

DIN EN 14164

ICS 67.050

Einsprüche bis 2012-06-10
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN 14164:2008-08

Entwurf

**Lebensmittel –
Bestimmung von Vitamin B6 mit HPLC;
Deutsche Fassung prEN 14164:2012**

Foodstuffs –
Determination of vitamin B6 by HPLC;
German version prEN 14164:2012

Produits alimentaires –
Dosage de la vitamine B6 par CLHP;
Version allemande prEN 14164:2012

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 18 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN 14164:2012) 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 14164:2008-08 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) redaktionell überarbeitet.

Lebensmittel — Bestimmung von Vitamin B6 mit HPLC

Produits alimentaires — Dosage de la vitamine B6 par CLHP

Foodstuffs — Determination of vitamin B6 by HPLC

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokument-Stage: CEN-Umfrage
Dokument-Sprache: D
STD Version 2.4e - RC2

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 (prEN 14164:2012) 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 14164:2008 ersetzen.

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

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) [2] bestimmt den Gesamtgehalt an Vitamin B₆ mikrobiologisch.

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, *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 Probenlösung 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 saure 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 Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produkts durch CEN. Gleichwertige Produkte dürfen verwendet werden, wenn sie nachweisbar zu identischen Ergebnissen führen.