

**DIN EN 14166**

ICS 07.100.30

Ersatz für  
DIN V ENV 14166:2002-02**Lebensmittel –  
Mikrobiologische Bestimmung von Vitamin B<sub>6</sub>;  
Deutsche Fassung EN 14166:2009**

Foodstuffs –

Determination of vitamin B<sub>6</sub> by microbiological assay;  
German version EN 14166:2009

Produits alimentaires –

Détermination de la vitamine B<sub>6</sub> par essai microbiologique;  
Version allemande EN 14166:2009

Gesamtumfang 16 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

## **Nationales Vorwort**

Dieses Dokument (EN 14166:2009) ist vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“, 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 NA 057-01-13 AA „Vitamine und Carotinoide“ des Normenausschusses „Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte“ (NAL) im DIN Deutsches Institut für Normung e. V.

Für die in diesem Dokument zitierte Norm wird im Folgenden auf die entsprechende Deutsche Norm hingewiesen:

EN ISO 3696      siehe DIN ISO 3696

## **Änderungen**

Gegenüber DIN V ENV 14166:2002-02 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) als Standardsubstanz für die Herstellung der Stamm- und Kalibrierlösungen wird nur noch Pyridoxinhydrochlorid verwendet;
- b) die Norm wurde technisch und redaktionell überarbeitet und ergänzt und damit an die derzeit gültigen Gestaltungsregeln angepasst.

## **Frühere Ausgaben**

DIN V ENV 14166: 2002-02

## **Nationaler Anhang NA** (informativ)

### **Literaturhinweise**

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

**Deutsche Fassung**

**Lebensmittel —  
Mikrobiologische Bestimmung von Vitamin B<sub>6</sub>**

Foodstuffs —  
Determination of vitamin B<sub>6</sub> by microbiological assay

Produits alimentaires —  
Détermination de la vitamine B<sub>6</sub> par essai microbiologique

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 23. April 2009 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: Avenue Marnix 17, B-1000 Brüssel**

## Inhalt

|                                                                                                                                                                                     | Seite     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Vorwort</b> .....                                                                                                                                                                | <b>2</b>  |
| <b>1 Anwendungsbereich</b> .....                                                                                                                                                    | <b>3</b>  |
| <b>2 Normative Verweisungen</b> .....                                                                                                                                               | <b>3</b>  |
| <b>3 Kurzbeschreibung</b> .....                                                                                                                                                     | <b>3</b>  |
| <b>4 Chemikalien</b> .....                                                                                                                                                          | <b>3</b>  |
| <b>5 Geräte</b> .....                                                                                                                                                               | <b>6</b>  |
| <b>6 Durchführung</b> .....                                                                                                                                                         | <b>6</b>  |
| <b>7 Berechnung</b> .....                                                                                                                                                           | <b>10</b> |
| <b>8 Annahmekriterien für Ergebnisse</b> .....                                                                                                                                      | <b>10</b> |
| <b>9 Präzision</b> .....                                                                                                                                                            | <b>11</b> |
| <b>10 Untersuchungsbericht</b> .....                                                                                                                                                | <b>11</b> |
| <b>Anhang A (informativ) Kalibrierkurven für Vitamin B<sub>6</sub>, gewonnen durch mikrobiologische Bestimmung unter Verwendung des Prüfkeims <i>Saccharomyces uvarum</i></b> ..... | <b>12</b> |
| <b>Anhang B (informativ) Präzisionsdaten</b> .....                                                                                                                                  | <b>13</b> |
| <b>Literaturhinweise</b> .....                                                                                                                                                      | <b>14</b> |

## Vorwort

Dieses Dokument (EN 14166:2009) 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 November 2009, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis November 2009 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 14166:2001.

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 mikrobiologisches Verfahren (microbiological assay – MBA) zur Bestimmung des Gesamtgehaltes an Vitamin B<sub>6</sub> in Lebensmitteln fest. Vitamin B<sub>6</sub> wird als Massenanteil von Pyridoxin, Pyridoxal und Pyridoxamin einschließlich deren phosphorylierter oder glykosylierter Derivate bestimmt. Dieser wird üblicherweise als Milligramm Vitamin B<sub>6</sub> je 100 g Lebensmittel angegeben. Das Verfahren ist auf Proben anwendbar, die homogenisiert werden können und keine hohen Konzentrationen an Antibiotika oder anderen störenden Substanzen enthalten.

Dieses Verfahren wurde in einem Ringversuch an angereicherten und nicht angereicherten Proben validiert, wie Vollkornmehl, Milchpulver, Mischgemüse und Schweineleber, jeweils bei Gehalten von 0,5 mg/100 g bis 1,9 mg/100 g. Weitere Information zu Validierungsdaten, siehe Anhang B.

## 2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente 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 3696:1995, *Wasser für analytische Laborzwecke — Spezifikation und Prüfverfahren (ISO 3696:1987)*

## 3 Kurzbeschreibung

Pyridoxin, Pyridoxal und/oder Pyridoxamin werden durch saure Hydrolyse aus den Lebensmitteln extrahiert. Die B<sub>6</sub>-Vitamer werden durch Hydrolyse von Proteinen und Kohlehydraten getrennt und die Phosphate zu den freien Vitaminen umgewandelt. Der Gesamtgehalt an Vitamin B<sub>6</sub> im Probenextrakt wird bestimmt, in dem die Wachstumsreaktion des Prüfkeims in der Probenlösung gegenüber der in einem Pyridoxinhydrochlorid-Standard verglichen wird, siehe [1].

## 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 3696:1995 verwendet. Das Wasser für die Herstellung der Reagenzien muss in einer Glasapparatur destilliert worden sein. Nach der Destillation muss das Wasser innerhalb von fünf Tagen verbraucht oder verworfen werden.

### 4.2 Reagenzien und Lösungen

**4.2.1 Schwefelsäure-Lösung**, Stoffmengenkonzentration  $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,22 \text{ mol/l}$

**4.2.2 Natriumhydroxid-Lösung**,  $c(\text{NaOH}) = 4 \text{ mol/l}$

**4.2.3 Wort-Agar**, (Difco<sup>1</sup>) oder eine geeignete Alternative)

Der Agar wird in glas-destilliertem Wasser nach den Anweisungen des Herstellers gelöst und zum Sieden erhitzt. 5 ml Anteile werden in Glasflaschen abgefüllt, diese werden verschlossen und bei 121 °C 15 min autoklaviert und in Schrägstellung zur Bildung eines Schrägagars abkühlen gelassen. Die Flaschen werden im Kühlschrank bis zu 3 Monate gelagert.

---

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