

DIN EN 14122

ICS 67.050

Entwurf

Einsprüche bis 2012-06-10
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN 14122:2003-09 und
DIN EN 14122
Berichtigung 1:2006-03

**Lebensmittel –
Bestimmung von Vitamin B1 mit HPLC;
Deutsche Fassung prEN 14122:2012**

Foodstuffs –
Determination of vitamin B1 by HPLC;
German version prEN 14122:2012

Produits alimentaires –
Dosage de la vitamine B1 par CLHP;
Version allemande prEN 14122:2012

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2012-04-10 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfes besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise als Datei per E-Mail an nal@din.de in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/stellungnahme oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder online im Norm-Entwurfs-Portal des DIN unter www.entwuerfe.din.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder in Papierform an den Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN, 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin).

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 22 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 14122:2012) 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.

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 Vergleichspräzision;
- d) Anhang D „Vergleich zwischen Nach- und Vorsäulenderivatisierung“ neu aufgenommen;
- e) Literaturhinweise ergänzt;
- f) Redaktionell überarbeitet.

Lebensmittel — Bestimmung von Vitamin B1 mit HPLC

Produits alimentaires — Dosage de la vitamine B1 par CLHP

Foodstuffs — Determination of vitamin B1 by HPLC

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm

Dokument-Untertyp:

Dokument-Stage: CEN-Umfrage

Dokument-Sprache: D

D:\Dokumente und Einstellungen\glu\Eigene Dateien\Aktuelle Arbeit\14122\EN_14122_(D)_t1 Doc ST Version 2.4e - RC2

Inhalt

Seite

Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Kurzbeschreibung	4
4 Chemikalien	4
5 Geräte	6
6 Durchführung	7
7 Auswertung	9
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) Vergleich zwischen Vor- und Nachsäulenderivatisierung	18
Literaturhinweise	20

Vorwort

Dieses Dokument (prEN 14122:2012) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik - Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN 14122:2003 ersetzen.

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 468 mg/100 g untersucht. Vitamin B₁ ist der Massenanteil an Gesamtthiamin einschließlich der phosphorylierten Derivate.

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 Zwecke — Anforderungen und Prüfungen (ISO 3696:1987)*

3 Kurzbeschreibung

Thiamin wird durch saure Hydrolyse aus Lebensmitteln extrahiert, anschließend enzymatisch dephosphoryliert und quantitativ durch HPLC mit Vor- oder Nachsäulenderivatisierung als Thiochrom bestimmt. 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 **Natriumhydrogenphosphat**, $w(\text{NaH}_2\text{PO}_4) \geq 99,8 \%$
- 4.5 **Salzsäure**, $w(\text{HCl}) = 36 \%$
- 4.6 **Salzsäure**, $c(\text{HCl}) = 0,1 \text{ mol/l}$
- 4.7 **Schwefelsäure**, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,05 \text{ mol/l}$
- 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), $\rho\{K_3[Fe(CN)_6]\} = 0,5 \text{ g/l}$ 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 Anhang D.

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

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

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 dort angegeben.

4.19 Phosphatpuffer (pH-Wert 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, $w(\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{OS} \cdot \text{HCl}) \geq 99 \%$ 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

4.24.1 Thiaminchlorid-Hydrochlorid Stammlösung, $\rho(\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{OS} \cdot \text{HCl}) \approx 0,1 \text{ mg/ml}$ Eine genau eingewogene Menge der Thiaminchlorid-Hydrochlorid-Standardsubstanz (4.24.1), z. B. etwa 10 mg, wird in einem vorgegebenen Volumen, z. B. 100 ml eines geeigneten Lösemittels, wie z. B. Salzsäure (4.6), gelöst. Diese Lösung kann bei + 4 °C vier Wochen aufbewahrt werden.

4.24.2 Thiaminmonophosphat Stammlösung, $\rho(\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{O}_4\text{PS}) \approx 0,1 \text{ mg/ml}$ Eine genau eingewogene Menge von Thiaminmonophosphatchlorid (4.24.2), z. B. etwa 10 mg, wird in einem vorgegebenen Volumen, z. B. 100 ml eines geeigneten Lösemittels, wie z. B. Salzsäure (4.2.6), gelöst. Diese Lösung kann bei –20 °C vier Wochen aufbewahrt werden.

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.