

DIN EN ISO 13903

ICS 65.120

**Futtermittel –
Bestimmung des Aminosäuregehalts (ISO 13903:2005);
Deutsche Fassung EN ISO 13903:2005**

Animal feeding stuffs –
Determination of amino acids content (ISO 13903:2005);
German version EN ISO 13903:2005

Aliments des animaux –
Détermination de la teneur en acides aminés (ISO 13903:2005);
Version allemande EN ISO 13903:2005

Gesamtumfang 23 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Diese Europäische Norm fällt in den Zuständigkeitsbereich des Technischen Komitees CEN/TC 327 „Futtermittel — Probenahmeverfahren und Untersuchungsverfahren“ (Sekretariat: Niederlande). Die der Norm zu Grunde liegende internationale Norm ISO 13903:2005 ist im ISO/TC 34/SC 10 „Futtermittel“ (Sekretariat: Niederlande) erarbeitet worden. Auf Beschluss des CEN/TC 327 wurde ISO 13904 im parallelen Abstimmungsverfahren als Europäische Norm angenommen.

Eine Mitarbeit des DIN im CEN/TC 327 erfolgt derzeit nicht, da von Seiten der betroffenen Wirtschaftskreise kein Interesse an diesen Normungsarbeiten bekundet wird. Thematisch zuständig ist der Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Texte dieses Dokuments Patentrechte berühren können, ohne dass diese vorstehend identifiziert wurden. Das DIN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Deutsche Fassung

Futtermittel —
Bestimmung des Aminosäuregehalts
(ISO 13903:2005)

Animal feeding stuffs —
Determination of amino acids content
(ISO 13903:2005)

Aliments des animaux —
Détermination de la teneur en acides aminés
(ISO 13903:2005)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 19. April 2005 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Schweden, der Schweiz, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

Management-Zentrum: rue de Stassart, 36 B-1050 Brüssel

Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 13903:2005) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 327 „Futtermittel — Probenahmeverfahren und Untersuchungsverfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom NEN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis November 2005, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis November 2005 zurückgezogen werden.

Entsprechend der CEN/CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Schweden, Schweiz, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 13903:2005 wurde vom CEN als EN ISO 13903:2005 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Grundlage von ISO 13903 ist die Richtlinie 98/64/EG der Kommission vom September 1998 [1].

Inhalt

	Seite
Vorwort	2
1 Anwendungsbereich	4
2 Kurzbeschreibung	4
3 Reagenzien und Materialien	5
4 Geräte	7
5 Durchführung.....	7
6 Auswertung.....	10
7 Präzision.....	11
8 Verwendung von Referenzmaterialien	12
9 Bemerkungen zum Verfahren	12
Anhang A (informativ) Ergebnisse von Ringversuchen	13
Anhang B (informativ) Beispiele von Chromatogrammen.....	19
Literaturhinweise.....	21

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm beschreibt die Bestimmung der freien (synthetischen und natürlichen) Aminosäuren und der Gesamtaminosäuren (peptidgebundene und freie) in Futtermitteln unter Verwendung eines Aminosäureanalysators oder einer HPLC-Anlage. Sie gilt für folgende Aminosäuren:

- Summe von Cystin und Cystein;
- Methionin;
- Lysin;
- Threonin;
- Alanin;
- Arginin;
- Asparaginsäure;
- Glutaminsäure;
- Glycin;
- Histidin;
- Isoleucin;
- Leucin;
- Phenylalanin;
- Prolin;
- Serin;
- Tyrosin;
- Valin.

Das Verfahren unterscheidet nicht zwischen Aminosäuresalzen und auch nicht zwischen D- und L-Formen von Aminosäuren. Es gilt nicht für die Bestimmung von Tryptophan oder hydroxylhaltigen Analogen von Aminosäuren.

Die Grenzen der quantitativen Bestimmung hängen von der chromatographischen Einrichtung ab, jedoch so geringe Gehalte wie 0,3 g/kg Gesamtlysin, 0,25 g/kg Gesamtmethionin, 0,35 g/kg Gesamtcystin plus -cystein, 0,2 g/kg Gesamtthreonin, 0,035 g/kg freies Lysin, 0,035 g/kg freies Methionin und 0,03 g/kg freies Threonin können gewöhnlich analysiert werden.

ANMERKUNG Es könnte eine noch niedrigere Bestimmungs- oder Nachweisgrenze erreichbar sein, aber das ist von den Anwendern zu bestätigen.

2 Kurzbeschreibung

2.1 Freie Aminosäuren

Die freien Aminosäuren werden mit verdünnter Salzsäure extrahiert. Mitextrahierte stickstoffhaltige Makromoleküle werden mit Sulfosalicylsäure ausgefällt und durch Filtration entfernt. Die abfiltrierte Lösung wird auf einen pH-Wert von 2,20 eingestellt. Die Aminosäuren werden durch Ionenaustauschchromatographie getrennt und nach der Reaktion mit Ninhydrin bei einer Wellenlänge von 570 nm photometrisch nachgewiesen.

2.2 Gesamtaminosäuren

Das zu wählende Verfahren hängt von den zu untersuchenden Aminosäuren ab. Cystin/Cystein und Methionin müssen vor der Hydrolyse zu Cysteinsäure bzw. Methioninsulfon oxidiert werden. Tyrosin muss in Hydrolysaten von nicht oxidierten Proben bestimmt werden. Alle anderen in Abschnitt 1 aufgeführten Aminosäuren können entweder in der oxidierten oder nicht oxidierten Probe bestimmt werden.

Die Oxidation erfolgt bei 0 °C mit einem Gemisch von Perameisensäure und Phenol. Überschüssiges Oxidationsreagenz wird durch Natriumdisulfit zersetzt. Die oxidierte oder nicht oxidierte Probe wird 23 h mit Salzsäure ($c = 6 \text{ mol/l}$) hydrolysiert. Das Hydrolysat wird auf einen pH-Wert von 2,20 eingestellt. Die Aminosäuren werden durch Ionenaustauschchromatographie getrennt und nach der Reaktion mit Ninhydrin bei einer Wellenlänge von 570 nm (bei Prolin 440 nm) photometrisch nachgewiesen.

3 Reagenzien und Materialien

Es sind nur Reagenzien von anerkanntem Analysengrad, falls nicht anders festgelegt, zu verwenden.

3.1 Wasser, doppelt destilliertes Wasser oder Wasser von gleichwertiger Reinheit (Leitfähigkeit $< 10 \text{ } \mu\text{S}$).

3.2 Wasserstoffperoxid, $w = 30 \text{ } \%$.

3.3 Ameisensäure, $w = 98 \text{ } \%$ bis $100 \text{ } \%$.

3.4 Salzsäure, Dichte etwa $1,19 \text{ g/ml}$.

3.5 2,2'-Thiodiethanol (Thiodiglycol).

3.6 Leichtbenzin, Siedebereich $40 \text{ } ^\circ\text{C}$ bis $60 \text{ } ^\circ\text{C}$.

3.7 Norleucin oder eine andere als innerer Standard geeignete Verbindung.

3.8 Stickstoffgas [Sauerstoffgehalt $< 1 \text{ ppm}$ (parts per million)].

3.9 Aminosäuren.

3.9.1 Die in Abschnitt 1 aufgeführten Substanzen.

Zu verwenden sind nur Reinverbindungen ohne Kristallwasser. Sie sind vor der Verwendung eine Woche unter Vakuum über P_2O_5 oder H_2SO_4 zu trocknen.

3.9.2 Cysteinsäure.

3.9.3 Methioninsulfon.

3.10 Natriumhydroxidlösung I, $c = 7,5 \text{ mol/l}$.

300 g NaOH sind in Wasser (3.1) zu lösen und es ist auf 1 l aufzufüllen.

3.11 Natriumhydroxidlösung II, $c = 1 \text{ mol/l}$.

40 g NaOH sind in Wasser (3.1) zu lösen und es ist auf 1 l aufzufüllen.

3.12 Ameisensäure-Phenol-Lösung.

889 g Ameisensäure (3.3) sind mit 111 g Wasser (3.1) zu mischen und 4,73 g Phenol sind zuzugeben.

3.13 Hydrolysegemisch, $c = 6 \text{ mol/l HCl}$, mit 1 g Phenol je Liter.

Zu 492 ml HCl (3.4) ist 1 g Phenol zuzugeben und es ist mit Wasser (3.1) auf 1 l aufzufüllen.