NORME INTERNATIONALE

ISO 13904

Deuxième édition
2016-02-15

Aliments des animaux — Dosage du tryptophane

Animal feeding stuffs — Determination of tryptophan content

Numéro de référence
ISO 13904:2016(F)

© ISO 2016



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2016, Publié en Suisse

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Ch. de Blandonnet 8 • CP 401
CH-1214 Vernier, Geneva, Switzerland
Tel. +41 22 749 01 11
Fax +41 22 749 09 47
copyright@iso.org
www.iso.org

Sommaire

Page

Avant-propos ... **iv**

1 Domaine d'application ... **1**

2 Principe ... **1**

3 Réactifs et matériaux ... **1**

4 Appareillage ... **3**

5 Mode opératoire ... **4**
5.1 Préparation des échantillons ... 4
5.1.1 Aliments ... 4
5.1.2 Substances pures du commerce et prémélanges contenant plus de 2 % de tryptophane ... 4
5.2 Dosage du tryptophane libre (extrait) ... 4
5.2.1 Aliments ... 4
5.2.2 Substances pures du commerce et prémélanges contenant plus de 2 % de tryptophane ... 4
5.3 Dosage du tryptophane total (hydrolysats) ... 5
5.4 Dosage par CLHP ... 5

6 Calcul des résultats ... **6**
6.1 Aliments ... 6
6.2 Produits purs du commerce et prémélanges contenant plus de 2 % de tryptophane ... 6
6.2.1 Contrôle de l'étalonnage ... 6
6.2.2 Calcul ... 7

7 Fidélité ... **7**
7.1 Essai interlaboratoires ... 7
7.1.1 Aliments ... 7
7.1.2 Substances pures du commerce et prémélanges contenant plus de 2 % de tryptophane ... 7
7.2 Répétabilité ... 7
7.2.1 Aliments ... 7
7.2.2 Substances pures du commerce et prémélanges contenant plus de 2 % de tryptophane ... 7
7.3 Reproductibilité ... 8
7.3.1 Aliments ... 8
7.3.2 Substances pures et prémélanges contenant plus de 2 % de tryptophane ... 8

8 Rapport d'essai ... **8**

Annexe A (informative) **Résultats d'un essai interlaboratoires** ... **9**

Annexe B (informative) **Observations sur la méthode** ... **11**

Annexe C (informative) **Préparation des échantillons: Exemples portant sur des analyses dans des produits purs et des prémélanges** ... **12**

Annexe D (informative) **Résultats d'un essai interlaboratoires portant sur le tryptophane dans les produits purs et les prémélanges contenant plus de 2 % de tryptophane** ... **13**

Bibliographie ... **15**

© ISO 2016 – Tous droits réservés

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier, de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'OMC concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: Avant-propos — Informations supplémentaires.

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est l'ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 10, *Aliments des animaux*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 13904:2005), qui a fait l'objet d'une révision technique.

 © ISO 2016 – Tous droits réservés

Aliments des animaux — Dosage du tryptophane

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale décrit une méthode de dosage du tryptophane total et libre (Trp) dans les aliments pour animaux (par exemple aliments complets et complémentaires, compléments alimentaires, matières premières, ingrédients et concentrés) et une méthode de dosage du tryptophane libre dans les substances pures du commerce et les prémélanges contenant plus de 2 % de tryptophane.

Elle ne fait pas la distinction entre les formes D et L.

2 Principe

Pour le dosage du tryptophane total, l'échantillon est hydrolysé en milieu alcalin avec une solution d'hydroxyde de baryum saturé et il est chauffé à 110 °C pendant 20 h. Après l'hydrolyse, un étalon interne est ajouté.

Pour le dosage du tryptophane libre, l'échantillon est extrait en milieu légèrement acide en présence d'un étalon interne. Pour les substances pures du commerce et les prémélanges contenant plus de 2 % de tryptophane, il est possible d'ajouter l'étalon interne après l'extraction.

Le tryptophane et l'étalon interne dans l'hydrolysat ou l'extrait sont déterminés par CLHP avec une séparation en phase inverse sur colonne C_{18} et détection fluorimétrique.

3 Réactifs et matériaux

Sauf spécification contraire, n'utiliser que des réactifs de qualité analytique reconnue.

3.1 Eau bidistillée, ou de pureté équivalente (conductivité < 10 µS/cm).

3.2 Substance étalon et substance de contrôle: tryptophane (pureté/teneur w ≥ 99 %) séché sous vide sur du pentoxyde de phosphore. Le produit est considéré comme pur à 100 %.

Les deux produits sont considérés comme purs à 100 %. La substance de contrôle doit provenir d'un autre fabricant que celui de la substance étalon (voir 3.17.2).

NOTE Le contrôle de pureté de la substance étalon peut être réalisé en mesurant l'absorbance d'une solution de tryptophane à 280 nm. Préparer une solution d'environ 5 mg/l dans de l'HCl à 10^{-3} N à partir d'une solution mère et mesurer l'absorbance OD à 280 nm par rapport à de l'HCl à 10^{-3} N. La concentration du tryptophane est alors:

$C = OD/5\,630 * 10^{+06}$

où

5 630 est le coefficient d'extinction molaire du tryptophane dans l'eau à 280 nm;

C est exprimée en μmol/l.

La pureté de la substance étalon est alors $(C/C_0)*100$ où C_0 est la concentration théorique de la solution diluée, exprimée en μmol/l, égale à environ 25 μmol/l.

Le contrôle de pureté est réalisé tous les six mois; la pureté doit être ≥ 99 %.

3.3 Substance étalon interne: α-méthyl-tryptophane (pureté ≥ 99 %), séché sous vide sur du pentoxyde de phosphore.

© ISO 2016 – Tous droits réservés