

Side 1
METODESPESIFIKASJON
Fakultetet for Biovitenskap, NMBU

Metodenavn: Aminosyreanalyse-oksiderte prøver
BIOVIT-nr.: Msp1050

1. Analysemetode/Prinsipp/Hovedinstrument

Metoden bestemmer totalinnholdet (peptid-bundet og frie) aminosyrer i fôr og faeces og er egnet for aminosyrene cyst(e)in, metionin, asparaginsyre, threonin, serin, glutaminsyre, prolin, glysin, alanin, valin, isoleucin, leucin, tyrosin, fenylalanin, histidin, lysin og arginin. Tryptofan trenger basisk hydrolyse og har derfor en egen metode (se Msp 1051).

Prosedyren er avhengig av hvilke aminosyrer som skal studeres. Hvis Cystein og metionin er ønskelig må disse oksideres til henholdsvis cysteinsyre og methionine sulfone (*engelsk navn*) før hydrolyse. Oksidasjon utføres ved 4 °C i en fenol løsning. Overskudd av oksidasjonsreagens dekomponeres med natriumdisulfitt. Prøvene hydrolyseres videre med HCl i 24 timer. Hydrolysatet justeres til pH 2.2. Aminosyrene separeres med ionebytter-kromatografi og bestemmes ved en reaksjon med ninhydrin og fotometrisk deteksjon ved 570 nm (440 nm for proline).

Hovedinstrument: 30+ Amino Acid Analyzer (Biochrom Ltd, Cambridge, England)

2. Referanse og eventuelle modifikasjoner

Commission Regulation (EC) No 152/2009. 27 Jan 2009. Laying down the methods of sampling and analysis for the official control of feed. Annex III, P, Official Journal of the European Union L54/1 from 26/02/2009

- Determination of Amino Acids (except tryptophan) – page 19-24 (PART F)

3. Krav til prøvens malingsgrad og temperatur for oppbevaring før analyse

Prøvene må homogeniseres før uttak – malingsgrad 0,5 mm. Fuktige prøver må enten lufttørkes (ved en temperatur som ikke overstiger 50 °C) eller frysetørkes før maling.

Prøver med høyt fettinnhold (eks fiskefôr med over 40% fett) ekstraheres med petroleumseter (bp. 40-60 °C) før maling.

Den utveide analytiske prøven skal inneholde ca. 10 mg nitrogen.

4. Kontaktpersoner

Lableder: Hanne Kolsrud Hustoft

BIOVIT/NMBU						MSP
Utarbeidet Elin Follaug Johnsen	Godkjent Hanne Kolsrud Hustoft	Gjelder fra 09.2015	Revisjon 03.2020	Erstatter 06.2018	Dokumentnavn Msp 1050 aminosyreanalyse. docx	Side 1/2

Analyseansvarlig: Elin Follaug Johnsen

5. Spesielle meknader

Om rekvirent ikke er interessert i cystein/metionin kan man vurdere å utelate oksidasjonstrinnet for å spare tid.

Det er mulig å bruke metoden til å se på andre aminosyrer enn de som er nevnt i Referansemetoden (1). F.eks. taurin, hydroxyprolin og GABA (bruk annen standard).

Tyrosin vil degradere noe under oksidasjonen. Dette er korrigert for i beregningsarket, men om nivåene av tyrosin er unormalt lave kan det ha forekommet mer degradering enn vanlig. Det er viktig at prøvene ikke står til oksidasjon lenger enn beskrevet i metoden!

Metoden forårsaker deaminering av de to aminosyrene asparagin og glutamin og de blir til asparaginsyre og glutaminsyre

Så:

glutaminsyre = glutaminsyre + glutamin
asparaginsyre = asparaginsyre + asparagin

I artikler kan man skrive: Glx og Asx

(Glx = Glu + Gln) (Asx = Asn + Asp)

Eller: "Glu + Gln" or "Asn + Asp"

6. Annen litteratur

1. Manual for Biochrom 30+ aminosyreanalyzer
2. Manual for Chromeleon software

BIOVIT/NMBU						MSP
Utarbeidet Elin Follaug Johnsen	Godkjent Hanne Kolsrud Hustoft	Gjelder fra 09.2015	Revisjon 03.2020	Erstatter 06.2018	Dokumentnavn Msp 1050 aminosyreanalyse. docx	Side 2/2