

DIN EN 14122

ICS 67.050

Ersatz für
DIN EN 14122:2003-09 und
DIN EN 14122
Berichtigung 1:2006-03

**Lebensmittel –
Bestimmung von Vitamin B1 mit
Hochleistungs-Flüssigchromatographie;
Deutsche Fassung EN 14122:2014**

Foodstuffs –

Determination of vitamin B1 by high performance liquid chromatography;
German version EN 14122:2014

Produits alimentaires –

Détermination de la teneur en vitamine B1 par chromatographie liquide haute
performance;

Version allemande EN 14122:2014

Gesamtumfang 22 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN 14122:2014) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Gremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-01-13 AA „Vitamine und Carotinoide“ im Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN.

Für die in diesem Dokument zitierten Intentionalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen, wobei EN-ISO-Normen nur dann genannt sind, wenn sie nicht als DIN-EN-ISO-Normen mit gleicher Zählnummer veröffentlicht sind:

EN ISO 3696	siehe DIN ISO 3696
ISO 5725 (alle Teile)	siehe DIN ISO 5725 (alle Teile)

Änderungen

Gegenüber DIN EN 14122:2003-09 und DIN EN 14122 Berichtigung 1:2006-03 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Anwendungsbereich erweitert;
- b) 8.2 Erweiterung der Daten zur Wiederholpräzision;
- c) 8.3 Erweiterung der Daten zur Vergleichpräzision;
- d) Anhang D „Vitamin B1 Verbindungen: 2-(1-hydroxyethyl)thiamin (HET) mit Nachsäulenderivatisierung“ neu aufgenommen;
- e) Literaturhinweise ergänzt;
- f) redaktionell überarbeitet.

Frühere Ausgaben

DIN EN 14122: 2003-09
DIN EN 14122 Berichtigung 1: 2006-03

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

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

DIN ISO 5725 (alle Teile), *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen*

Deutsche Fassung

Lebensmittel —
Bestimmung von Vitamin B1 mit
Hochleistungs-Flüssigchromatographie

Foodstuffs —
Determination of vitamin B1 by high performance liquid
chromatography

Produits alimentaires —
Détermination de la teneur en vitamine B1 par
chromatographie liquide haute performance

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 17. April 2014 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim Management-Zentrum des CEN-CENELEC oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, der ehemaligen jugoslawischen Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, der Schweiz, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Avenue Marnix 17, B-1000 Brüssel

Inhalt

Seite

Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Kurzbeschreibung	4
4 Chemikalien	4
5 Geräte	7
6 Durchführung	7
7 Berechnung	10
8 Präzision	10
9 Untersuchungsbericht	12
Anhang A (informativ) Beispiele für HPLC Chromatogramme	13
Anhang B (informativ) Präzisionsdaten	15
Anhang C (informativ) Alternative HPLC-Systeme	17
Anhang D (informativ) Vitamin B₁ Verbindung: 2-(1- hydroxyethyl)thiamin (HET) mit Nachsäulenderivatisierung	18
Literaturhinweise	20

Vorwort

Dieses Dokument (EN 14122:2014) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik - Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Dezember 2014, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Dezember 2014 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN [und/oder CENELEC] sind nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Dieses Dokument ersetzt EN 14122:2003.

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

WARNUNG — Bei der Anwendung dieser Europäischen Norm ist es möglich, dass gefährliche Substanzen, Arbeitsgänge und Geräte angewendet werden. Diese Norm erhebt nicht den Anspruch, dass alle mit ihrer Anwendung verbundenen Sicherheitsprobleme angesprochen werden. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieser Norm, geeignete Vorkehrungen für den Arbeits- und Gesundheitsschutz zu treffen und vor der Anwendung festzulegen, welche einschränkenden Vorschriften gelten.

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm legt ein Verfahren zur Bestimmung von Vitamin B₁ in Lebensmitteln mit Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) mit Enzymbehandlung und Vor- oder Nachsäulenderivatisierung fest. Diese Bestimmung wurde in zwei Ringversuchen validiert. In dem einen Ringversuch wurde Vollkornmehl, Milchpulver/sprühgetrocknete Milch, gefriergetrocknetes Mischgemüse und gefriergetrocknete Schweineleber mit Gehalten von 0,295 mg/100 g bis 0,807 mg/100 g analysiert. Im zweiten Ringversuch wurde Krankenhausnahrung, Babynahrung mit Gemüse, Milchpulver, Fertignahrungsmittel mit Früchten, Hefe, Getreide, Schokoladenpulver und Nahrungsergänzungsmittel von 0,11 mg/100 g bis 486 mg/100 g untersucht. Vitamin B₁ ist der Massenanteil an Gesamtthiamin einschließlich der phosphorylierten Derivate.

Weitere Validierungsdaten siehe Abschnitt 8 und Anhang B.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

EN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen (ISO 3696)*

3 Kurzbeschreibung

Thiamin wird durch saure Hydrolyse aus Lebensmitteln extrahiert, anschließend enzymatisch dephosphoryliert und quantitativ durch HPLC mit Vor- oder Nachsäulenderivatisierung als Thiochrom bestimmt. Die Quantifizierung wird mit einem externen Standard durchgeführt. Für weitere Informationen siehe [1] bis [7].

4 Chemikalien

Falls nicht anders angegeben, werden bei der Analyse nur analysenreine Chemikalien und Wasser von mindestens Qualität 1 nach EN ISO 3696 oder doppelt destilliertes Wasser verwendet.

- 4.1 **Methanol**, für HPLC, Massenanteil $w(\text{CH}_3\text{OH}) \geq 99,8 \%$.
- 4.2 **Essigsäurelösung**, Stoffmengenkonzentration $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0,02 \text{ mol/l}$.
- 4.3 **Isobutanol**, $w(\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}) \geq 98 \%$.
- 4.4 **Natriumdihydrogenphosphat**, $w(\text{NaH}_2\text{PO}_4) \geq 99,8 \%$.
- 4.5 **Salzsäure-Lösung**, $w(\text{HCl}) = 36 \%$.
- 4.6 **Salzsäure-Lösung**, $c(\text{HCl}) = 0,1 \text{ mol/l}$.
- 4.7 **Schwefelsäure-Lösung**, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,05 \text{ mol/l}$.
- 4.8 **Natriumhydroxid**, $w(\text{NaOH}) \geq 99 \%$.
- 4.9 **Natriumhydroxid-Lösung**, Massenkonzentration $\rho(\text{NaOH}) = 150 \text{ g/l}$.
- 4.10 **Natriumhydroxid-Lösung**, $\rho(\text{NaOH}) = 200 \text{ g/l}$.
- 4.11 **Kaliumhexacyanoferrat(III)**, $w\{\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]\} \geq 99 \%$.
- 4.12 **Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung**, $\rho\{\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]\} = 10 \text{ g/l}$.

4.13 Alkalische Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung (Vorsäulenderivatisierung), $\rho\{\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]\} = 0,4 \text{ g/l}$.

2 ml Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung (4.12) werden mit Natriumhydroxid-Lösung (4.9) auf 50 ml verdünnt. Diese Lösung wird an jedem Untersuchungstag frisch hergestellt.

4.14 Alkalische Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung (Nachsäulenderivatisierung), $\rho\{\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]\} = 0,5 \text{ g/l}$.

2,5 ml Kaliumhexacyanoferrat (III)-Lösung (4.12) werden mit Natriumhydroxid-Lösung (4.10) auf 50 ml verdünnt.

4.15 Enzyme oder Enzymgemische, mit der Fähigkeit Vitamin B₁ aus Lebensmitteln als freie Thiamine freizusetzen.

ANMERKUNG 1 Für die Präzisionsdaten in Tabelle B.1 wurde Taka-Diastase von Pfaltz & Bauer¹⁾ verwendet. Die Präzisionsdaten in Tabelle B.2 und B.3 wurden mit einem Enzymgemisch aus β -Amylase aus Gerste und Taka-Diastase von Serva¹⁾ ermittelt.

ANMERKUNG 2 Falls es zu einer unvollständigen Dephosphorylierung kommt, kann dies durch eine separate Quantifizierung von TMP (Thiaminmonophosphat) gelöst werden, siehe [7].

4.16 Natriumacetat-Lösung, $c(\text{CH}_3\text{COONa} \times 3\text{H}_2\text{O}) = 2,5 \text{ mol/l}$.

4.17 Natriumacetat-Lösung, $c(\text{CH}_3\text{COONa} \times 3\text{H}_2\text{O}) = 0,5 \text{ mol/l}$.

4.18 Mobile Phase für die HPLC

Beispiele von geeigneten Lösemittelgemischen, z. B. von 10 % bis 50 % Methanol (4.1) in Wasser oder in Phosphat- oder Acetatpuffern sind in Anhang A und Anhang C angegeben. Die Möglichkeit für die Verwendung von ionenpaarbildenden Mitteln ist ebenfalls gegeben.

4.19 Phosphatpuffer (pH = 3,5), $c(\text{KH}_2\text{PO}_4) = 9,0 \text{ mmol/l}$.

4.20 Tetraethylammoniumchlorid, $w(\text{C}_8\text{H}_{20}\text{NCl}) \geq 98 \%$.

4.21 Natriumheptasulfonat, $w(\text{C}_7\text{H}_{15}\text{NaO}_3\text{S}) \geq 98 \%$.

4.22 Acetatpuffer (pH-Wert 4), $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 50 \text{ mmol/l}$.

4.23 Standardsubstanzen

4.23.1 Thiaminchlorid-Hydrochlorid, $w(\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{OS} \times \text{HCl}) \geq 99 \%$.

Für externe Kalibrierungen, siehe 6.2.3.

4.23.2 Thiaminmonophosphatchlorid, $w(\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}_4\text{PS}) \geq 98 \%$.

Zur Überprüfung von Enzymen, siehe 6.2.2.

4.23.3 Thiaminpyrophosphatchlorid, (Cocarboxylase), $w(\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}_7\text{P}_2\text{S}) \geq 98 \%$.

Zur Überprüfung von Enzymen, siehe 6.2.2.

4.24 Stammlösungen

1) Taka-Diastase ist die Herstellerbezeichnung des Produktes, geliefert von Pfaltz & Bauer, Waterbury, CT 06708, USA (No T00040), und Serva. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieser Europäischen Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN. Gleichwertige Produkte dürfen verwendet werden, wenn sie nachweisbar zu identischen Ergebnissen führen.