

## DIN EN ISO 6647-1



ICS 67.060

**Entwurf**

Einsprüche bis 2019-12-04  
Vorgesehen als Ersatz für  
DIN EN ISO 6647-1:2015-09

**Reis –  
Bestimmung des Amylosegehalts –  
Teil 1: Referenzmethode: Spektrophotometrische Methode mit  
Entfettungsverfahren durch Methanol und mit Kalibrierlösungen von  
Kartoffelamylose und wachsartigem Reisamylopektin  
(ISO/DIS 6647-1:2019);  
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 6647-1:2019**

Rice –  
Determination of amylose content –  
Part 1: Reference method: Spectrophotometric method with a defatting procedure by  
methanol and with calibration solutions of potato amylose and waxy rice amylopectin  
(ISO/DIS 6647-1:2019);  
German and English version prEN ISO 6647-1:2019

**Anwendungswarnvermerk**

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2019-10-04 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und  
Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs  
besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter [www.din.de/go/entwuerfe](http://www.din.de/go/entwuerfe) bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter [www.entwuerfe.normenbibliothek.de](http://www.entwuerfe.normenbibliothek.de), sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an [nal@din.de](mailto:nal@din.de) möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter [www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe](http://www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe) oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter [www.dke.de/stellungnahme](http://www.dke.de/stellungnahme) abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL), 10772 Berlin, Saatwinkler Damm 42/43, 13627 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten  
Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 34 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

## **Nationales Vorwort**

Dieses Dokument (prEN ISO 6647-1:2019) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 338 „Getreide und Getreideerzeugnisse“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR (Frankreich) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-05-06 AA „Getreide und Getreideerzeugnisse sowie Stärke auch aus anderen Rohstoffen“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Für die in diesem Dokument zitierten internationalen Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

|                 |       |                          |
|-----------------|-------|--------------------------|
| ISO 712         | siehe | DIN EN ISO 712           |
| ISO 5725-1:1994 | siehe | DIN ISO 5725-1:1997-11   |
| ISO 5725-2:1994 | siehe | DIN ISO 5725-2:2002-12   |
| ISO 15914       | siehe | DIN EN ISO 15914         |
| ISO 24333:2009  | siehe | DIN EN ISO 24333:2010-04 |

## **Änderungen**

Gegenüber DIN EN ISO 6647-1:2015-09 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) als Ersatz für die Größenausschlusschromatographie wurde ein spektrophotometrisches Verfahren mit einem Entfettungsverfahren durch Methanol und mit Kalibrierlösungen von Kartoffelamylose und wachsartigem Reisamylopektin eingesetzt;
- b) Norm redaktionell überarbeitet.

## Nationaler Anhang NA (informativ)

### Literaturhinweise

DIN EN ISO 712, *Getreide und Getreideerzeugnisse — Bestimmung des Feuchtegehaltes — Referenzverfahren*

DIN EN ISO 15914, *Futtermittel — Enzymatische Bestimmung von Stärke*

DIN EN ISO 24333:2010-04, *Getreide und Getreideerzeugnisse — Probenahme (ISO 24333:2009); Deutsche Fassung EN ISO 24333:2009*

DIN ISO 5725-1:1997-11, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Meßverfahren und Meßergebnissen — Teil 1: Allgemeine Grundlagen und Begriffe (ISO 5725-1:1994)*

DIN ISO 5725-2:2002-12, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für die Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens (ISO 5725-2:1994 einschließlich Technisches Korrigendum 1:2002)*

— Leerseite —

**Reis — Bestimmung des Amylosegehalts — Teil 1: Referenzmethode:  
Spektrophotometrische Methode mit Entfettungsverfahren durch Methanol  
und mit Kalibrierlösungen von Kartoffelamylose und wachsartigem  
Reisamylopektin (ISO/DIS 6647-1:2019)**

*Rice — Determination of amylose content — Part 1: Reference method: Spectrophotometric method with a defatting procedure by methanol and with calibration solutions of potato amylose and waxy rice amylopectin (ISO/DIS 6647-1:2019)*

ICS:

Deskriptoren:

Dokument-Typ: Europäische Norm  
Dokument-Untertyp:  
Dokumentstufe: parallele Umfrage  
Dokumentsprache: D

## Inhalt

|                                                                                                           | Seite |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Europäisches Vorwort .....                                                                                | 3     |
| Vorwort .....                                                                                             | 4     |
| 1 Anwendungsbereich .....                                                                                 | 5     |
| 2 Normative Verweisungen .....                                                                            | 5     |
| 3 Begriffe .....                                                                                          | 5     |
| 4 Kurzbeschreibung .....                                                                                  | 6     |
| 5 Reagenzien .....                                                                                        | 6     |
| 6 Prüfeinrichtung .....                                                                                   | 7     |
| 7 Probenahme .....                                                                                        | 8     |
| 8 Durchführung .....                                                                                      | 8     |
| 8.1 Herstellung der Untersuchungsprobe .....                                                              | 8     |
| 8.2 Einwaage und Herstellung der Prüflösung .....                                                         | 8     |
| 8.3 Herstellung der Blindwertlösung .....                                                                 | 8     |
| 8.4 Erstellung der Kalibrierkurve .....                                                                   | 9     |
| 8.4.1 Herstellung der Reihe der Kalibrierlösungen .....                                                   | 9     |
| 8.4.2 Farbentwicklung und spektralphotometrische Messungen .....                                          | 9     |
| 8.4.3 Zeichnen der Kalibrierkurve .....                                                                   | 9     |
| 8.5 Bestimmung .....                                                                                      | 9     |
| 9 Angabe der Ergebnisse .....                                                                             | 10    |
| 10 Präzision .....                                                                                        | 10    |
| 10.1 Ringversuch .....                                                                                    | 10    |
| 10.2 Wiederholpräzision .....                                                                             | 10    |
| 10.3 Vergleichpräzision .....                                                                             | 10    |
| 11 Prüfbericht .....                                                                                      | 10    |
| Anhang A (informativ) Bestimmung der Qualität der Kartoffelamylose Stammsuspension .....                  | 11    |
| A.1 Allgemeines .....                                                                                     | 11    |
| A.2 Bestimmung der Fähigkeit, Iod zu binden .....                                                         | 11    |
| A.2.1 Prüfeinrichtung .....                                                                               | 11    |
| A.3 Spektralphotometrische Bestimmung des Iod-Stärke-Komplexes .....                                      | 12    |
| A.4 Bestimmung des Stärke-Massenanteils .....                                                             | 12    |
| Anhang B (informativ) Ergebnisse eines Ringversuches .....                                                | 13    |
| Anhang C (informativ) Beispiel für einen Fließinjektionsanalysator (FIA) zur Bestimmung der Amylose ..... | 15    |
| Literaturhinweise .....                                                                                   | 16    |

## **Europäisches Vorwort**

Dieses Dokument (prEN ISO 6647-1:2019) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 338 „Getreide und Getreideerzeugnisse“ erarbeitet, dessen Sekretariat von AFNOR gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN ISO 6647-1:2015 ersetzen.

### **Anerkennungsnotiz**

Der Text von ISO/DIS 6647-1:2019 wurde von CEN als prEN ISO 6647-1:2019 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

## Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Themen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe [www.iso.org/directives](http://www.iso.org/directives)).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe [www.iso.org/patents](http://www.iso.org/patents)).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe [www.iso.org/iso/foreword.html](http://www.iso.org/iso/foreword.html).

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 34 „Food products“, Unterkomitee SC 4 „Cereals and pulses“ erarbeitet.

Diese dritte Ausgabe ersetzt die zweite Ausgabe (ISO 6647-1:2015), die technisch überarbeitet wurde.

Die wesentlichen Änderungen im Vergleich zur Vorgängerausgabe sind folgende:

- das spektralphotometrische Verfahren mit einem Entfettungsverfahren durch Methanol und mit Kalibrierlösungen von Kartoffelamylose und Wachsreisamylopektin wird als Ersatz für die Größenausschluss-Chromatographie genutzt.

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 6647 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter [www.iso.org/members.html](http://www.iso.org/members.html) zu finden.

## 1 Anwendungsbereich

Dieser Teil der ISO 6647 legt ein Referenzverfahren für die Bestimmung des Amylosegehalts von gemahlenem non-parboiled-Reis fest. Das Verfahren ist anwendbar auf Reis mit einem Amylose-Massenanteil von mehr als 5 %.

Dieser Teil der ISO 6647 kann auch für Braunreis, Mais, Hirse und andere Getreidearten angewendet werden, wenn die Erweiterung dieses Anwendungsbereichs von dem Anwender überprüft wurde.

ANMERKUNG Mit dieser Norm bestimmte Amylose-Werte können mit den Rechtsvorschriften der geschützten Ursprungsbezeichnung (g.U., en: Protected Designation of Origin, PDO) und der geschützten geografischen Angabe (g.g.A., en: Protected Geographical Indication, PGI) verglichen werden.

## 2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 712, *Cereals and cereal products — Determination of moisture content — Reference method*

ISO 7301, *Rice — Specification*

ISO 8466-1, *Water quality — Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics — Part 1: Statistical evaluation of the linear calibration function*

ISO 15914, *Animal feeding stuffs — Enzymatic determination of total starch content*

## 3 Begriffe

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

— ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <http://www.iso.org/obp>

— IEC Electropedia: verfügbar unter <http://www.electropedia.org/>

### 3.1

#### Amylose

Polysaccharidbestandteil der Stärke, dessen Makromoleküle Glucoseeinheiten aufweisen, die in einer überwiegend linearen Struktur miteinander verbunden sind

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Begriff „scheinbare Amylose“ wird historisch als Synonym für den Begriff „Amylose“ verwendet.

### 3.2

#### Amylopektin

Polysaccharidbestandteil der Stärke, dessen Makromoleküle 6 bis 100 Glucoseeinheiten aufweisen, die in einer verzweigten Struktur miteinander verbunden sind

## 4 Kurzbeschreibung

Reis wird zu einem sehr feinen Mehl vermahlen, um die Endospermstruktur aufzubrechen, um so eine vollständige Dispergierung und Gelatinierung zu ermöglichen; das Mehl wird dann entfettet. Eine Einwaage wird in einer Natriumhydroxidlösung dispergiert und zu einem aliquoten Teil davon eine Iodlösung zugegeben. Anschließend wird die Extinktion des gebildeten Farbkomplexes bei 720 nm unter Verwendung eines Spektralphotometers bestimmt.

Der Amylose-Massenanteil der Probe wird dann von einer Kalibrierkurve abgelesen, die unter Verwendung von Gemischen aus Kartoffelamylose und -amylopektin erstellt wurde, um die Wirkung des Amylopektins auf die Farbe des Amylose-Iod-Komplexes der Prüflösung zu berücksichtigen.

## 5 Reagenzien

Sofern nicht anders angegeben sind nur Reagenzien von anerkannter analytischer Qualität und destilliertes oder demineralisiertes Wasser oder Wasser von gleichwertiger Reinheit zu verwenden.

**5.1 Methanol**, mit einem Volumenanteil von 85 %.

**5.2 Ethanol**, mit einem Volumenanteil von 95 %.

**5.3 Natriumhydroxid-Dispersionslösungen**

**5.3.1 Natriumhydroxid**, Lösung 1 mol/l.

**5.3.2 Natriumhydroxid**, Lösung 0,09 mol/l.

**5.4 Deproteinierungslösungen**

**5.4.1 Waschlösung.**

Natriumdodecylbenzolsulfonat wird mit einer 20 g/l entsprechenden Konzentration aufgelöst. Unmittelbar vor der Anwendung wird Natriumsulfit bis zu einer Endkonzentration von 2 g/l hinzugegeben.

**5.4.2 Natriumhydroxid**, zum Entfernen von Proteinen, Lösung 3 g/l.

**5.5 Essigsäure**, Lösung 1 mol/l.

**5.6 Iodlösung.**

2,000 g Kaliumiodid werden auf 5 mg in ein mit einem Stopfen versehenes Wägegläschen eingewogen. Es wird ausreichend Wasser hinzugefügt, sodass sich eine gesättigte Lösung ergibt. Anschließend werden 0,200 g Iod, auf 1 mg eingewogen, hinzugefügt. Sobald sich das gesamte Iod aufgelöst hat, wird die Lösung quantitativ in einen 100-ml-Messkolben (6.6) überführt, mit Wasser bis zum erforderlichen Volumen aufgefüllt und gemischt.

An jedem Tag der Verwendung ist die Lösung frisch herzustellen. Sie ist vor Licht zu schützen.

**5.7 Kartoffelamylose-Stammsuspension**, amylopektinfrei, 1 g/l.

**5.7.1** Die Kartoffelamylose wird durch Rückfluss mit Methanol (5.1) über 4 h bis 6 h in einem Extraktor mit einer Rate von 5 bis 6 Tropfen je Sekunde entfettet.

Die Kartoffelamylose sollte rein sein und durch amperometrische oder potentiometrische Titration geprüft werden. Einige handelsübliche Zubereitungen sind verunreinigt und würden für den Amylose-Massenanteil

von Reisproben fälschlicherweise hohe Ergebnisse ergeben. Reine Amylose sollte 19 % bis 20 % seiner Eigenmasse an Iod binden. Zur Prüfung der Reinheit der Amylose siehe Anhang A.

**5.7.2** Die entfettete Kartoffelamylose wird auf einer Schale ausgebreitet und 2 Tage lang dort belassen, um das Verdunsten des restlichen Methanols und das Erreichen der Gleichgewichtsfeuchte zu ermöglichen.

Das Amylopektin (5.8) und die Untersuchungsproben (8.1) sind auf dieselbe Weise zu behandeln.

**5.7.3** Es werden  $(100 \pm 0,5)$  mg der entfetteten und konditionierten Kartoffelamylose in einen 100-ml-Erlenmeyerkolben (6.8) eingewogen (6.9). 1 ml Ethanol (5.2) wird vorsichtig hinzugegeben, um die an den Wänden des Kolbens haftende Kartoffelamylose abzuspülen. 9,0 ml der 1-mol/l-Natriumhydroxidlösung (5.3.1) werden hinzugegeben und durchmischt. Anschließend wird das Gemisch 10 min in einem siedenden Wasserbad (6.7) erwärmt, um die Kartoffelamylose zu dispergieren. Das Gemisch wird auf Raumtemperatur abgekühlt und in einen 100-ml-Messkolben (6.6) überführt.

Es wird mit Wasser bis zum erforderlichen Volumen aufgefüllt und kräftig gemischt.

1 ml dieser Stammsuspension enthält 1 mg Kartoffelamylose.

Wenn die Untersuchungsproben, die Amylose und das Amylopektin in derselben Umgebung konditioniert werden, ist keine Korrektur des Feuchtegehalts erforderlich und die Ergebnisse werden auf der Grundlage der Trockenmasse des gemahlene Reises erhalten. Wenn die Untersuchungsproben und die Stammsuspensionen nicht unter denselben Bedingungen hergestellt werden, muss der Feuchtegehalt der Proben und der Stammsuspensionen nach den Vorgaben in ISO 712 bestimmt werden und die Ergebnisse sollten entsprechend korrigiert werden.

## **5.8 Amylopektin-Stammsuspension, 1 g/l.**

Herzustellen aus gemahlenem Klebreis (Wachsreis) mit einem Stärkegehalt, dessen Amylopektin-Massenanteil bekanntermaßen mindestens 99 % beträgt. Der gemahlene Klebreis wird eingeweicht und in einem geeigneten Labormischer (6.1) bis zu einem fein zerteilten Zustand durchmischt. Das Protein wird durch vollständige Extraktion mit der Waschlösung (5.4.1) oder ersatzweise mit der Natriumhydroxidlösung (5.4.2) entfernt, gewaschen und anschließend durch Rückfluss mit Methanol (5.1) nach 5.7.1 entfettet. Das deproteinierte und entfettete Amylopektin wird auf einer Schale ausgebreitet und 2 Tage lang dort belassen, um das Verdunsten des restlichen Methanols und das Erreichen der Gleichgewichtsfeuchte zu ermöglichen.

Das in 5.7.3 angegebene Verfahren wird angewendet, jedoch mit Amylopektin anstelle von Amylose. 1 ml dieser Stammsuspension enthält 1 mg Amylopektin.

Die Fähigkeit des Amylopektins, Iod zu binden, sollte geringer als 0,2 % sein (siehe Anhang A).

## **6 Prüfeinrichtung**

Übliche Laborgeräte und insbesondere die folgenden.

### **6.1 Labormischer**

**6.2 Mühle**, die geeignet ist, ungekochten gemahlene Reis zu einem feinen Mehl zu zerkleinern, das durch ein Sieb mit einer Maschenweite von 150 µm bis 180 µm (100 mesh bis 80 mesh) hindurchgeht. Empfohlen wird eine Zentrifugalmühle mit einem 0,5-mm-Sieb.

**6.3 Sieb**, Maschenweite 150 µm bis 180 µm (100 mesh bis 80 mesh).

**6.4 Spektralphotometer**, mit passenden Zellen, üblicherweise mit einer Schichtdicke von 1 cm, das geeignet ist, die Extinktion bei 720 nm zu messen.