



Opvolging en evaluatie van opleidingen

Vak I : Gegevens in verband met de opleiding

Titel opleiding	ISO/TC 34/SC 10 (Animal feeding stuffs)					
Duur	31 januari 2007, Berlijn (Duitsland)					
Organisator	DIN (gastorganisatie); NEN (secretariaat ISO/TC 34/SC 10)					
Naam deelnemer	Vermeylen Rudi					
Dienst/labo (aankruisen)	DG labo	FLVVG	FLVVM	FLVVT	LFSAGx	LFSAL
	X					

Vak II : Informatie van Bestuur Laboratoria

(Vak voorbehouden aan administratie Bestuur Laboratorium)

Te ondernemen acties door Bestuur Laboratoria:

Informatie verspreiden aan :

Vak III : Evaluatie van de opleiding

Gelieve punten toe te kennen van 1 (onvoldoende) tot 5 (zeer goed)

	1	2	3	4	5
Beantwoord de opleiding aan uw verwachtingen ?					
Evaluatie van de inhoud.					
Evaluatie van de presentatie.					
Evaluatie van de algemene organisatie van de opleiding					
Opmerkingen	Het betreft hier geen feitelijke opleiding maar een dienstopdracht				



Vak IV : Programma of samenvatting van de opleiding

Afkortingen

ADF : acid detergent fibre

ADL : acid detergent lignin

AOAC : Association of Official Agricultural Chemists

CD : committee draft

GEMA : DG Sanco working group on feed analysis

CEN : European Committee for Standardisation

FEFANA : Europese Federatie van Producenten van Voedertoevoegingen

FLVVG : Federaal Laboratorium voor de Voedselveiligheid - Gentbrugge

HPLC : hoge druk vloeistofchromatografie

IAC : immuno affiniteits chromatografie

ICP : inductive coupled plasma

ISO : international standardisation organisation

LOD : limit of detection

LOQ : limit of quantification

MS : massaspectrometrie (detector)

RIKILT (Nederlands onderzoeksinstituut voor voedselveiligheid)

SC : scientific committee

WIV : Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid

Agenda

De volgende thema's kwamen aan bod bij ISO/TC 34/SC 10 "Animal feeding stuffs":

Rapportering van vooruitgang bij reeds opgestarte projecten

1. ADF & ADL : commentaren op ISO/DIS 13906
2. Dumas: prEN-ISO/DIS.2 16634
3. Zearalenone: commentaren op draft ISO/FDIS 17372
4. water-oplosbare chloriden (titrimetrische methode): ISO/CD 6495-1
5. water-oplosbare chloriden (potentiometrische methode): ISO/CD 6495-2

Vijfjaarlijkse herziening van normen

6. aflatoxine - TLC: ISO 6651 (voorstel kleine herziening)
7. trypsine inhibitie activiteit: ISO 14902 (voorstel uitbreiding scope)
8. carbadox - HPLC: ISO 14939 (voorstel voor herziening)

Toekomstige work items

9. nitrofuranen - LC/MSⁿ (voorstel voor nieuw *work item*)
10. proteïngehalte met Kjehldal: ISO 5983-2 (voorstel voor kleine aanvulling)
11. zware metalen en sporenelementen - ICP met klassieke destructie: prEN 15510 (upgraden van EN norm tot ISO standaard)
12. fytase activiteit (voorstel voor nieuw *work item*)
13. energetische waarde van diervoeders: ISO 9831 (voorstel voor herziening of voorstel voor nieuw work item)
14. oplosbaar stikstof (pepsine in verdund HCl): ISO 6655 (voorstel voor nieuw *work item*)
15. Amino-zuren in additieven en voormengsels (ISO 13903) en tryptofaan in additieven en voormengsels (ISO 13904) (voorstel voor herziening of voorstel voor nieuw work item)



Verslag

1. **ADF & ADL** (acid detergent fibre & acid detergent lignin)

Het gehalte ADF wordt gravimetrisch bepaald na behandeling van het monster met kationische detergents. Het ADF bestaat voornamelijk uit cellulose en lignine (bij plantaardig materiaal) of gedenatureerde proteïnen (bij dierlijke producten en diervoeders). Na behandeling van het ADF met geconcentreerd zwavelzuur blijft de ligninefractie (ADL) over. In essentie gaat het dus over een oudere AOAC methode. De projectleider (Jürgen Möller, Foss-Tecator) rapporteert bondig de resultaten van de interlaboratorium ringtest die in april 2006 werd georganiseerd (geen Belgische deelnemers). De informatieve annexen in de rondgestuurde ISO/DIS 13906 bleken gecorrigeerd voor de fouten die in het ringtestverslag waren opgetekend. Het document werd door ISO rondgestuurd voor commentaren, maar SC 10 dringt er bij de projectleider op aan de Horat-ratio's te vermelden.

2. **Dumas**: prEN-ISO/DIS.2 16634

Deze pre-norm beschrijft de methode om het proteïnegehalte van oliehoudende zaden, granen, peulvruchten, bloem en diervoeder te bepalen aan de hand van de Dumas verbandingsmethode. De spiegelcommissies (ISO en CEN) van talrijke leden hadden aanzienlijk wat commentaar op de tweede DIS versie. SC 10 vraagt dat de projectleider deze snel zou verwerken.

Bovendien werd deze tekst ook in de schoot van verscheidene CEN-TC's besproken: CEN/TC 327 (*animal feeding stuffs*) had eerder duidelijk gemaakt dat het wenst dat in de ISO norm wordt opgenomen dat de Kjeldahl methode de referentiemethode blijft. CEN/TC 338 (*Cereal and Cereal Products*) prefereert dan weer dat granen en afgeleide producten niet tot de scope van de ISO norm 16634 zou behoren, om zo zelf een eigen standaard over dit onderwerp te kunnen uitwerken.

3. **Zearalenone**: draft ISO/FDIS 17372

De methode omvat een extractie met acetonitril/water, opzuivering met IAC en fluorescentie-detectie na *reversed phase HPLC*. Ondanks de bemerkingen van enkele lidstaten zal de draft effectief voor commentaren worden rondgestuurd op niveau FDIS, wel vraagt SC 10 de projectleider (Harold Campbell) om in de tekst aan te geven welke LOQ's mogen verwacht worden: "LOQ/LOD of 30 ppb should be reached"; "in house validation of this method has shown that LOQ of 30 ppb can reasonably be achieved".

4. **water-oplosbare chloriden - titrimetrische methode**: ISO/CD 6495-1

Na precipiteren van interfererende organische componenten (met behulp van Carrez oplossingen) worden de wateroplosbare chloriden geprecipiteerd door toevoegen van een overmaat AgNO_3 . Door middel van een terugtitratie met kalium- of ammonium-thiocynaat (omslagpunt is het verschijnen van een oranje kleur) kan dan de concentratie aan wateroplosbare chloriden bepaald worden.

De Committee Draft (CD) was rondgestuurd, en commentaren worden voor eind februari verwacht. SC 10 vraagt de projectleider (Supaporn Ruengmanee-paitoon, Thailand) alvast de Horrat waarden van de interlaboratorium test toe te voegen in de informatieve annex.

5. **water-oplosbare chloriden - potentiometrische methode** : ISO/CD 6495-2



Bij deze methode wordt tijdens een titratie met AgNO_3 de potentiaal gemeten van de oplossing. Bij het eindpunt van de titratie zal het toegevoegde Ag^+ niet langer precipiteren als AgCl . Ten opzichte van de titrimetrische methode zou het bij de potentiometrische methode onnodig zijn proteïnen voorafgaandelijk neer te slaan uit de oplossing.

De Committee Draft (CD) was rondgestuurd, en commentaren worden voor eind februari verwacht. Franse experts informeren de projectleider (Terrence Field, Canadian Food Inspection Agency) dat het toevoegen van polyethyleenglycol noodzakelijk kan zijn om het neerslaan van de proteïnen op de elektroden te vermijden.

Deze opmerking, tezamen met anderen die als gevolg van het circuleren van de CD het secretariaat bereiken, zullen in een volgende versie van de *draft* methode geïncorporeerd worden, waarna binnen SC 10 gestemd zal worden of de procedure klaar is om via een interlaboratorium ringtest gevalideerd te worden.

6. **aflatoxine - TLC:** ISO 6651

Bij de vijfjaarlijkse herziening werd opgemerkt dat de norm voorziet dat de aflatoxine-standaarden worden opgelost in benzeen. Toluëen wordt door Tetsuhisa Goto (Shinshu University, Japan) als een minder gevaarlijk alternatief naar voor geschoven. Het extractiesolvent (chloroform) kan niet gewijzigd worden. Prof. Goto werkt een voorstel uit om de voorgestelde wijzigingen te implementeren.

7. **trypsine inhibitie activiteit:** ISO 14902

Bij de vijfjaarlijkse *review* merkte Canada op dat de ringtest die deze norm ondersteunt niet voldoet aan de IUPAC eisen: er werden slechts 3 verschillende materialen gebruikt (2 soja monsters, en één monster getoaste soja). Verder merkte Christophe Genouel (SCL, Frankrijk) op dat de voorgestelde methode ook bruikbaar is voor andere proteïnen dan soja. Dit wordt bevestigd door Kommer Brunt (Eurofins) die meldt dat ook aardappelproteïnen geanalyseerd kunnen worden.

SC 10 bevestigt voorlopig de norm, maar de Franse expert (Christophe Ferey, Deltavit) wordt geconsulteerd om een nieuw projectvoorstel voor te bereiden.

8. **carbadox - HPLC:** ISO 14939

Naar aanleiding van de vijfjaarlijkse herziening van de norm, besloot SC 10 de ISO 14939 te bevestigen. Jens Schönherr (Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft, Leipzig) bevestigde na de meeting dat de LOQ/LOD's die in de norm ISO 14939 vermeld worden een factor 10 lager liggen dan deze die door CEMA werden opgenomen in SANCO/05423/2006 (*i.e.* de Verordening die de toekomstige Europees methoden groepeerd), alhoewel beide methoden identiek zijn. Het validatiedossier van FLVVT is meer in overeenstemming met de CEMA-waarden (FLVVT: LOD = 1 ppm, LOQ = 2 ppm; CEMA: LOD = 1 ppm, LOQ = 5 ppm; ISO 14939: LOD = 0,1 ppm, LOQ = 0,5 ppm).

9. **nitrofuranen - LC/MSⁿ** (voorstel voor nieuw *work item*)

Patrick Mulder (RIKILT) rapporteert preliminaire resultaten van een LC-MS methode voor de simultane bepaling van furazolidone, furaltadone, nitrofurazone en nitrofurantoin: 2 g voeder wordt geëxtraheerd met water (2 x 20 ml), 15 ml van het extract wordt met SPE geconcentreerd in 3 ml methanol na wassen van de *cartridge* met 3 ml methanol/water (25:75 v/v), de methanol wordt drooggedampt en het staal wordt opgenomen in 0,5 ml water en geïnjecteerd. De componenten worden met een acetonitril/water-gradiënt gescheiden met *reversed phase* LC. Voor de MS-detectie blijkt een positieve ionisatie



voor 2 van de 4 componenten de beste resultaten te geven, terwijl voor de twee andere de negatieve ionisatie te prefereren is. Voor de kwantificatie werden gedeutereerde interne standaarden gebruikt, maar slechts 1 van de 4 is commercieel beschikbaar (de andere 3 werden via chemische synthese door het RIKILT aangemaakt). Wanneer geen interne standaarden gebruikt worden, leidt de methode tot een systematische overschatting van de aanwezige concentratie. Uit experimenten waarbij 100 ppb van de 4 componenten aan een kippenvoeder werden toegevoegd, bleek dat fuarozidone de laagste gevoeligheid had. Wellicht kunnen de nitrofuranen bij concentraties vanaf 25 ppb geïdentificeerd worden, waardoor de gehalten die aanleiding kunnen geven tot detecteerbare residuen in dierlijke weefsels opgespoord kunnen worden.

SC 10 vraagt aan de projectleider om de methode uit te schrijven, waarna een enquête zal rondgestuurd worden voor geïnteresseerde laboratoria.

10. proteïngehalte met Kjeldal: ISO 5983-2 (kleine aanvulling)

Geconcentreerd zwavelzuur wordt gebruikt om proteïnestikstof om te zetten in ammoniumsulfaat bij hoge temperaturen (die bereikt worden door het kookpunt van het zwavelzuur te verhogen door het toevoegen van kaliumsulfaat). De reactie wordt versneld door het toevoegen van een koper-katalysator. Na koelen wordt een overmaat NaOH toegevoegd om de ammoniak vrij te zetten. De ammoniak wordt dan door destillatie geleid in een oplossing met overmaat boorzuur. Klassiek wordt de ammoniak getitreerd met HCl tot een colorimetrisch (optisch) eindpunt.

Dit project beoogt om naast de colorimetrische titratie ook een potentiometrische bepaling van het eindpunt toe te laten (eindpunt bij pH 4,6). De equivalentie van beide technieken werd aangetoond door middel van F- en t-testen.

11. zware metalen en sporenelementen - ICP met klassieke destructie: prEN 15510 (upgraden van EN norm tot ISO standaard)

De prenorm wordt binnen CEN ter formele stemming rondgestuurd. Na goedkeuring door CEN zal de norm dan aan ISO worden voorgelegd om tot een gezamenlijke EN-ISO norm te komen.

12. fytase activiteit (voorstel voor nieuw *work item*)

In de voorgestelde methode wordt de fytase-activiteit gemeten bij pH=5,5 door de vrijzetting van fosfaat uit fytate colorimetrisch te doseren. De methode is ondertussen door een ringteststudie gevalideerd. Het project zal volledig door CEN TC 327 worden uitgewerkt (CEN lead). Het is de wens van FEFANA om de methode vervolgens als een gezamenlijke EN-ISO norm door CEN en ISO aanvaard te laten worden. Tot nog toe zijn er echter slechts 4 ISO leden die geïnteresseerd zijn, terwijl er minstens 5 bereid moeten zijn om actief deel te nemen om tot een ISO standaard te kunnen komen.

13. energetische waarde van diervoeders: ISO 9831 (voorstel voor herziening of voorstel voor nieuw *work item*)

Er wordt opgemerkt dat thans nieuwe apparaten gebruikt worden die niet in de ISO 9831 standaard zijn opgenomen. Teneinde het gebruik van deze nieuwe toestellen te 'normaliseren' wenst de Franse delegatie de norm te herzien. Hiervoor zijn twee mogelijkheden. Ofwel wordt een nieuw *work item proposal* opgesteld, maar in dit geval moeten minstens 5 lidstaten actief deelnemen aan de ontwikkeling van de norm. Omdat het zeer specifieke analyses betreft en bijgevolg wellicht geen 5 landen kunnen



deelnemen, zal de Franse experte (Simonneau-Orlando) mogelijk kiezen voor een geringe herziening van de huidige norm, waarin de nieuwe gegevens in een informatieve annex worden ondergebracht. De Franse delegatie zal in deze een voorstel formuleren.

14. oplosbaar stikstof (pepsine in verdund HCl): ISO 6655 (voorstel voor nieuw *work item*)

De Thaise delegatie wil de scope van de norm uitbreiden tot de matrix vismeel en organiseerde met dit doel een interlaboratorium ringtest (november 2006). SC 10 vraagt de Thaise experten een voorstel voor een nieuw *work item* uit te werken. Een officiële stemming zal dan beslissen of de norm ISO 6655 met bovenvermeld doel herzien zal worden.

15. Amino-zuren (ISO 13903) en tryptofaan (ISO 13904) in additieven en voormengsels (voorstel voor herziening of voorstel voor nieuw *work item*)

De huidige normen zijn van toepassing voor voedermiddelen (en dus voor aminozuurconcentraties < 10%). De Franse experte (Marcella Eudaimon) zou graag ook voor de bepaling van aminozuren in voormengsels en de aminozuuradditieven over gestandaardiseerde methoden beschikken. In Frankrijk werd de gemodificeerde methode reeds met een interlaboratorium ringtest gevalideerd. Er restten twee opties: ofwel wordt geopteerd voor een nieuwe norm, ofwel wordt de oude norm voor herziening open verklaard. In het laatste geval kunnen niet uitsluitend de voorstellen van de Franse delegatie becommentarieerd worden, maar eveneens de oorspronkelijke norm zelf. Aangezien het goedkeuren van de oorspronkelijke norm 5 jaar in beslag genomen heeft, is dit ongewenst scenario zeker niet denkbeeldig. De Franse delegatie zal in deze een voorstel formuleren.

Vak V : Praktische toepassingsmogelijkheden