

DIN EN 15652

ICS 67.050

**Lebensmittel –
Bestimmung von Niacin mit HPLC;
Deutsche Fassung EN 15652:2009**

Foodstuffs –
Determination of niacin by HPLC;
German version EN 15652:2009

Produits alimentaires –
Dosage de la niacine par CLHP;
Version allemande EN 15652:2009

Gesamtumfang 23 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (EN 15652:2009) 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 zitierten Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

EN ISO 3696	siehe DIN ISO 3696
ISO 5725-2	siehe DIN ISO 5725-2

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

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

DIN ISO 5725-2, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für die Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens*

Deutsche Fassung

Lebensmittel —
Bestimmung von Niacin mit HPLC

Foodstuffs —
Determination of niacin by HPLC

Produits alimentaires —
Dosage de la niacine par CLHP

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
Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Kurzbeschreibung	4
4 Reagenzien	5
5 Geräte	7
6 Durchführung	10
7 Berechnung	11
8 Präzision	12
9 Untersuchungsbericht	14
Anhang A (informativ) Typisches Chromatogramm	15
Anhang B (informativ) Präzisionsdaten für die saure, enzymatische und sauer/alkalische Hydrolyse	16
Anhang C (informativ) Vergleich der drei Hydrolysearten	19
Literaturhinweise	21

Vorwort

Dieses Dokument (EN 15652:2009) 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.

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.

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 für die Bestimmung des Massenanteils an Niacin in Lebensmitteln mit Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) nach drei verschiedenen Hydrolysemöglichkeiten fest. Säurehydrolyse (A), enzymatische Hydrolyse (B) oder saure/alkalische Hydrolyse (C).

Das Verfahren wurde in einem Ringversuch an angereicherten und nicht angereicherten Proben wie pulverisierten Frühstückscerealien, Frühstückscerealien mit Schokolade, Kochschinken, grünen Erbsen, grünen Erbsen mit Schinken (lyophilisiert), Suppe (lyophilisiert), an angereichertem Orangensaft, Milchpulver und Weizenmehl validiert, die 0,5 mg/100 g bis 24 mg/100 g an Niacin enthielten. Weitere Informationen, siehe Anhang B.

A und B ergeben ähnliche Ergebnisse für Niacin. Bei den Optionen A und B wird Niacin als die Summe von Nicotinamid und Nicotinsäure berechnet und als Nicotinsäure angegeben [1]. Option C ergibt bei Niacin in nicht angereicherten Cerealien höhere Ergebnisse als A und B, aber bei anderen Lebensmitteln ähnliche Ergebnisse. Bei der Option C wird Nicotinamid in Nicotinsäure umgewandelt und das Niacin als Nicotinsäure berechnet und ausgedrückt [2].

Option A ist schneller und preiswerter als B und C.

Option B wird verwendet, wenn eine genaue Quantifikation von Nicotinamid und Nicotinsäure erforderlich ist. Hierfür ist die Option A nicht geeignet, da während der Säurehydrolyse Nicotinamid in geringem Maße in Nicotinsäure umgewandelt wird.

Bei der Option C wird der Gesamtgehalt an Niacin bestimmt. Die alkalische Hydrolyse kann andere Derivate freisetzen, was zu höheren Befunden von Niacin führt, was in einigen Lebensmitteln wie Mais oder Getreiden üblicherweise nicht biologisch aktiv ist, siehe [3], [4] und [5].

Ein Vergleich der drei verschiedenen Hydrolysewege ist in Anhang C wiedergegeben.

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

Niacin-Vitamer werden aus dem Lebensmittel durch saure (Option A), enzymatische (Option B) oder sauer/alkalische (Option C) Hydrolyse extrahiert und durch HPLC mit fluorimetrischer Detektion nach einer Nachsäulenderivatisierung mit UV-Bestrahlung bestimmt, siehe [1] und [2]. Bei Option A und Option B wird Niacin als die Summe von Nicotinamid und Nicotinsäure bestimmt. Niacin wird nach Korrektur der Molekulargewichte als Nicotinsäure ausgedrückt. Bei Option C wird Niacin als Nicotinsäure bestimmt und ausgedrückt. Bei der alkalischen Behandlung wird das gesamte Nicotinamid in Nicotinsäure umgewandelt.

4 Reagenzien

4.1 Allgemeines

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

4.2 Chemikalien und Lösungen

4.2.1 Natriumacetat, Massenanteil $w(\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2) \geq 99 \%$

4.2.2 Kaliummonohydrogenphosphat, $w(\text{K}_2\text{HPO}_4) \geq 99,5 \%$

4.2.3 Kaliumdihydrogenphosphat, $w(\text{KH}_2\text{PO}_4) \geq 99,5 \%$

4.2.4 Nicht stabilisierte Wasserstoffperoxid-Lösung, $w(\text{H}_2\text{O}_2) = 30 \%$

4.2.5 Kupfersulfat, $w(\text{Cu(II)SO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}) \geq 99 \%$

4.2.6 Essigsäure, $w(\text{CH}_3\text{COOH}) \geq 99,8 \%$

4.2.7 Konzentrierte Salzsäure (Option A und C), $w(\text{HCl}) = 37,0 \%$

4.2.8 NADase aus *Neurospora crassa* (Option B), Enzymaktivität 0,55 U/mg Protein

Unter 0 °C aufbewahren.

ANMERKUNG Beim Ringversuch wurde NADase von *Neurospora crassa* von Sigma Chemicals Nummer N 9629, lyophilisiertes Pulver, 0,5 U/mg bis 3,0 U/mg Protein (Biuret) verwendet¹⁾.

4.2.9 Essigsäure-Lösung, Stoffmengenkonzentration $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 5 \text{ mol/l}$

4.2.10 Natriumacetat-Lösung, $c(\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2) = 2,5 \text{ mol/l}$

4.2.11 Kupfersulfat-Lösung, $c(\text{Cu(II)SO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}) = 0,005 \text{ mol/l}$

4.2.12 Natriumacetat-Lösung (Option B), $c(\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2) = 0,05 \text{ mol/l}$, pH = 4,5

4,10 g Natriumacetat (4.2.1) werden in 900 ml Wasser gelöst. Der pH-Wert der Lösung wird mit Eisessig (4.2.6) auf pH = 4,5 eingestellt und die Lösung dann mit Wasser auf 1 000 ml aufgefüllt.

4.2.13 Phosphatpuffer-Lösung (Option B), $c(\text{K}_2\text{HPO}_4) = 0,05 \text{ mol/l}$ und $c(\text{KH}_2\text{PO}_4) = 0,05 \text{ mol/l}$, pH = 6,8

Ein Volumenteil K_2HPO_4 -Lösung (0,05 mol/l) und ein Volumenteil KH_2PO_4 -Lösung (0,05 mol/l) werden gemischt. Falls erforderlich, wird der pH-Wert mit Natriumacetatlösung (4.2.10) auf pH = 6,8 eingestellt.

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.