

DIN EN 14164

ICS 67.050

Ersatz für
DIN EN 14164:2008-08**Lebensmittel –
Bestimmung von Vitamin B6 mit Hochleistungs-Flüssigchromatographie;
Deutsche Fassung EN 14164:2014**

Foodstuffs –

Determination of vitamin B6 by high performance chromatography;
German version EN 14164:2014

Produits alimentaires –

Détermination de la teneur en vitamine B6 par chromatographie liquide haute
performance;

Version allemande EN 14164:2014

Gesamtumfang 18 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN 14164:2014) 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 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-Norm 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 14164:2008-08 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

a) Redaktionell überarbeitet.

Frühere Ausgaben

DIN V ENV 14164: 2002-05

DIN EN 14164: 2008-08

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
Hochleistungs-Flüssigchromatographie

Foodstuffs —
Determination of vitamin B6 by high performance
chromatography

Produits alimentaires —
Détermination de la teneur en vitamine B6 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	8
6 Durchführung	8
7 Berechnung	9
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	14
Anhang D (informativ) Beispiele für molare Absorptionskoeffizienten	15
Literaturhinweise	16

Vorwort

Dieses Dokument (EN 14164:2014) 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 14164:2008.

Die Anhänge A, B, C und D sind informativ.

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 B₆ in Lebensmitteln mit Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC) fest. Vitamin B₆ ist der Massenanteil der Gesamtmenge an Pyridoxin, Pyridoxal, Pyridoxamin, 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 Formen von Vitamin B₆ (Pyridoxal, Pyridoxamin und Pyridoxin) getrennt und individuell bestimmt werden. Eine dritte Europäische Norm, EN 14166) [2], legt die mikrobiologische Bestimmung des Gesamtgehaltes an Vitamin B₆ fest.

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 Laborzwecke — Spezifikation und Prüfverfahren (ISO 3696)*

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 Probenmesslösung durch HPLC mit Fluoreszenzdetektion bestimmt [3], [4].

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 Saure Phosphatase, (CAS 9001-77-8), aus Kartoffeln, Enzymaktivität 33 nkat/mg¹⁾ mit dem Substrat p-Nitrophenylphosphat bei pH = 4,8 und $T = 37\text{ °C}$, z. B. von Boehringer oder Sigma²⁾. Eine Enzymaktivität von 33 nkat/mg entspricht 2 U/mg.

4.1.1 Saure Phosphatase-Lösung

Eine Lösung von 20 mg/ml saurer Phosphatase in Natriumacetatlösung (4.14) wird hergestellt.

Es ist erforderlich, saure Phosphatase statt Taka-Diastase zu verwenden, um die phosphorylierten Formen von Vitamin B₆ vollständig zu hydrolysieren. Eine gute Dephosphorylierung erfordert 300 mg Taka-Diastase, wohingegen nur 0,5 mg saure Phosphatase ausreichen, siehe [5].

1) 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.

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