

DIN EN 14164

ICS 67.050

Ersatz für
DIN V ENV 14164:2002-05**Lebensmittel –
Bestimmung von Vitamin B₆ mit HPLC;
Deutsche Fassung EN 14164:2008**

Foodstuffs –
Determination of vitamin B₆ by HPLC;
German version EN 14164:2008

Produits alimentaires –
Dosage de la vitamine B₆ par CLHP;
Version allemande EN 14164:2008

Gesamtumfang 19 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN 14164:2008) ist vom Technischen Komitee TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ des Europäischen Komitees für Normung (CEN), dessen Sekretariat vom DIN (Deutschland) gehalten wird, nach eingehenden Vorarbeiten der Arbeitsgruppe 9 „Vitamine und Carotinoide“ erarbeitet worden.

Das zuständige deutsche Arbeitsgremium ist der Arbeitsausschuss „Vitamine und Carotinoide“ des Normenausschusses „Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte“ (NAL) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V.

Für die in diesem Dokument zitierten Internationalen 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 V ENV 14164:2002-05 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) ein Verweis auf andere Europäische Normen zur Bestimmung von Vitamin B₆ wurde aufgenommen;
- b) die Prüfung der Aktivität der sauren Phosphatase wird beschrieben;
- c) die Ergebnisse eines Ringversuches zur Bestimmung von Vitamin B₆ in rekonstituierter Säuglingsnahrung wurden aufgenommen;
- d) die Norm wurde technisch und redaktionell überarbeitet und ergänzt und damit an die derzeit gültigen Gestaltungsregeln angepasst.

Frühere Ausgaben

DIN V ENV 14164: 2002-05

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 B₆ mit HPLC**

Foodstuffs —
Determination of vitamin B₆ by HPLC

Produits alimentaires —
Dosage de la vitamine B₆ par CLHP

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 5. Dezember 2007 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 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, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, der Schweiz, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



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

Management-Zentrum: rue de Stassart, 36 B-1050 Brüssel

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Kurzbeschreibung	4
4 Chemikalien	4
5 Geräte	8
6 Durchführung	9
7 Berechnung	10
8 Untersuchungsbericht	10
Anhang A (informativ) Beispiel für ein Chromatogramm	11
Anhang B (informativ) Präzisionsdaten	12
Anhang C (informativ) Wahlweise Behandlung der Probe ohne Säurehydrolyse	15
Anhang D (informativ) Beispiele für molare Absorptionskoeffizienten	16
Literaturhinweise	17

Vorwort

Dieses Dokument (EN 14164:2008) 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 2008, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Dezember 2008 zurückgezogen werden.

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

Dieses Dokument ersetzt ENV 14164:2002.

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

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm legt ein Verfahren zur Bestimmung von Vitamin B₆ in Lebensmitteln mit Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC) fest. Vitamin B₆ ist der Massenanteil der Gesamtmenge an Pyridoxin (PN), Pyridoxal (PL) und Pyridoxamin (PM), einschließlich ihrer phosphorylierten Derivate, die als Pyridoxin bestimmt werden. Die β -glycosylierten Formen werden nicht berücksichtigt. Diese können mit dem in EN 14663 [1] festgelegten Verfahren bestimmt werden, bei dem die verschiedenen Vitamere von Vitamin B₆ (Pyridoxin, Pyridoxal und Pyridoxamin) getrennt und individuell bestimmt werden. Eine dritte Europäische Norm (EN 14166)¹⁾ [2] bestimmt den Gesamtgehalt an Vitamin B₆ mikrobiologisch.

2 Normative Verweisungen

Das folgende zitierte Dokument ist 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 Laborzwecke — Spezifikation und Prüfverfahren (ISO 3696:1987)*

3 Kurzbeschreibung

Pyridoxal, Pyridoxamin und Pyridoxin werden durch saure Hydrolyse aus Lebensmitteln extrahiert und anschließend enzymatisch mit saurer Phosphatase dephosphoryliert.

Bei der Reaktion mit Glyoxylsäure in Gegenwart von Fe²⁺ als Katalysator wird Pyridoxamin zu Pyridoxal umgewandelt, das dann unter Einwirkung von Natriumborhydrid im basischen Medium zu Pyridoxin reduziert wird. Pyridoxin wird dann quantitativ in der Probenlösung durch HPLC mit Fluoreszenzdetektion bestimmt [3], [4].

4 Chemikalien

4.1 Allgemeines

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.

4.2 Reagenzien und Lösungen

4.2.1 Saure Phosphatase, (CAS 9001-77-8), aus Kartoffeln, Enzymaktivität 33 nkat/mg²⁾ mit dem Substrat p-Nitrophenylphosphat bei pH = 4,8 und $T = 37\text{ °C}$, z. B. von Boehringer oder Sigma³⁾. Eine Enzymaktivität von 33 nkat/mg entspricht 2 U/mg.

4.2.1.1 Saure Phosphatase-Lösung

Eine Lösung von 20 mg/ml saure Phosphatase in Natriumacetatlösung (4.2.14) wird hergestellt.

1) In Erarbeitung.

2) Katal (Symbol „kat“) ist eine hergeleitete SI-Einheit für die Enzymaktivität. Ein Katal ist die katalytische Aktivität, die die Reaktionsrate um ein mol/s unter festgelegten Bedingungen erhöht.

3) Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieser Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN. Gleichwertige Produkte dürfen verwendet werden, wenn sie nachweisbar zu identischen Ergebnissen führen.