

# Bestimmung der Alkalischen Phosphatase-Aktivität in Milch

## Enzymatisches Verfahren

# DIN

## 10 337

Determination of alkaline phosphatase activity in milk;  
enzymatic method

Ersatz für  
DIN 10 337 T1/06.77

Détermination de l'activité alcalin phosphatasique dans lait;  
méthode enzymatique

© DIN Deutsches Institut für Normung e.V. · Jede Art der Vervielfältigung, auch auszugsweise, nur mit Genehmigung des DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin, gestattet.

### 1 Zweck und Anwendungsbereich

Diese Norm legt ein enzymatisches Verfahren zur Ermittlung der Aktivität der Alkalischen Phosphatase in Milch fest. Es ist für Rohmilch, Konsummilch und rekonstituierte Milch anwendbar.

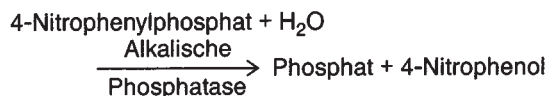
### 2 Begriff

Alkalische Phosphatase-Aktivität

Unter der Alkalischen Phosphatase-Aktivität wird die nach dem in dieser Norm beschriebenen Verfahren bestimmte Enzymaktivität, angegeben in  $U/l^1$ ), verstanden.

### 3 Kurzbeschreibung des Verfahrens

Die Milch wird mit Wasser verdünnt. Der verdünnten Milch wird 4-Nitrophenylphosphat zugesetzt. Das in der Milch enthaltene Enzym Alkalische Phosphatase hydrolysiert 4-Nitrophenylphosphat, wobei 4-Nitrophenol nach folgender Reaktion entsteht:



Die je Zeiteinheit freigesetzte Menge an 4-Nitrophenol ist der Phosphatase-Aktivität proportional und kann aufgrund ihrer gelben Farbe bei einer Wellenlänge von 405 nm photometrisch gemessen werden.

### 4 Chemikalien

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

#### 4.1 Pufferlösung, pH = 10,2

6,30 g Diethanolamin,  $w = 85\%^2$ ), werden mit 40 ml Wasser verdünnt und mit der Salzsäure-Lösung nach Abschnitt 4.3 auf einen pH-Wert von 10,2 eingestellt. 5,18 mg  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  werden hinzugefügt und gelöst, der pH-Wert wird erneut gemessen und, falls erforderlich, auf 10,2 nachgestellt. Die Lösung wird auf 50 ml aufgefüllt und gemischt.

#### 4.2 4-Nitrophenylphosphat-Lösung

94,3 mg 4-Nitrophenylphosphat Dinatriumsalz-Hexahydrat werden in 50 ml der Pufferlösung nach Abschnitt 4.1 gelöst. Die Lösung ist bei Lagerung bei etwa 4°C 1 Woche haltbar.

#### 4.3 Salzsäure-Lösung, $w = 32\%^2$ )

#### 4.4 Detergenz-Lösung, $w = 20\%^2$ )

20 g Iso tridecanol-Polyethylenglykol (8)<sup>3</sup>) werden in Wasser gelöst und auf 100 ml aufgefüllt.

### 5 Geräte und Hilfsmittel

#### 5.1 Enzymtest-Meßpipetten,

Klasse AS, auf teilweisen Ablauf justiert, nach DIN 12 699, Nennvolumen 0,2 ml und 3 ml

#### 5.2 Kolbenhubpipetten, Nennvolumen 1 ml

#### 5.3 Meßküvetten aus Glas oder Kunststoff, Schichtdicke 10 mm

<sup>1</sup>) Die Enzymaktivität wird in dieser Norm in Internationalen Einheiten ( $U$ ) angegeben. 1  $U$  ist die Enzymaktivität, die unter festgelegten Bedingungen bei einer Temperatur von 25°C (hier: von 37°C) unter optimalen Bedingungen eine Substratmenge von 1  $\mu\text{mol}$  je min umsetzt.

<sup>2</sup>) Massenanteil

<sup>3</sup>) Geeignete Produkte sind im Handel erhältlich. Auskunft über Bezugsquellen erteilt der Normenausschuß Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Burggrafenstraße 6, 10787 Berlin; Postanschrift 10772 Berlin.

Fortsetzung Seite 2 und 3

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