

# E DIN EN 14526:2024-12 (D/E)

Erscheinungsdatum: 2024-11-08

Lebensmittel - Bestimmung von Toxinen der Saxitoxingruppe in Schalentieren - HPLC-Verfahren mit Vorsäulenderivatisierung und Peroxid- oder Periodatoxidation; Deutsche und Englische Fassung prEN 14526:2024

Foodstuffs - Determination of saxitoxin-group toxins in shellfish - HPLC method using pre-column derivatization with peroxide or periodate oxidation; German and English version prEN 14526:2024

---

Inhalt	Seite
Europäisches Vorwort.....	9
Einleitung .....	10
1 Anwendungsbereich.....	11
2 Normative Verweisungen .....	12
3 Begriffe .....	12
4 Kurzbeschreibung.....	12
5 Reagenzien .....	16
6 Gerät.....	20
7 Durchführung .....	22
7.1 Probenvorbereitung.....	22
7.2 Extraktionsverfahren.....	22
7.3 Probenreinigung.....	23
7.3.1 SPE-C18-Reinigung .....	23
7.3.2 SPE-COOH-Reinigung (Fraktionierung) .....	23
7.3.3 Alternative Reinigung durch SPE mit schwachem Kationenaustausch [2], [11].....	24
7.4 Umwandlung von GTX6 in NEO und/oder C3,4 in GTX1,4.....	25
7.4.1 Allgemeines.....	25
7.4.2 Hydrolyse der SPE-COOH-Fraktion 1 oder 2.....	25
7.5 Oxidationsverfahren .....	25
7.5.1 Allgemeines.....	25
7.5.2 Periodatoxidation .....	26
7.5.3 Peroxidoxidation.....	26
8 HPLC-Bestimmung .....	27
9 Kalibriergerade.....	31
10 Identifizierung.....	31
11 Berechnung .....	31
11.1 Allgemeines.....	31
11.2 Toxinberechnung .....	32
11.2.1 Allgemeines.....	32
11.2.2 Berechnungsverfahren mit der Standardkalibrierkurve .....	32
11.3 Berechnung von NEO in der Gegenwart von dcSTX [4], [5].....	33
11.3.1 Allgemeines.....	33
11.3.2 Verfahren 1.....	34
11.3.3 Verfahren 2.....	35
11.3.4 Verfahren 3.....	36
11.4 Berechnung von GTX6 .....	37

11.5	Berechnung von C3,4.....	37
11.6	Berechnung von dcNEO in der Gegenwart von dcSTX.....	37
11.6.1	Allgemeines.....	37
11.6.2	Verfahren 4 .....	38
11.6.3	Verfahren 5 .....	39
11.7	Berechnung von GTX1,4 in der Gegenwart von GTX2,3 und dcGTX2,3 .....	39
11.7.1	Allgemeines.....	39
11.7.2	Verfahren 6 .....	41
11.8	Berechnung von NEO in der Gegenwart von dcSTX, dcNEO und STX (optional).....	42
11.8.1	Allgemeines.....	42
11.8.2	Verfahren 7 .....	43
11.8.3	Verfahren 8 .....	43
11.9	Umwandlung zu STX-2HCl-Äquivalenten .....	44
12	Qualitätskontrolle.....	46
12.1	Allgemeines.....	46
12.2	Annahmekriterien für Analysenreihen .....	46
12.3	Gesamtwiederfindung .....	47
13	Präzision .....	47
14	Untersuchungsbericht.....	47
Anhang A (informativ) Präzisionsdaten.....		48
A.1	Ringversuch, von Health Canada (2001) organisiert .....	48
A.2	Leistungsprüfung für die Gesamtoxität, vom Community Reference Laboratory of Marine Biotoxins (CRLMB) 2006 geleitet.....	50
A.3	Bestimmung von PSP-Toxinen in Schalentieren einschließlich GTX6 nach der Hydrolyse, organisiert vom „Community Reference Laboratory of Marine Biotoxins (CRLMB)4“ 2007.....	51
A.4	Erweiterung der Validierung einschließlich dcGTX2,3 und dcNEO, bereitgestellt von „Community Reference Laboratory of Marine Biotoxins (CRLMB)4“ 2008.....	52
Anhang B (informativ) Chromatogramme.....		80
Literaturhinweise .....		84
<b>Bilder</b>		
Bild 1	— Reaktionsprodukte nach der Derivatisierung mit Peroxid und Periodat (die Peaks für die Quantifizierung sind mit Pfeilen gekennzeichnet).....	16
Bild 2	— Schematische Übersicht zu der Verfahrensweise.....	30
Bild 3	— Chromatogramme, die die Berechnung von NEO in Gegenwart von dcSTX erläutern (die dargestellten Peakverhältnisse sind nur Beispiele) .....	34
Bild 4	— Chromatogramme, die die Berechnung von dcNEO in Gegenwart von dcSTX erläutern .....	38
Bild 5	— Chromatogramme, die die Berechnung von GTX1,4 in der Gegenwart von GTX2,3 und dcGTX2,3 erläutern.....	41
Bild 6	— Chromatogramme, die die Berechnung von NEO in der Gegenwart von dcSTX, dcNEO und STX erläutern .....	43
Bild B.1	— Chromatogramm Mix I (GTX1,4 und NEO) nach Periodatoxidation — 1 µM (siehe Tabelle 3) .....	81

<b>Bild B.2</b> — Chromatogramm Mix II (dcGTX2,3, C1,2, dcSTX, GTX2,3, GTX5 und STX) nach Periodatoxidation — 1 µM (siehe Tabelle 3).....	81
<b>Bild B.3</b> — Chromatogramm Mix III (dcNEO) nach Periodatoxidation — 1 µM (siehe Tabelle 3) .....	82
<b>Bild B.4</b> — Chromatogramm Mix IV (C3,4 und GTX6) nach Periodatoxidation — 1 µM (siehe Tabelle 3) .....	82
<b>Bild B.5</b> — Chromatogramm Alle Toxine (GTX1,4, NEO, dcGTX2,3, C1,2, dcSTX, GTX2,3, GTX5, STX, dcNEO, C3,4 und GTX6) nach Periodatoxidation — 0,25 µM.....	83
<b>Bild B.6</b> — Chromatogramm Mix II (dcGTX2,3, C1,2, dcSTX, GTX2,3, GTX5 und STX) nach Peroxidoxidation — 1 µM (siehe Tabelle 3) .....	83

## **Tabellen**

<b>Tabelle 1</b> — Niedrigste validierte Werte.....	11
<b>Tabelle 2</b> — Reaktionsprodukte nach der Periodat- oder Peroxidoxidation .....	14
<b>Tabelle 3</b> — Beispiele für geeignete Zusammensetzungen und Konzentrationen für jedes PSP-Toxin in vier Stammlösungsgemischen.....	18
<b>Tabelle 4</b> — Vergleich der Fraktionierbedingungen [2], [11] .....	24
<b>Tabelle 5</b> — Empfohlener Gradient der mobilen Phase bei einem Durchfluss von 2 ml/min.....	27
<b>Tabelle 6</b> — Für die verschiedenen Toxinzusammensetzungen anzuwendende Berechnung.....	31
<b>Tabelle 7</b> — Toxizitätsäquivalenzfaktoren (TEF) der PSP-Toxine .....	46
<b>Tabelle 8</b> — Zu überprüfende Kriterien der Verfahrensleistung.....	47
<b>Tabelle A.1</b> — Probeneigenschaften .....	49
<b>Tabelle A.2</b> — Probeneigenschaften aus der Leistungsprüfung.....	51
<b>Tabelle A.3</b> — Probeneigenschaften .....	52
<b>Tabelle A.4</b> — Probeneigenschaften.....	53
<b>Tabelle A.5</b> — Präzisionsdaten für STX nach der SPE-C18-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 .....	54
<b>Tabelle A.6</b> — Präzisionsdaten für STX nach der SPE-COOH-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 .....	55
<b>Tabelle A.7</b> — Präzisionsdaten für NEO nach der SPE-C18-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 .....	56
<b>Tabelle A.8</b> — Präzisionsdaten für NEO nach der SPE-COOH-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 .....	57
<b>Tabelle A.9</b> — Präzisionsdaten für dcSTX nach der SPE-C18-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 .....	59
<b>Tabelle A.10</b> — Präzisionsdaten für dcSTX nach der SPE-COOH-Reinigung aus dem Ringversuch A.1.....	60
<b>Tabelle A.11</b> — Präzisionsdaten für GTX1,4 (zusammen) nach der SPE-C18-Reinigung aus dem Ringversuch A.1.....	61

<b>Tabelle A.12 — Präzisionsdaten für GTX1,4 (zusammen) nach der SPE-COOH-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 .....</b>	<b>62</b>
<b>Tabelle A.13 — Präzisionsdaten für GTX2,3 (zusammen) nach der SPE-C18-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 .....</b>	<b>63</b>
<b>Tabelle A.14 — Präzisionsdaten für GTX2,3 (zusammen) nach der SPE-COOH-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 .....</b>	<b>64</b>
<b>Tabelle A.15 — Präzisionsdaten für GTX5 nach der SPE-C18-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 ....</b>	<b>65</b>
<b>Tabelle A.16 — Präzisionsdaten für GTX5 nach der SPE-COOH-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 .....</b>	<b>66</b>
<b>Tabelle A.17 — Präzisionsdaten für C1,2 (zusammen) nach der SPE-C18-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 .....</b>	<b>67</b>
<b>Tabelle A.18 — Präzisionsdaten für C1,2 (zusammen) nach der SPE-COOH-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 .....</b>	<b>69</b>
<b>Tabelle A.19 — Präzisionsdaten für C3,4 (zusammen) nach der SPE-COOH-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 .....</b>	<b>70</b>
<b>Tabelle A.20 — Präzisionsdaten für Parallelblindwertproben nach der SPE-C18-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 .....</b>	<b>71</b>
<b>Tabelle A.21 — Präzisionsdaten für Parallelblindwertproben nach der SPE-COOH-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 .....</b>	<b>72</b>
<b>Tabelle A.22 — Präzisionsdaten für die Gesamtoxizität aus der Leistungsprüfung A.2 .....</b>	<b>73</b>
<b>Tabelle A.23 — Präzisionsdaten für die Gesamtoxizität für die Parallelblindwertproben aus der Leistungsprüfung A.2 .....</b>	<b>73</b>
<b>Tabelle A.24 — Präzisionsdaten für dcGTX2,3 aus dem Ringversuch A.3 und A.4.....</b>	<b>74</b>
<b>Tabelle A.25 — Präzisionsdaten für C1,2 aus dem Ringversuch A.3 und A.4.....</b>	<b>75</b>
<b>Tabelle A.26 — Präzisionsdaten für dcSTX aus dem Ringversuch A.3 und A.4 .....</b>	<b>75</b>
<b>Tabelle A.27 — Präzisionsdaten für GTX5 aus dem Ringversuch A.3 und A.4.....</b>	<b>76</b>
<b>Tabelle A.28 — Präzisionsdaten für dcNEO aus dem Ringversuch A.4.....</b>	<b>76</b>
<b>Tabelle A.29 — Präzisionsdaten für GTX6 aus dem Ringversuch A.3 und A.4.....</b>	<b>77</b>
<b>Tabelle A.30 — Präzisionsdaten für die Gesamtoxizität aus dem Ringversuch A.3 und A.4 .....</b>	<b>77</b>
<b>Tabelle A.31 — Präzisionsdaten für die Parallelblindwertprobe aus dem Ringversuch A.4.....</b>	<b>79</b>