

Bestimmung der Laktoperoxidase-Aktivität in Milch

Teil 1: Photometrisches Verfahren (Referenzverfahren)

DIN**10483-1**

ICS 67.100.10

Determination of lactoperoxidase activity in milk —
Part 1: Photometric method (reference method)

Détermination de l'activité de la lactoperoxidase dans le lait —
Partie 1: Méthode photométrique (Méthode de référence)

Vorwort

Diese Norm wurde vom Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL), Arbeitsausschuss „Chemische und physikalische Milchuntersuchung“, erarbeitet.

DIN 10483 „Bestimmung der Laktoperoxidase-Aktivität in Milch“ besteht aus:

- Teil 1: Photometrisches Verfahren (Referenzverfahren)
- Teil 2: Reflektometrisches Verfahren

Fortsetzung Seite 2 bis 8

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)
im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.

**Documents**

Document Sharing Hub

1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt ein photometrisches Verfahren als Referenzverfahren zur Ermittlung der Aktivität der Laktoperoxidase in Milch bei Werten im Messbereich über 50 U/l fest.

Das Verfahren ist zur Kalibrierung des in Teil 2 dieser Norm beschriebenen reflektometrischen Verfahrens anzuwenden.

Das Verfahren gilt für Rohmilch, Konsummilch und rekonstituierte Milch.

2 Normative Verweisungen

Diese Norm enthält durch datierte oder undatierte Verweisungen Festlegungen aus anderen Publikationen. Diese normativen Verweisungen sind an den jeweiligen Stellen im Text zitiert, und die Publikationen sind nachstehend aufgeführt. Bei datierten Verweisungen gehören spätere Änderungen oder Überarbeitungen dieser Publikationen nur zu dieser Norm, falls sie durch Änderung oder Überarbeitung eingearbeitet sind. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe der in Bezug genommenen Publikation (einschließlich Änderungen).

DIN 10483-2:2002-08, *Bestimmung der Laktoperoxidase-Aktivität in Milch — Teil 2: Reflektometrisches Verfahren*.

DIN EN ISO 707, *Milch und Milchprodukte — Leitfaden zur Probenahme (ISO 707:1997); Deutsche Fassung EN ISO 707:1997*.

3 Begriffe

Für die Anwendung dieser Norm gilt der folgende Begriff.

3.1

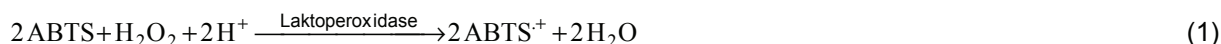
Laktoperoxidase-Aktivität

die nach dem in dieser Norm beschriebenen Verfahren bestimmte Enzymaktivität

ANMERKUNG Die Laktoperoxidase-Aktivität wird in Units je Liter angegeben, wobei 1 U die Enzymmenge ist, die unter standardisierten Bedingungen (hier: pH-Wert 6,0; 25 °C) eine Substratmenge von 1 µmol je min umsetzt.

4 Kurzbeschreibung

Die Milch wird mit Wasser verdünnt. Mit Hilfe der photometrischen Analyse wird der durch die katalytische Einwirkung von Laktoperoxidase resultierende Umsatz von 2,2'-Azino-di-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure) (ABTS) je Zeiteinheit bestimmt, wobei folgende Reaktion abläuft:



Die je Zeiteinheit freigesetzte Menge an ABTS-Radikalkation (ABTS^+) ist der Laktoperoxidase-Aktivität proportional und kann auf Grund der grünen Farbe bei einer Wellenlänge von 420 nm photometrisch gemessen werden.

5 Chemikalien

5.1 Allgemeines

Es sind analysenreine Chemikalien zu verwenden. Das verwendete Wasser muss bidestilliert oder mindestens von entsprechender Reinheit sein.

5.2 Pufferlösung, pH = 6,0

0,72 g (8,09 mmol/l) Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat und 3,99 g (58,6 mmol/l) Kaliumdihydrogenphosphat werden zusammen in einem 500-ml-Messkolben (6.5) mit Wasser gelöst und dann bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt.

Der pH-Wert der Pufferlösung darf maximal um $\pm 0,03$ Einheiten von 6,0 abweichen. Falls die Kontrolle des pH-Wertes höhere Abweichungen ergibt, müssen die Puffersalze zunächst in einem geringeren Volumen von etwa 450 ml gelöst und, falls erforderlich, die Lösung mit einer verdünnten Säure bzw. Lauge auf den pH-Wert von 6,0 eingestellt werden. Die eingestellte Lösung wird in einen 500-ml-Messkolben (6.5) übergeführt und bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt.

5.3 Wasserstoffperoxidlösung

WARNUNG — Wasserstoffperoxid verursacht Ätzungen und darf nicht mit Metallen oder leicht entzündlichen organischen Stoffen zusammengebracht werden, damit keine explosionsgefährlichen Mischungen entstehen

0,1 ml Wasserstoffperoxid, $w(\text{H}_2\text{O}_2) = 30\%^{1)}$, wird in einen 100-ml-Messkolben (6.5) pipettiert und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt.

Die Lösung muss unmittelbar weiterverarbeitet werden (siehe 5.4).

5.4 Reagenzlösung, $c(\text{ABTS-Diammoniumsalz}; \text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_6\text{S}_4(\text{NH}_4)_2) = 2 \text{ mmol/l}^{2)}$

55 mg 2,2'-Azino-di-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure)-Diammoniumsalz werden in einen 50-ml-Messkolben (6.5) eingewogen und in etwa 30 ml der Pufferlösung (5.2) gelöst. Anschließend wird 1,0 ml (etwa 0,2 mmol/l) der Wasserstoffperoxidlösung (5.3) zugegeben und mit der Pufferlösung bis zur Marke aufgefüllt.

Die Reagenzlösung muss arbeitstäglich frisch angesetzt werden.

6 Geräte

Übliche Laborgeräte sowie:

6.1 Spektralphotometer, zur Messung der Extinktion bei 420 nm, ausgestattet mit einem temperierbaren Küvettenhalter.

6.2 Plastikküvetten mit Deckel, Schichtdicke 1,0 cm.

ANMERKUNG Die Verwendung von Glas- bzw. Quarzküvetten kann bedingt durch Adsorptionseffekte zu leichten Minderbefunden führen.

1) w ist der Massenanteil.

2) c ist die Stoffmengenkonzentration.