DIN CEN/TS 18267:2026-12 (D)

Nanotechnologien - Leitlinien für Probenvorbereitung, Detektion, Identifizierung und Charakterisierung von Nanoobjekten in anorganischen Zusatzstoffen in Lebensmittelmatrizen mittels spICP-MS und EM-EDX; Deutsche Fassung CEN/TS 18267:2026

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort 9

Einleitung 10

1 Anwendungsbereich 12

2 Normative Verweisungen 12

3 Begriffe 12

4 Allgemeine Überlegungen 14

5 Überblick über die Anwendbarkeit und die Grenzen von EM und spICP-MS 16
5.1 Allgemeines 16
5.2 EM-EDX 16
5.2.1 Allgemeines 16
5.2.2 Rasterelektronenmikroskop (REM) 17
5.2.3 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) 18
5.2.4 Energiedispersive Röntgenspektrometrie (EDX) 18
5.2.5 Bilderfassung und Kalibrierung 18
5.2.6 Bildanalyse 19
5.2.7 Datenanalyse und Angabe der Ergebnisse 20
5.2.8 Messunsicherheiten 20
5.3 spICP-MS 21
5.3.1 Allgemeine Überlegungen 21
5.3.2 Überlegungen im Hinblick auf spezifische Lebensmittelzusatzstoffe 21
5.3.3 Datenanalyse und Angabe der Ergebnisse 23
5.3.4 Messunsicherheiten 23
5.4 Wahl der Methode 24

6 Leitlinien zur Probenvorbereitung 25
6.1 Allgemeines 25
6.2 Verfahrensbeschreibungen für die Extraktion und den Aufschluss für verschiedene Arten von Lebensmittelmatrizen 25
6.3 Entfernen von Matrixkomponenten und Rückständen 26
6.3.1 Allgemeines 26
6.3.2 Entfernen von Matrixkomponenten und Rückständen für die spICP-MS-Analyse 26
6.3.3 Entfernen von Matrixkomponenten und Rückständen für die EM-Analyse 26
6.4 Stabilisierung der Dispersion 27
6.5 Besondere Erwägungen für EM-EDX-Messungen 28
6.5.1 Partikelkonzentration 28
6.5.2 Abscheiden der Partikel auf den Probenträgernetzen oder dem Substrat 28
6.6 Besondere Erwägungen für spICP-MS-Messungen 28
6.6.1 Spezielle Schritte bei der Probenvorbereitung 28
6.6.2 Sättigung des Detektors 28
6.6.3 Datenverarbeitung und Ausgabe der Daten 29

7 Beispiele für spezifische Verfahrensbeschreibungen für die Extraktion und Analyse von E 171 und E 172 in verschiedenen Lebensmittelmatrizen 30

Anhang A (informativ) Lebensmittelzusatzstoffe und Nanoobjekte: Hintergrund **31**
A.1 Allgemeines **31**
A.2 Titandioxid (E 171) **31**
A.3 Eisenoxide und Eisenhydroxide (E 172) **32**
A.4 Synthetisches amorphes Siliciumdioxid (E 551) **32**

Anhang B (informativ) Verfahrensbeschreibung für die Analyse von E 171 in zuckerüberzogenen Süßwaren mit spICP-MS **33**
B.1 Einleitung **33**
B.2 Prüfeinrichtung und Ausrüstung **33**
B.3 Chemikalien und Reagenzien **34**
B.4 Analyse **34**
B.4.1 Geräteeinstellungen **34**
B.4.2 Bestimmung der Transporteffizienz (TE) auf Basis der Partikelgröße (in %) **35**
B.4.3 Ionische Kalibrierung für die Analyse von TiO2-Nanopartikeln **36**
B.4.4 Probenvorbereitung: Linsenförmige Süßwaren und Kaugummi **37**
B.4.5 Probenliste und Benennung der Proben **39**
B.4.6 Auswertung und Angabe der Ergebnisse **40**
B.5 Fallstudie: E 171 in zuckerüberzogenen Süßwaren per spICP-MS **41**
B.5.1 Prüfproben **41**
B.5.2 Teilnehmer des Ringversuchs **41**
B.5.3 Ergebnisse des Ringversuchs **42**

Anhang C (informativ) Verfahrensbeschreibungen für die Analyse von E 171 in komplexen Lebensmittelmatrizen per EM-EDX **44**
C.1 Einleitung **44**
C.2 Lebensmittelproben **45**
C.3 Prüfeinrichtung, Ausrüstung und Verbrauchsmaterialien **45**
C.4 Chemikalien und Reagenzien **45**
C.5 Herstellen der Stammlösungen **46**
C.6 Berechnungen und Vorabinformationen **46**
C.7 Verfahren **46**
C.7.1 Entfernen der Matrix **46**
C.7.2 Probenkonzentration **48**
C.7.3 Herstellen des Probensubstrats und Bildanalyse **48**
C.8 Ergebnisse **48**

Anhang D (informativ) Verfahrensbeschreibung für die Analyse von E 172 in zuckerüberzogenen Süßwaren per EM-EDX **53**
D.1 Einleitung **53**
D.2 Geräte und Ausrüstung **53**
D.3 Chemikalien und Reagenzien **53**
D.4 Analyse des Zusatzstoffs in zuckerüberzogenen Süßwaren **53**
D.4.1 Probenvorbereitung **53**
D.4.2 Extraktion der Nanopartikel **54**
D.4.3 Entfernen von Matrixkomponenten und Rückständen durch Zentrifugieren **54**
D.4.4 Waschschritte **55**
D.4.5 Dispergieren der Partikel durch Ultraschallbehandlung **56**
D.5 Optional: Analyse des reinen Zusatzstoffs **57**
D.6 Fallstudie: E 172 in zuckerbasierter Kuchendekoration **58**
D.6.1 Prüfproben **58**
D.6.2 Teilnehmer des Ringversuchs **58**
D.6.3 Ergebnisse **59**

Anhang E (informativ) Verfahrensbeschreibung für die Analyse von E 172 in zuckerüberzogenen Süßwaren per spICP-MS **61**
E.1 Allgemeines **61**
E.2 Geräte und Ausrüstung **61**
E.3 Chemikalien und Reagenzien **62**
E.4 Probenvorbereitung **62**

E.4.1 Allgemeines ... 62
E.4.2 Extraktion und Dispersion der Nanopartikel ... 62
E.4.3 Ultraschallbehandlung ... 63
E.4.4 Verdünnen der Nanopartikel ... 63
E.4.5 Herstellung der Blindproben ... 63
E.4.6 Datenerfassung ... 63
E.4.7 Auswertung und Angabe der Ergebnisse ... 66
E.5 Fallstudie: Analyse von E 172 (ii) und E 172 (iii) in zuckerbasierten Süßwaren per spICP-MS ... 67
E.5.1 Prüfproben ... 67
E.5.2 Teilnehmer des Ringversuchs ... 67
E.5.3 Datenanalyse ... 68
E.5.4 Ergebnisse ... 68

Anhang F (informativ) Vorabmessungen an unbekannten Proben ... 73
F.1 Allgemeines ... 73
F.2 Chemische und physikalische Eigenschaften des interessierenden Zusatzstoffs ... 73
F.3 Gesamtmasse des Zusatzstoffs in der Matrix ... 73
F.4 Stabilität des reinen Zusatzstoffs in flüssigkeitsbasierten Medien ... 73

Anhang G (informativ) Bewährte Praktiken für die Ultraschallbehandlung der Partikel ... 74
G.1 Allgemeines ... 74
G.2 Bestimmung der vom Ultraschallgerät abgegebenen Schallleistung ... 74
G.3 Bei direkter Ultraschallsondenbehandlung zu ergreifende Vorsichtsmaßnahmen ... 76
G.3.1 Allgemeines ... 76
G.3.2 Reinigen der Ultraschallsondenspitze ... 76

Anhang H (informativ) Berechnung der Zentrifugendrehzahl ... 79

Anhang I (informativ) Beispiele für Verfahrensbeschreibungen für das Abscheiden von Partikeln für EM-Messungen ... 80
I.1 Statisches Abscheiden von negativ geladenen Nanopartikeln auf einem positiv geladenen Probenträgernetz ... 80
I.2 Abscheiden von negativ geladenen Nanopartikeln auf einem positiv geladenen Siliciumsubstrat durch Rotationsbeschichtung ... 80

Literaturhinweise ... 81

Bilder

Bild 1 — Ablaufdiagramm für die Probenvorbereitung und die Detektion, Identifizierung und Messung per spICP-MS und EM-EDX ... 16

Bild 2 — Ablaufdiagramm für die Wahl der Analysekonzepte ... 24

Bild 3 — Größenverteilung erhalten durch spICP-MS für häufige und weniger häufige Isotopen, die eineDetektorsättigung zeigen. Beispiele für ^{56}Fe und ^{57}Fe bei reinem E 172 (ii) von JRC ... 29

Bild C.1 — Repräsentative TEM-Bilder und Partikelgrößenverteilungen von Titandioxidpartikeln in reinem E 171 (A, D), in Geleebohnen (B, E) und in Tartarsauce (C, F) ... 49

Bild C.2 — Repräsentative REM-Bilder und Größenverteilungen von Titandioxidpartikeln in reinem E 171 (A, D), in Geleebohnen (B, E) und in Tartarsauce (C, F) ... 50

Bild C.3 — Minimale Feret-Durchmesser (in nm) der aus dem reinen E-171-Zusatzstoff, den Geleebohnen und der Tartarsauce extrahierten TiO_2-Partikel gemessen von Laboratorium 1 (TEM), Laboratorium 2 (REM) und Laboratorium 3 (REM) ... 51

Bild D.1 — Darstellungen der für die Entwicklung des vorliegenden Protokolls verwendeten Proben **54**

Bild D.2 — Beispiele für mögliche Rückstände der Matrizen, direkt nach der Ultraschallbehandlung beobachtet, die sich eliminieren lassen, indem nur der Überstand zentrifugiert wird **56**

Bild D.3 — A) Repräsentative REM-, RTEM- und TEM-Bilder der E-172-(ii)-Partikel nach der Extraktion aus der Lebensmittelmatrix und B) repräsentatives Beispiel (dritte Wiederholung, REP 3) der Partikelgrößenverteilung für REM (links), RTEM (Mitte) und TEM (rechts) **60**

Bild D.4 — Mittlerer Medianwert und Standardabweichungen des x_{Fmin}-Werts des reinen Zusatzstoffs E 172 (ii) und der E-172-(ii)-Partikel (nm) nach der Extraktion aus der Lebensmittelmatrix **60**

Bild E.1 — Analyse der Probe „FeS100“ **69**

Bild E.2 — Analyse der reinen E-172-(ii)-Probe **71**

Bild E.3 — Analyse der E 172 (ii) enthaltenden Lebensmittelmatrix und der E-172-(iii)-Probe **72**

Bild G.1 — Verschiedene Arten von Ultraschallgeräten **76**

Bild G.2 . . . . . **72**

Bild G.3 . . . . . **72**

Tabellen

Tabelle 1 — Form, Dichte und Massenfraktion der Partikel von E 172 entsprechend ihrer Kristallstruktur **22**

Tabelle 2 — Beispielhafte Liste von bei der Erstellung dieses Dokuments erfolgreich geprüften Puffern und Medien zum Stabilisieren von Partikeln für die verschiedenen Zusatzstoffe **27**

Tabelle 3 — Informatives Beispiel für die in den Anhängen angegebenen Verfahrensbeschreibungen in Abhängigkeit von der Analysemethode, der Art des Zusatzstoffs und der Lebensmittelmatrix **30**

Tabelle B.1 — Arbeitslösungen ionisches Gold **35**

Tabelle B.2 — Arbeitslösungen ionisches Titan **37**

Tabelle B.3 — Angaben zur Anzahl der zu wiegenden Einheiten für zwei spezifische Arten von Produkt-/Probentypen **37**

Tabelle B.4 —Geräte, Geräteeinsteinstellungen und Softwarepakete, die von den 14 am Ringversuch teilnehmenden Laboratorien verwendet wurden **41**

Tabelle B.5 — Ergebnisse des kollaborativen Ringversuchs nach ISO 5725-5 ..... **42**

Tabelle C.1 — Ergebnisse der quantitativen EM-Analysen des reinen E-171-Zusatzstoffs sowie der Geleebohnen- und der Tartarsaucenproben. Alle angegebenen Werte sind Medianwerte. Die Anzahl der gemessenen Partikel variierte bei den Wiederholungen und zwischen den Laboratorien von 224 bis 1 270 ..... **52**

Tabelle D.1 — Teilnehmer des eingeschränkten Ringversuchs (anonymisiert) sowie die von den einzelnen Laboratorien verwendeten Geräte, Geräteeinstellungen und Softwarepakete 58

Tabelle D.2 — Ergebnisse des kollaborativen Ringversuchs nach ISO 5725-5, Messung der x_{Fmin}-Verteilung von E-172-(ii)-Partikeln (nm) im reinen Zusatzstoff und in der Lebensmittelmatrix 59

Tabelle E.1 — Liste der im Ringversuch per spICP-MS analysierten Proben 67

Tabelle E.2 — Teilnehmer des eingeschränkten Ringversuchs sowie die von den einzelnen Laboratorien verwendeten Geräte, Geräteeinstellungen und Softwarepakete. Alle Laboratorien haben ^{56}Fe gemessen. 67

Tabelle E.3 — spICP-MS-Ergebnisse des kollaborativen Ringversuchs Messung der Verteilung des äquivalenten Kugeldurchmessers *d* (in nm) von im Handel erhältlichen kugelförmigen Eisenoxid-Nanopartikeln (FeS100) 69

Tabelle E.4 — Ergebnisse des kollaborativen Ringversuchs zur spICP-MS-Messung der Verteilung des äquivalenten Kugeldurchmessers *d* (in nm) von kugelförmigen Eisenoxid-Nanopartikeln im reinen Zusatzstoff und in der Lebensmittelmatrix 72

Tabelle G.1 — Beispiel für getestete Ultraschallbehandlungsbedingungen in den in Anhang B bis Anhang E angegebenen Verfahrensbeschreibungen 74

Tabelle H.1 — Indikative Mindestgrößen und Dichten für die Berechnung der Dauer der Zentrifugierung[a] 79

Tabelle I.1 — Typische Parameter für wasserbasierte Dispersionen 80