

Aktuella metoder för analys av näringsämnen i livsmedel till databasen

Vatten

Proven torkas i värmeskåp vid $102\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ till konstant vikt. Vatten bestäms gravimetriskt som provets viktninskning. Ackrediterad metod (SWEDAC).

Aska

Proven förbränns i ugn vid $650\text{ °C} \pm 25\text{ °C}$ till konstant vikt. Aska definieras som den gravimetriska återstoden när vatten och organiskt material har förbränts. Ackrediterad metod (SWEDAC).

Protein

Kväve bestäms enligt Kjeldahl. NMKL nr. 6, 3 Ed. 1976. Provet våtförbränns i svavelsyra och organiskt kväve övergår till ammoniumjoner. Natriumhydroxid tillsätts och bildad ammoniak titreras med saltsyra. Protein beräknas från kvävet med hjälp av en omräkningsfaktor. Ackrediterad metod (SWEDAC).

Fett:

Fett bestäms med olika standardmetoder beroende på typ av livsmedel.

Mjölksprodukter analyseras med Röse-Gottlieb: NMKL No.10, 3 Ed. 2001. Fiberrika produkter analyseras som råfett med EG method B, Directive 98/64/EG. Övriga livsmedel analyseras med SBR: NMKL No. 131, 1989.

Samtliga metoder bygger på att fett frigörs med hydrolys och extraktion med lösningsmedel. Lösningssmedlet destilleras av och återstoden vägs till konstantvikt. Fett definieras som den gravimetriska viktökningen. Ackrediterade metoder (SWEDAC).

Stärkelse

Stärkelse bestäms enzymatiskt med egen modifierad metod av NMKL No. 145 2 Ed., 1997. Stärkelsen hydrolyseras i ugn under 30 minuter med Termamyl® vid pH 5,0 och vid temperaturen 90 °C . Stärkelse bestäms därefter enzymatiskt med ett kommersiellt test (Boehringer Mannheim/R-Biopharm Cat. No. 10 207 748 035). Mängden bildad NADPH mäts fotometriskt och är proportionell mot mängden stärkelse.

Sockerarter

Mono- och disackarider samt sockeralkoholerna sorbitol och xylitol bestäms gaskromatografiskt med egen validerad metod (Swedish J. Agric. Res. 4:49-52, 1974). Kolhydraterna omvandlas till trimetylsilyletrar (TMS-etrar) efter extraktion med 80 % etanol och analyseras på gaskromatograf med flamjonisationsdetektor. Kolhydraterna bestäms kvantitativt utifrån kalibreringskurva med phenyl- β -D-glucoside som inre standard.

Kostfiber

Kostfiber bestäms gravimetriskt, efter enzymatisk nedbrytning, som total kostfiber enligt AOAC 985.29/NMKL 129, 2 Ed. 2003. Proven bryts ned med enzymen Termamyl®, proteas och amyloglukosidas. Proven filtreras, tvättas, torkas och vägs. Totalkostfiber bestäms gravimetriskt som återstoden efter att vikten av aska och protein dragits ifrån. Ackrediterad metod (SWEDAC).

Fettsyrasammansättning

Fettsyror bestäms gaskromatografiskt med en modifierad metod av IUPAC 6th Ed, Part 1, 2.301 and 2.302, 1979. Metylestrar av fettsyror framställs från triglycerider genom metanols i alkalisk miljö. Den procentuella fördelningen av en blandning metylestrar av fettsyror bestäms med gaskromatografi. Ackrediterad metod (SWEDAC).

Kolesterol

Kolesterol bestäms gaskromatografiskt med egen validerad metod. Provet hydrolyseras med mättad kaliumhydroxid i metanol och kolesterol extraheras med cyklohexan. Kvantifiering görs utifrån kalibreringskurva med 5 α -cholestane som intern standard. Kolesterol bestäms direkt utan derivatisering med gaskromatografi på flamjonisationsdetektor. Ackrediterad metod (SWEDAC).

Metaller

Natrium, kalium, kalcium, magnesium, fosfor och molybden bestäms med ICP-AES (Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry) efter våtförbränning. Egen metod, ackrediterad för foder men ej för livsmedel (SWEDAC).

Övriga metaller bestäms efter torraskning vid 450 °C under gradvis temperaturhöjning. Efter fullbordad askning löses askan i 0,1 M salpetersyra. Nickel, kobolt och krom analyseras med grafitugn - atomabsorptionsspektrofotometer (GF-AAS) och mangan, järn, zink och koppar analyseras med flam-AAS. Metoden är ackrediterad av SWEDAC, med undantag för mangan och kobolt.

Selen

Selen bestäms med hydrid-ICP-AES efter våtförbränning. Ackrediterad metod (SWEDAC).

Jod

Jod bestäms spektrofotometriskt enligt Gig. Sanit. 1971, 36(4), 67-69. Ackrediterad metod (SWEDAC).

Ascorbinsyra

Metod för analys av halten askorbinsyra i saft, juice, frukt, grönsaker och pulverprodukter såsom frukt- och bärkrämer och -soppor, samt berikade mjölkprodukter såsom välling. Detektionsgränsen för askorbinsyra är 0,006 mg/100 g. Ascorbinsyra extraheras ur provet med 5 % metafosforsyra. En kromatografisk separation sker på en C8-kolonn (250×4,6 mm i.d., 5 μ m) och halten mäts amperometriskt med en pålagd potential av +0,85 V vs Ag/AgCl. Ackrediterad metod (SWEDAC).

Tiamin och riboflavin

Metod för analys av halten tiamin (vitamin B₁) och riboflavin (vitamin B₂) i berikade och icke berikade livsmedel. Detektionsgräns för vitamin B₁ är 0,005 mg/100 g och för vitamin B₂ 0,026 mg/100 g. Den gemensamma provbehandlingen inleds med en sur och en enzymatisk hydrolys. Därefter bestäms halten fritt riboflavin med kromatografisk separation på en C18-kolonn (250×4,6 mm i.d., 5 μ m) och fluorimetrisk detektion.

Tiamin oxideras i starkt alkalisk lösning till tiokrom som fluorescerar i ultraviolett ljus. Som oxidationsmedel används kaliumhexacyanoferrat. Derivatiseringen sker automatiskt före injiceringstillfället med hjälp av en vätskehanteringsrobot (Gilson ASPEC). EN 14122 och EN 14152. Ackrediterad metoder (SWEDAC).

Folat

Metod för analys av total folathalt i berikade och icke-berikade livsmedel. Bestämningen sker med mikrobiologisk teknik och turbidimetrisk detektion av tillväxten hos *Lactobacillus casei*, *subsp. Rahnosus* (*Lactobacillus rahnosus*, Culture Collection of the University of Gothenburg, CCUG 21452 motsvarande *Lactobacillus casei* American Type Culture Collection, ATCC 7469). Detektionsgränsen är 3,3 µg/100 g.

Finfördelade prover suspenderas i fosfatbuffert och autoklaveras för att möjliggöra extraktion ur provmatrisen. Ytterligare extraktion görs därefter med hjälp av enzymer. Eftersom *L. casei* inte kan utnyttja polyglutamatformerna av vitaminerna för tillväxt, krävs även en enzymatisk dekonjugering före analys. Provextraktet späds med basalmedium som innehåller alla nödvändiga tillväxtfaktorer utom folat. Efter tillsats av *L. casei* inkuberas proverna vid +37 °C under 22 timmar, varefter tillväxten mäts turbidimetriskt. Genom att jämföra tillväxten i provextraktet med den i kalibreringslösningen kan vitaminhalten bestämmas. EN14131. AACC 86-47. Ackrediterad metod (SWEDAC).

Niacin

Metod för analys av total niacinhalt i livsmedel, såväl i berikade produkter som naturligt förekommande nikotinsyra och nikotinamid. Bestämningen sker med mikrobiologisk teknik och turbidimetrisk detektion av tillväxten hos *Lactobacillus plantarum* (ATCC 8014). Detektionsgränsen är 0,03 mg/100 g (invägd provmängd är 5 g).

Finfördelade prover suspenderas i svavelsyra och autoklaveras för att möjliggöra extraktion ur provmatrisen. Provextraktet späds med basalmedium som innehåller alla nödvändiga tillväxtfaktorer utom niacin. Efter tillsats av *L. plantarum* inkuberas proverna vid +37 °C under 22 timmar, varefter tillväxten mäts turbidimetriskt. Genom att jämföra tillväxten i provextraktet med den i kalibreringslösningen kan vitaminhalten bestämmas. Ackrediterad metod (SWEDAC).

Vitamin B₆

Metod för analys av vitamin B₆ i livsmedel av animaliskt och vegetabiliskt ursprung. Vitamin B₆ anges som pyridoxin-hydroklorid. Detektionsgränsen är 0,009 mg pyridoxin-hydroklorid/100 g (invägd mängd är 5 g).

Finfördelade prover suspenderas i saltsyra och autoklaveras för att möjliggöra extraktion ur provmatrisen och för att hydrolysera fosfatesterbindningarna. Där analyten är av känd form och saknar fosfatestrar kan en förenklad provberedning användas. Provextraktet späds med basalmedium som innehåller alla nödvändiga tillväxtfaktorer utom vitamin B₆. Efter tillsats av *Saccharomyces uvarum* (ATCC 9080) inkuberas proverna vid +30 °C under 21 timmar under omskakning, varefter tillväxten mäts turbidimetriskt. Genom att jämföra tillväxten i provextraktet med den i kalibreringslösningar kan vitaminhalten bestämmas. Ackrediterad metod (SWEDAC).

Vitamin B₁₂

Metod för analys av totalhalt cyanokobalamin, vitamin B₁₂, i livsmedel. Analys av naturligt förekommande former av vitaminet samt av berikade produkter. Bestämningen sker med mikrobiologisk teknik och turbidimetrisk detektion av tillväxten hos *Lactobacillus leichmanni* (American Type Culture Collection, ATCC, 7830). Detektionsgränsen är 0,04 µg/100 g.

Finfördelade prover suspenderas i acetatbuffert och autoklaveras för att möjliggöra extraktion ur provmatrisen. Med hjälp av cyanidlösning omvandlas de olika formerna av vitaminet till den mer stabila formen cyanokobalamin. Provextrakten späds med basalmedium som innehåller alla nödvändiga tillväxtfaktorer utom vitamin B₁₂. Efter tillsats av *Lactobacillus leichmanni* (ATCC 7830) inkuberas proverna vid +37 °C i 22 timmar. Genom att jämföra tillväxten i provextraktet med den i kalibreringslösningar kan vitaminhalten bestämmas. Ackrediterad metod (SWEDAC).

Trans-retinol

Provet hydrolyseras i basisk miljö, varvid retinylestrarna överförs till retinol. Hydrolysat med låg fetthalt extraheras därefter med n-hexan på en kiselguhrbaserad kolonn (Chem Elut). Till prover med hög fetthalt, t.ex oljeprover, används istället extraktion i separertratt. Efter isokratisk vätskekromatografisk separation på en aminokolonn detekteras retinol med UV-detektor vid 325 nm. Den kvantitativa utvärderingen baserar sig på jämförelse med extern standard. Detektionsgränsen är 5-10 µg/100 g. Ackrediterad metod (SWEDAC).

Vitamin D₃

Efter tillsats av intern standard (vitamin D₂) och basisk hydrolys extraheras vitamin D₃ med n-heptan. Den fraktion som innehåller vitamin D₂/D₃ separeras med hjälp av preparativ straight phase vätskekromatografi (Silica). Efter indunstning och upplösning i acetonitril/metanol bestäms vitamin D₃ kvantitativt med reversed phase vätskekromatografi (C-18). Detektion görs med UV vid 265 nm. Den kvantitativa utvärderingen baserar sig på jämförelse med den interna standarden. Detektionsgränsen är 0,2 µg/100 g. Ackrediterad metod (SWEDAC).

Tokoferoler (vitamin E)

Provet hydrolyseras i basisk miljö, varvid tokoferylestrarna överförs till tokoferoler. Hydrolysat med låg fetthalt extraheras därefter med n-hexan på en kiselguhrbaserad kolonn (Chem Elut). Till prover med hög fetthalt används istället extraktion i separertratt. Efter isokratisk vätskekromatografisk separation på en aminokolonn detekteras tokoferoler med fluorescensdetektor. Den kvantitativa utvärderingen baserar sig på jämförelse med extern standard. Detektionsgränsen är 0,006-0,01 mg/100 g för alfa-tokoferol, 0,007-0,01 mg/100 g för beta-tokoferol, 0,008-0,02 för gamma-tokoferol och 0,02-0,03 mg/100 g för delta-tokoferol. Ackrediterad metod (SWEDAC).

Vitamin K

Provet blandas med 70 % etanol och de fettlösliga komponenterna extraheras därefter över i heptan under återloppskokning. Provet indunstas sedan och analyseras med reversed phase vätskekromatografi (C-18) med fluorescensdetektor. Vitamin K reduceras i en reduktionskolonn fylld med zinkpulver, vilket gör att vitaminet kan detekteras fluorimetriskt. Den kvantitativa utvärderingen baserar sig på jämförelse med extern standard. Detektionsgränsen är 0,4 µg/100 g.

Karotenoider

Analyserna m.a.p. karotenoider utförs dels med en direktextraktionsmetod, dels med en modifierad variant där basisk hydrolys ingår. I båda fallen extraheras provet med etanol och diklormetan, men i det senare fallet hydrolyseras provet med hjälp av kaliumhydroxid. Vid användning av direktextraktionsmetoden får man endast med halterna av fria karotenoider, men med användande av hydrolys inkluderar man även karotenoider i esterform i resultatet. Gemensamt för båda metoderna är att efter extraktionen indunstas provet till liten volym,

löses i metanol och diklormetan och analyseras därefter med reversed phase vätskekromatografi (C-30) med diode-array-detektor.

Vid användning av hydrolys blir utbytet lägre och därför görs utbyteskorrektion för ett utbyte av 87 % för trans- α - och trans- β -karoten, trans- β -kryptoxantin, trans-lutein samt trans-zeaxantin. Utbytet för trans-lykopen är 70 %. Ingen utbyteskorrektion görs vid användning av direktextraktionsmetoden. Detektionsgränsen är 1-2 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ för samtliga analyserade karotenoider. Direktextraktionsmetoden är ackrediterad (SWEDAC) för analys av trans- β -karoten i halter över 80 $\mu\text{g}/100\text{ g}$.