegeben wird [14].

Die Anwendung amtlicher Verfahren zur Lebensmitteluntersuchung

Bei der Lebensmitteluntersuchung ist es besonders die Komplexität der Lebensmittelmatrix, die den größten Einfluss auf die Leistung und Zuverlässigkeit der verwendeten Analysenverfahren und -methoden hat [5]. Die Lebensmittelmatrix besteht hauptsächlich aus chemischen Verbindungen wie Proteinen, Kohlenhydraten und Lipiden, welche die Leistung von Analysenverfahren erheblich beeinträchtigen können. Lebensmittel mit hohem Fett- oder Zuckergehalt beispielsweise können verschiedene Arten von Interferenzen verursachen, die bei geringem Fett- und Zuckergehalt nicht auftreten [5]. Die Anwendung von Extraktionsschritten und Aufschlussverfahren ist – obwohl sie eine Voraussetzung für die Genauigkeit der Analysenergebnisse ist – oftmals nicht nur zeitaufwändig, sondern in einigen Fällen auch mit dem Risiko der Artefaktbildung behaftet [15]. Daher müssen Analysenverfahren zur Lebensmitteluntersuchung immer die Eigenschaften und die Zusammensetzung der spezifischen Lebensmittelmatrix berücksichtigen.

Mehrere nicht kommerzielle (wissenschaftliche) Organisationen, wie die Association of Analytical Communities (AOAC), entwickeln, standardisieren und bestätigen amtliche Verfahren zur Lebensmittelanalyse. Diese amtlichen Verfahren spielen bei der Untersuchung von Lebensmitteln eine wichtige Rolle, da sie gewährleisten sollen, dass Lebensmittel die gesetzlichen Anforderungen erfüllen. Folglich gibt es z.B. in den USA gesetzliche Vorschriften, welche die Anwendung eines spezifischen Analysenverfahrens vorschreiben [16]. Des Weiteren ermöglichen solche amtliche Verfahren nicht nur die Vergleichbarkeit von Ergebnissen zwischen verschiedenen, mit denselben Verfahren arbeitenden Laboren, sondern auch die Evaluierung von Ergebnissen, die mithilfe neuer oder schnellerer Verfahren gewonnen wurden [5].

Amtliche Verfahren nach WHO/FAO und Codex Alimentarius

Die von der Welternährungsorganisation (FAO) und der Weltgesundheitsorganisation (WHO) 1962 ins Leben gerufene Codex-Alimentarius-Kommission entwickelt internationale Standards und Sicherheitspraktiken für Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (den sogenannten Codex Alimentarius).

Der Codex Alimentarius umfasst allgemeine Anforderungen, Verfahrensregeln und Standards [17]. Die Produktstandards des Codex beinhalten Verfahren für die Analyse des entsprechenden Produkts. Band 13 des Codex enthält eine Liste amtlicher Verfahren für Untersuchung und Probenahme. Die Verfahren sind nach dem spezifischen Produkt sortiert, für das sie angewendet werden können (z.B. Getreide, Fette und Öle, Säuglingsnahrung usw.). Es gibt einige Verfahren, die für alle Arten von Lebensmittel verwendet werden können, beispielsweise das Verfahren für den Nachweis und die Quantifizierung des Süßstoffes Cyclamat [18]. Der Codex empfiehlt die Verwendung der aufgeführten Verfahren unter Anwendung der DIN ISO 17025 [18].

Die Codex-Verfahren werden von internationalen Organisationen ausgearbeitet, die sich mit einem Lebensmittel oder einer Gruppe von Lebensmitteln beschäftigen, und werden von der Codex-Kommission für Analytik ausgewählt [19]. Innerhalb dieser Auswahl werden jene Prüfverfahren bevorzugt, welche die Kriterien der Codex-Kommission für Analytik bezüglich Genauigkeit, Präzision, Selektivität, Nachweisgrenze, Empfindlichkeit usw. erfüllen. Die Auswahl der Verfahren berücksichtigt auch deren Praktikabilität und Anwendbarkeit unter normalen Laborbedingungen. Demzufolge werden auch solche Verfahren bevorzugt, die zur Routineanwendung geeignet sind und die einheitlich für verschiedene Gruppen von Produkten angewendet werden können. [19]. Es sollte erwähnt werden, dass der Großteil der in den Codex-Standards zitierten Analysenverfahren AOAC-Verfahren sind [22]. Das liegt daran, dass die AOAC seit der Gründung des Codex Alimentarius amtlichen Beobachterstatus hat und an der Entwicklung der Codex-Standards beteiligt war [22].

Der gemeinsame Sachverständigenausschuss für Lebensmittelzusatzstoffe von FAO und WHO (JECFA) stellt Standards für die Reinheit von Lebensmittelzusatzstoffen auf. Er hat auch eine vierbändige Sammlung mit Spezifikationen von Lebensmittelzusatzstoffen herausgegeben [20]. Die ersten drei Bände enthalten die Spezifikationen der Lebensmittelzusatzstoffe selbst in alphabetischer Reihenfolge, der letzte Band enthält die überprüften und aktualisierten Analysenverfahren, Prüfverfahren und Laborlösungen, die zur Bestimmung der in der Sammlung aufgeführten Spezifikationen verwendet wurden. JECFA-Daten enthalten Anleitungen zu den Analysenverfahren, die für Prüfungen entsprechend den JECFA-Spezifikationen verwendet werden sollten. Wo immer möglich, enthält die Anleitung einen Verweis auf den vierten Band der Sammlung, der die überarbeiteten und aktualisierten Analysenverfahren enthält [20]. Andernfalls sind Einzelheiten der Prüfverfahren in den einzelnen Monographien der JECFA-Spezifikationen beschrieben.

Da JECFA-Spezifikationen für die weltweite Anwendung ausgearbeitet wurden, erfordern die Referenzverfahren die Verwendung von Geräten und Ausrüstung, die in den meisten Laboren zur Verfügung stehen [20]. Laut JECFA werden Verfahren mit erst kürzlich entwickelten Techniken oder Ausrüstungen normalerweise erst dann erwähnt, wenn solche Techniken international anerkannt sind und allgemein zu vertretbaren Kosten zur Verfügung stehen. Unter Berücksichtigung der Fortschritte in der analytischen Chemie werden die Analysenverfahren von der JECFA von Zeit zu Zeit überarbeitet. Im Prinzip ist es möglich, von den JECFA-Verfahren abzuweichen, allerdings unter der Voraussetzung, dass die Anwendung eines anderen Verfahrens oder die Abänderung eines JECFA-Verfahrens Ergebnisse von gleichwertiger Genauigkeit und Spezifität liefert wie die in der entsprechenden JECFA-Spezifikation angegebenen Verfahren [20].

Amtliche Verfahren zur Lebensmitteluntersuchung in den USA

Die FDA hat Lebensmitteldefinitionen und -standards aufgestellt, die in 21 CFR (Code of Federal Regulations) 100–169 [2, 21] veröffentlicht sind, darunter Identitäts- und Qualitätsstandards. Die Identitätsstandards wurden für eine große Auswahl an Lebensmittelprodukten festgesetzt und bezeichnen die Inhaltsstoffe, die ein Lebensmittel im Einzelnen enthalten muss, mit einem Mindestgehalt für teure Inhaltsstoffe sowie einem Maximalgehalt für billige Inhaltsstoffe (wie z.B. Wasser). Diese Standards geben zumeist amtliche Analysenverfahren an, die zur Untersuchung verwendet werden müssen. Diese Verfahren wurden von internationalen wissenschaftlichen Organisationen wie der AOAC oder von US-Organisationen wie der AACC (American Association of Cereal Chemists) oder der AOCS (American Oil Chemists Society) ausgearbeitet.

Die Sammlung Amtlicher Analysenverfahren der AOAC International enthält mehr als 3000 Verfahren, die von der AOAC als geeignet für eine große Auswahl an Lebensmittelprodukten und anderen Stoffen angesehen werden [2, 22]. 21 CFR Abschnitt 2.19 definiert die AOAC-Verfahren als „amtliche Verfahren“, die von der FDA angewendet werden müssen, falls in einer Vorschrift kein Analysenverfahren angegeben ist [22, 23]. Folglich verwenden die FDA und der Food Safety and Inspection Service (FSIS) des United States Department of Agriculture (USDA) die AOAC-Verfahren, um zu prüfen, ob ein Lebensmittel den spezifischen gesetzlichen Anforderungen entspricht, z.B. hinsichtlich der Nährstoffangaben auf Lebensmitteln, dem Vorkommen oder Fehlen von unerwünschten Rückständen oder der Konzentration an Rückständen [21]. Die AOAC beschäftigt sich mit der Überprüfung, der Auswahl und der Entwicklung von Verfahren. Sobald ein Verfahren von der AOAC ausgewählt wurde, wird es mithilfe einer Einzellaborvalidierung sowie im Rahmen einer umfassenden Kollaborationsstudie unter Mitarbeit von 8–10 Laboren überprüft [22]. Nach dem erfolgreichen Abschluss und der Anerkennung durch den AOAC-Ausschuss für Amtliche Verfahren wird das AOAC-Verfahren in der AOAC-Sammlung und dem AOAC Journal veröffentlicht [22].

Der Kodex für Lebensmittelchemikalien (Food Chemicals Codex, FCC) ist eine Sammlung, die Standards zur Identifizierung und Reinheit bekannter Lebensmittelzusatzstoffe und Chemikalien enthält (einschließlich der vorgeschriebenen Analysenverfahren), die in Lebensmittelprodukten entweder in den USA oder weltweit Verwendung finden. Obwohl die FCC-Standards in Zusammenarbeit mit der FDA und der Industrie in den USA und andernorts entwickelt wurden, liefert der FCC keine Informationen über den regulatorischen Status von Lebensmittelzusatzstoffen und -chemikalien [24]. Außerhalb der USA werden die FCC-Standards allerdings in einigen Ländern (z.B. Australien, Kanada, Neuseeland) als rechtliche Anforderungen für Lebensmittelzusatzstoffe anerkannt [24]. Die FCC-Monographien enthalten allgemeine Informationen über die Anwendung der einzelnen Lebensmittelzusatzstoffe, chemische Daten, Mindeststandards für Identität, Reinheit und Qualität von Lebensmitteln und validierte Prüfverfahren zur Bestätigung von Reinheit und Qualität der genannten Lebensmittelzusatzstoffe.

Amtliche Verfahren zur Lebensmitteluntersuchung in der EU

Innerhalb der EU existierende amtliche Verfahren findet man z.B. in der deutschen amtlichen Sammlung von Verfahren zur Lebensmitteluntersuchung nach § 64 des Deutschen Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuches (sogenannte „Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren“ nach § 64 LFGB), die mehr als 1300 Analysenverfahren zur Lebensmitteluntersuchung enthält [25, 26]. Die Analysenverfahren werden von Fachleuten aus Lebensmittelüberwachung, Wissenschaft und Lebensmittelindustrie entwickelt und hinsichtlich ihrer Leistung, Zuverlässigkeit und Vergleichbarkeit geprüft. Danach wird entschieden, für welches Anwendungsgebiet die Verfahren eingesetzt werden. Bevor ein Verfahren in die Amtliche Sammlung aufgenommen wird, wird es durch eine Reihe von Laboren im Zuge eines Ringversuchs statistisch geprüft und standardisiert [26].

In Deutschland können Verfahren der Amtlichen Sammlung nach § 64 LFGB ohne weitere Rechtfertigung angewendet werden [25, 26]. Wenn ein Labor allerdings stattdessen ein anderes Verfahren anwenden möchte, muss diese Abweichung gerechtfertigt werden.

In der EU-Gesetzgebung werden amtliche Verfahren oft im Zusammenhang mit produktspezifischen Verordnungen angegeben, um sicherzustellen, dass ein bestimmter Standard der Lebensmittelqualität eingehalten wird. Ein Beispiel ist die Verordnung 2568/91 „über die Merkmale von Olivenölen und Oliventresterölen sowie die Verfahren zu ihrer Bestimmung“, die eine Reihe amtlicher Verfahren enthält [27].

In der Lebensmittelgesetzgebung der EU wird jedoch der traditionelle Ansatz für Lebensmitteluntersuchungen, der die Anwendung amtlicher Verfahren oder Routineverfahren vorsieht, allmählich von der Verwendung sogenannter Leistungskriterien abgelöst.

Verwendung von Leistungskriterien innerhalb der EU

Infolge der Fortschritte in der analytischen Chemie wird das Konzept der Routine- und Referenzverfahren allmählich durch das Konzept der Leistungskriterien abgelöst, nach dem Leistungskriterien für die analytischen Verfahren und Protokolle für die Validierung von Screening- und Bestätigungsverfahren erstellt werden [11, 28].

Ein solcher Paradigmenwechsel wird in der EU-Verordnung 882/2004 berücksichtigt [28]. Diese Verordnung beschreibt die grundsätzlichen Anforderungen für Probenahme und Analysenverfahren, die von amtlichen Laboratorien der EU-Mitgliedsstaaten durchgeführt werden. Labore, die an der Untersuchung amtlicher Proben beteiligt sind, müssen in Übereinstimmung mit international anerkannten Verfahren (z.B. DIN, CEN, ISO, IUPAC, Codex Alimentarius) oder kriterienbasierten Leistungsstandards arbeiten und Analysenverfahren verwenden, die z.B. in Übereinstimmung mit den harmonisierten Leitlinien der IUPAC validiert wurden [11].

Dies spiegelt sich bereits in den EU-Verordnungen 401/2006 [29], 333/2007 [30] und 1882/2006 [31] zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für Verunreinigungen wie Nitrat, Schwermetalle, Benzo[a]pyren und 3-MCPD wider. Während diese Verordnungen ausführlich die Probenahmeverfahren (Anforderungen an das Personal, Anzahl der Proben pro Charge, Vorsichtsmaßnahmen usw.) beschreiben, enthalten sie keine (dringende) Empfehlung von Analyseverfahren, sondern spezifische Anforderungen an definierte Leistungskriterien wie Präzision, Rückgewinnungsrate, Messgenauigkeit usw., die von den verwendeten Analyseverfahren erfüllt werden müssen. Auch Anforderungen hinsichtlich des Qualitätsmanagementsystems der Labore sind enthalten.

Für pharmakologisch wirksame Rückstände zugelassener und nicht zugelassener veterinärmedizinischer Produkte, z.B. bestimmte Antibiotika (wie Chloramphenicol) oder Stoffe mit anaboler Wirkung (z.B. Clenbuterol) können die Analyseverfahren von dem jeweiligen Labor ausgewählt werden; diese müssen jedoch validiert sein und die Leistungskriterien nach EU-Beschluss 2002/657 erfüllen [32, 33]. Das Labor selbst muss die in EU-Verordnung 882/2004 festgelegten Qualitätsnormen erfüllen. Die Nationalen Referenzlaboratorien entwickeln und validieren allerdings geeignete Analyseverfahren, die zur Untersuchung von Tierarzneimittelrückständen in Lebensmitteln gemäß der entsprechenden EU-Verordnung verwendet werden können [33].

Die oben beschriebenen Maßnahmen sollen die Zuverlässigkeit analytischer Ergebnisse bei der Lebensmitteluntersuchung gewährleisten. In der folgenden Sammlung werden analytische Anwendungen zur Lebensmitteluntersuchung beschrieben, die durch Vereinfachung der Verfahren zur Probenvorbereitung zur Zuverlässigkeit von Analysendaten beitragen.

Literaturhinweise und nützliche Links

Die Lebensmittelgesetzgebung ist sehr dynamisch. Demnach werden Lebensmittelverordnungen häufig abgeändert oder ergänzt. Die angegebenen Links zur Lebensmittelgesetzgebung beziehen sich unter Umständen nicht immer auf die aktuellste Version der jeweiligen Verordnung. Die aktuellste Gesetzgebung findet man auf den entsprechenden amtlichen Internetseiten.

- [1] „Verordnung (EG) Nr. 852/2004 des Europäischen Parlamentes und des Rates über Lebensmittelhygiene“, Amtsblatt der Europäischen Union, L139/1, 2004 und nachfolgende Ergänzungen.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32004R0852:EN:NOT>
- [2] "United States Government Regulations and Standards", Nielsen, S.S.
in "Food Analysis", Springer US, USA, 4th Edition, 2010, 15-33.
- [3] Standards des Codex Alimentarius, www.codexalimentarius.org
- [4] Deutsches Lebensmittelbuch,
- [5] "Introduction to food analysis" Nielsen, S.S. in: "Food Analysis, Springer US, USA, 4th Edition, 2010, 5-13.
- [6] „Verordnung (EU) Nr. 1169/2011 des europäischen Parlaments und des Rates betreffend die Information der Verbraucher über Lebensmittel“, Amtsblatt der Europäischen Union, L304/18, 2011.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:304:0018:0063:EN:PDF>
- [7] „Obesity and overweight“, Datenblatt Nr. 311, Weltgesundheitsorganisation, WHO, 2011.
- [8] „Diabetes“, Datenblatt Nr. 312, Weltgesundheitsorganisation, WHO, 2011.
- [9] Akkreditierung – ISO/IEC 17025, Kaus, R. in „Quality Assurance in Analytical Chemistry“, Springer-Verlag, Deutschland 2010.
- [10] „Akkreditierung von amtlichen und nichtamtlichen Prüflaboratorien im Bereich Lebensmittel und Futtermittel“, Kirchhoff, E., in „Handbuch für Lebensmittelchemiker und –Technologen“, Springer, Deutschland, 3. Auflage, 2010, 225-251.
- [11] „Verordnung (EG) Nr. 882/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts sowie der Bestimmungen über Tiergesundheit und Tierschutz“, Amtsblatt der Europäischen Union, L165/1, 2004, und nachfolgende Aktualisierungen.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32004R0882:EN:NOT>
- [12] „FDA Food Safety Modernization Act“, 21 USC 2201, Dez. 2015.
Online: <https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/PLAW-111publ353/pdf/PLAW-111publ353.pdf>
- [14] „FSMA and labs“, Paez, V., Food Quality Magazine, Dez./Jan. 2012, USA, Wiley Periodicals,
unter <http://www.foodquality.com/view/0/issueArchiveList.html>
- [15] „Quantitative determination of beta-carotene stereoisomers in carrot juices and vitamin supplemented (ATBC) drinks“, Marx, M. et al. Food Chemistry, 70, 2000, 403–408 „United States Government Regulations and Standards“, Nielsen, S.S. in „Food Analysis“, Springer US, USA, 4. Auflage, 2010, 15–33.
- [16] Identitätsstandards
- [17] „Understanding the Codex Alimentarius“, Sekretariat des gemeinsamen FAO/WHO-Programms für Lebensmittelstandards, FAO, Rom, 3. Auflage, 2006.
- [18] "Recommended methods of sampling and analysis, part A and B", Codex Standard 234-1999, Codex Alimentarius, Sekretariat des gemeinsamen FAO/WHO-Programms für Lebensmittelstandards, FAO, Rom, 2011.
- [19] "Procedural Manual", Codex Alimentarius Commission, Sekretariat des gemeinsamen FAO/WHO-Programms für Lebensmittelstandards, FAO, Rom, 20. Auflage, 2011.
- [20] "Combined compendium of food additives", Gemeinsamer Sachverständigenausschuss von FAO/WHO für Lebensmittelzusatzstoffe, FAO, Rom 2006.
- [21] "Food labelling", Curtis P. and Dunlap, W. in "Guide to food laws and regulations" Blackwell Publishing, USA, 2005, 85-111.
- [22] Homepage der AOAC International, <http://www.aoac.org/>
- [23] Code of Federal Regulations (CFR), <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm>

- [24] Food Chemicals Codex, United States Pharmacopeia, 8. Auflage, 2013.
- [25] § 64 Lebensmittel und Futtermittelgesetzbuch, Bundesgesetzblatt I, 1770.2012 und nachfolgende Aktualisierungen.
<http://www.gesetze-im-internet.de/lfgb/>
- [26] „Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren“, Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, 2013.
http://www.bvl.bund.de/EN/09_Laboratories/01_Tasks/04_official_collection_methods_analysis/official_collection_methods_analysis_node.html
- [27] Verordnung (EWG) Nr. 2568/91 vom 11. Juli 1991 über die Merkmale von Olivenölen und Oliventresterölen sowie die Verfahren zu ihrer Bestimmung, Amtsblatt der europäischen Union, L 248, 1991 und nachfolgende Aktualisierungen.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1991R2568:20081001:EN:PDF>
- [28] „Rechtsordnung und Lebensmittelkontrolle“, Gallhof, G. and Rimkus, G.G. in „Handbuch für Lebensmittelchemiker“ und -Technologen.“, Springer, Deutschland, 3. Auflage, 2010, 1–29.
- [29] Verordnung (EU, EG) Nr. 401/2006 vom 23. Februar 2006 zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle des Mykotoxingehalts von Lebensmitteln, Amtsblatt der Europäischen Union, L70/12, 2006 und nachfolgende Aktualisierungen.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:070:0012:0034:EN:PDF>
- [30] Verordnung (EG) Nr. 333/2007 vom 28. März 2007, zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle des Gehalts an Blei, Cadmium, Quecksilber, anorganischem Zinn, 3-MCPD und Benzo[a]pyren in Lebensmitteln, Amtsblatt der Europäischen Union, L88/29, 2007 und nachfolgende Aktualisierungen.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:088:0029:0038:EN:PDF>
- [31] Verordnung (EG) Nr. 1882/2006 vom 19. Dezember 2006, zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle des Nitratgehalts von bestimmten Lebensmitteln, Amtsblatt der Europäischen Union L364/25, 2006 und nachfolgende Aktualisierungen.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32006R1882:en:NOT>
- [32] Entscheidung der Kommission vom 12. August 2002 zur Umsetzung der Richtlinie 96/23/EG des Rates betreffend die Durchführung von Analysemethoden und die Auswertung von Ergebnissen, Amtsblatt der Europäischen Union L221/8, 2002.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:221:0008:0036:EN:PDF>
- [33] Richtlinie 96/23/EG des Rates vom 29. April 1996 über Kontrollmaßnahmen hinsichtlich bestimmter Stoffe und ihrer Rückstände in lebenden Tieren und tierischen Erzeugnissen, Amtsblatt L 125, 1996 und nachfolgende Aktualisierungen.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31996L0023:EN:NOT>
- [34] Verordnung (EG) Nr. 1924/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 20. Dezember 2006 über nährwert- und gesundheitsbezogene Angaben über Lebensmittel.
<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A02006R1924-20121129>

Europäische Union:

EUR-Lex:

<http://eur-lex.europa.eu/de/index.htm>

Diese Website ermöglicht die Suche nach Amtsblättern der EU und den Zugriff auf den Text der Verordnungen (auch als Kurzfassungen erhältlich).

Europäische Kommission:

http://ec.europa.eu/food/food/index_en.htm

European Food Safety Authority (EFSA)

http://ec.europa.eu/food/efsa_en.htm

USA:

FDA (Lebensmittel) Homepage

<http://www.fda.gov/Food/default.htm>

US-DA Homepage. Die US-DA ist verantwortlich für die Sicherheit von Lebensmitteln landwirtschaftlicher Herkunft.

http://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome?navid=FOOD_SAFETY

PB7302DEWE

Hergestellt durch Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Deutschland
www.merckmillipore.com/food-analysis

Vertrieb: EMD Millipore Corporation 290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA

