DIN EN 14526:2026-06 (D)

Lebensmittel - Bestimmung von Toxinen der Saxitoxingruppe in Schalentieren - HPLC-Verfahren mit Vorsäulenderivatisierung und Peroxid- oder Periodatoxidation; Deutsche Fassung EN 14526:2026

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort ... 8
Einleitung ... 9
1 Anwendungsbereich ... 10
2 Normative Verweisungen ... 11
3 Begriffe ... 11
4 Kurzbeschreibung ... 11
5 Reagenzien ... 15
6 Geräte ... 19
7 Durchführung ... 21
7.1 Probenvorbereitung ... 21
7.2 Extraktionsverfahren ... 21
7.3 Probenreinigung ... 22
7.3.1 SPE-C18-Reinigung ... 22
7.3.2 SPE-COOH-Reinigung (Fraktionierung) ... 22
7.3.3 Alternative Reinigung durch SPE mit schwachem Kationenaustauscher [2] [11] ... 23
7.4 Umwandlung von GTX6 in NEO und/oder C3,4 in GTX1,4 ... 24
7.4.1 Allgemeines ... 24
7.4.2 Hydrolyse der SPE-COOH-Fraktion 1 oder 2 ... 24
7.5 Oxidationsverfahren ... 25
7.5.1 Allgemeines ... 25
7.5.2 Periodatoxidation ... 25
7.5.3 Peroxidoxidation ... 26
8 HPLC-Bestimmung ... 26
9 Kalibrierkurve ... 29
10 Identifizierung ... 29
11 Berechnung ... 29
11.1 Allgemeines ... 29
11.2 Berechnungsverfahren mit der Standardkalibrierkurve ... 30
11.3 Berechnung von GTX1,4 in der Gegenwart von GTX2,3 und dcGTX2,3 ... 31
11.3.1 Allgemeines ... 31
11.3.2 Verfahren 1 ... 32
11.4 Berechnung von NEO in der Gegenwart von dcSTX ... 33
11.4.1 Allgemeines ... 33
11.4.2 Verfahren 2 ... 34
11.5 Berechnung von NEO in der Gegenwart von dcSTX, dcNEO und STX ... 35
11.5.1 Allgemeines ... 35
11.5.2 Verfahren 3 ... 36
11.6 Berechnung von dcNEO in der Gegenwart von dcSTX ... 37
11.6.1 Allgemeines ... 37
11.6.2 Verfahren 4 ... 38

11.7 Berechnung von C3,4 ... 39
11.8 Berechnung von GTX6 ... 39
11.9 Umwandlung zu STX-2HCl-Äquivalenten ... 39

12 Qualitätskontrolle ... 40
12.1 Allgemeines ... 40
12.2 Annahmekriterien für Analysenreihen ... 40
12.3 Gesamtwiederfindung ... 41

13 Verifizierung ... 41

14 Untersuchungsbericht ... 42

Anhang A (informativ) Präzisionsdaten ... 43
A.1 Ringversuch, von Health Canada (2001) organisiert ... 43
A.2 Leistungsprüfung für die Gesamttoxizität, vom Community Reference Laboratory of Marine Biotoxins (CRLMB) 2006 organisiert ... 45
A.3 Bestimmung von PSP-Toxinen in Schalentieren einschließlich GTX6 nach der Hydrolyse, organisiert vom Community Reference Laboratory of Marine Biotoxins (CRLMB)[8] 2007 ... 46
A.4 Erweiterung der Validierung einschließlich dcGTX2,3 und dcNEO, organisiert von Community Reference Laboratory of Marine Biotoxins (CRLMB)[8] 2008 ... 47

Anhang B (informativ) Chromatogramme ... 74

Anhang C (normativ) Alternative Berechnungsverfahren ... 78
C.1 Allgemeines ... 78
C.2 Berechnung von GTX1,4 in der Gegenwart von GTX2,3 und dcGTX2,3 ... 78
C.3 Berechnung von NEO in der Gegenwart von dcSTX ... 82
C.4 Berechnung von NEO in der Gegenwart von dcSTX, dcNEO und STX ... 85
C.5 Berechnung von dcNEO in der Gegenwart von dcSTX ... 86

Literaturhinweise ... 88

Bilder

Bild 1 — Reaktionsprodukte nach der Derivatisierung mit Peroxid und Periodat (die Peaks für die Quantifizierung sind mit Pfeilen gekennzeichnet) ... 14

Bild 2 — Schematische Übersicht zu der Verfahrensweise ... 28

Bild 3 — Chromatogramme, die die Berechnung von GTX1,4 in der Gegenwart von GTX2,3 und dcGTX2,3 erläutern ... 32

Bild 4 — Chromatogramme, die die Berechnung von NEO in Gegenwart von dcSTX erläutern ... 34

Bild 5 — Chromatogramme, die die Berechnung von NEO in der Gegenwart von dcSTX, dcNEO und STX erläutern ... 36

Bild 6 — Chromatogramme, die die Berechnung von dcNEO in Gegenwart von dcSTX erläutern ... 38

Bild B.1 — Chromatogramm Mix 1 (GTX1,4 und NEO) nach Periodatoxidation — 1 µM (siehe Tabelle 3) ... 75

Bild B.2 — Chromatogramm Mix 2 (dcGTX2,3, C1,2, dcSTX, GTX2,3, GTX5 und STX) nach Periodatoxidation — 1 µM (siehe Tabelle 3) ... 75

Bild B.3 — Chromatogramm Mix 3 (dcNEO) nach Periodatoxidation — 1 µM (siehe Tabelle 3) ... 76

Bild B.4 — Chromatogramm Mix 4 (C3,4 und GTX6) nach Periodatoxidation — 1 µM (siehe Tabelle 3) ... 76

Bild B.5 — 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 77

Bild B.6 — Chromatogramm Mix 2 (dcGTX2,3, C1,2, dcSTX, GTX2,3, GTX5 und STX) nach Peroxidoxidation — 1 µM (siehe Tabelle 3) 77

Tabellen

Tabelle 1 — Niedrigste validierte Werte 10

Tabelle 2 — Reaktionsprodukte nach der Periodat- oder Peroxidoxidation 12

Tabelle 3 — Beispiel für geeignete Zusammensetzungen und Konzentrationen für jedes PSP-Toxin in vier Stammlösungsgemischen 17

Tabelle 4 — Vergleich der Fraktionierbedingungen 24

Tabelle 5 — Empfohlener Gradient der mobilen Phase bei einem Durchfluss von 2 ml/min 27

Tabelle 6 — Für die verschiedenen Toxinzusammensetzungen anzuwendende Berechnung 29

Tabelle 7 — Toxizitätsäquivalenzfaktoren (TEF) der PSP-Toxine 40

Tabelle 8 — Kriterien der Verfahrensleistung für die Analysenserie 41

Tabelle 9 — Zu überprüfende Kriterien der Verfahrensleistung 41

Tabelle A.1 — Probeneigenschaften 44

Tabelle A.2 — Probeneigenschaften aus der Leistungsprüfung 46

Tabelle A.3 — Probeneigenschaften 47

Tabelle A.4 — Probeneigenschaften 48

Tabelle A.5 — Präzisionsdaten für STX nach der SPE-C18-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 49

Tabelle A.6 — Präzisionsdaten für STX nach der SPE-COOH-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 50

Tabelle A.7 — Präzisionsdaten für NEO nach der SPE-C18-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 51

Tabelle A.8 — Präzisionsdaten für NEO nach der SPE-COOH-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 52

Tabelle A.9 — Präzisionsdaten für dcSTX nach der SPE-C18-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 53

Tabelle A.10 — Präzisionsdaten für dcSTX nach der SPE-COOH-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 54

Tabelle A.11 — Präzisionsdaten für GTX1,4 (zusammen) nach der SPE-C18-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 55

Tabelle A.12 — Präzisionsdaten für GTX1,4 (zusammen) nach der SPE-COOH-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 56

Tabelle A.13 — Präzisionsdaten für GTX2,3 (zusammen) nach der SPE-C18-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 57

Tabelle A.14 — Präzisionsdaten für GTX2,3 (zusammen) nach der SPE-COOH-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 58

Tabelle A.15 — Präzisionsdaten für GTX5 nach der SPE-C18-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 59

Tabelle A.16 — Präzisionsdaten für GTX5 nach der SPE-COOH-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 60

Tabelle A.17 — Präzisionsdaten für C1,2 (zusammen) nach der SPE-C18-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 61

Tabelle A.18 — Präzisionsdaten für C1,2 (zusammen) nach der SPE-COOH-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 62

Tabelle A.19 — Präzisionsdaten für C3,4 (zusammen) nach der SPE-COOH-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 63

Tabelle A.20 — Präzisionsdaten für Parallelblindwertproben nach der SPE-C18-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 64

Tabelle A.21 — Präzisionsdaten für Parallelblindwertproben nach der SPE-COOH-Reinigung aus dem Ringversuch A.1 65

Tabelle A.22 — Präzisionsdaten für die Gesamttoxizität aus der Leistungsprüfung A.2 66

Tabelle A.23 — Präzisionsdaten für die Gesamttoxizität für die Parallelblindwertproben aus der Leistungsprüfung A.2 67

Tabelle A.24 — Präzisionsdaten für dcGTX2,3 aus dem Ringversuch A.3 und A.4 68

Tabelle A.25 — Präzisionsdaten für C1,2 aus dem Ringversuch A.3 und A.4 69

Tabelle A.26 — Präzisionsdaten für dcSTX aus dem Ringversuch A.3 und A.4 70

Tabelle A.27 — Präzisionsdaten für GTX5 aus dem Ringversuch A.3 und A.4 71

Tabelle A.28 — Präzisionsdaten für dcNEO aus dem Ringversuch A.4 71

Tabelle A.29 — Präzisionsdaten für GTX6 aus dem Ringversuch A.3 und A.4 72

Tabelle A.30 — Präzisionsdaten für die Gesamttoxizität aus dem Ringversuch A.3 und A.4 72

Tabelle A.31 — Präzisionsdaten für die Parallelblindwertprobe aus dem Ringversuch A.4 73