
NORME INTERNATIONALE 5549

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION • МЕЖДУНАРОДНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ • ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION

Caséines et caséinates — Détermination de la teneur en protéines (Méthode de référence)

Caseins and caseinates — Determination of protein content (Reference method)

Première édition — 1978-06-15

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 5549:1978](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4bac546b-40bc-450f-ac17-e683e411cb98/iso-5549-1978)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4bac546b-40bc-450f-ac17-e683e411cb98/iso-5549-1978>

CDU 637.147.2 : 543.865

Réf. no : ISO 5549-1978 (F)

Descripteurs : caséine, analyse chimique, dosage, protéine, méthode volumétrique.

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 confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique correspondant. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO, participent également aux travaux.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour approbation, avant leur acceptation comme Normes internationales par le Conseil de l'ISO.

La Norme internationale ISO 5549 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, et a été soumise aux comités membres en septembre 1976.

Les comités membres des pays suivants l'ont approuvée :

Afrique du Sud, Rép. d'	Egypte, Rép. arabe d'	Nouvelle-Zélande
Allemagne	Espagne	Pays-Bas
Australie	France	Portugal
Autriche	Ghana	Roumanie
Bulgarie	Hongrie	Tchécoslovaquie
Canada	Inde	Turquie
Chili	Iran	Yougoslavie
Corée, Rép. de	Israël	

[ISO 5549:1978](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4bac546b-40bc-450f-ac17-c683e411cb98/iso-5549-1978>

Les comités membres des pays suivants l'ont désapprouvée pour des raisons techniques :

Pologne
Royaume-Uni

NOTE — La méthode spécifiée dans la présente Norme internationale a été élaborée conjointement avec la FIL (Fédération internationale de laiterie) et l'AOAC (Association des chimistes analytiques officiels, U.S.A.). Le texte, approuvé par les organisations susmentionnées, sera également publié par la FAO/OMS (Code de principes concernant le lait et les produits laitiers et les normes connexes), par la FIL et par l'AOAC (Official Methods of Analysis).

Caséines et caséinates — Détermination de la teneur en protéines (Méthode de référence)

1 OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

La présente Norme internationale spécifie une méthode de référence pour la détermination de la teneur en protéines de tous les types de caséines et de caséinates, à l'exception de ceux contenant du caséinate d'ammonium ou d'autres composés ammoniacaux ou d'autres composés contenant de l'azote non protéique.

2 RÉFÉRENCES

ISO/R 707, *Lait et produits laitiers — Méthode d'échantillonnage*.

ISO 3310/1, *Tamis de contrôle — Exigences techniques et vérifications — Partie 1 : Toiles métalliques*.

ISO 5550, *Caséines et caséinates — Détermination de la teneur en eau (Méthode de référence)*.¹⁾

3 DÉFINITION

teneur en protéines des caséines et des caséinates : Teneur en azote, déterminée selon la méthode décrite dans la présente Norme internationale, multipliée par 6,38 et exprimée en pourcentage en masse.

4 PRINCIPE

Attaque d'une prise d'essai par un mélange formé de sulfate de potassium et d'acide sulfurique, en présence de sulfate de cuivre(II) comme catalyseur, pour transformer l'azote organique en azote ammoniacal. Distillation et absorption de l'ammoniac dans une solution d'acide borique. Titrage au moyen d'une solution titrée d'acide chlorhydrique. Multiplication du résultat par le facteur 6,38.

5 RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique reconnue. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau de pureté au moins équivalente.

5.1 **Acide sulfurique**, concentré, ρ_{20} 1,84 g/ml.

5.2 **Sulfate de potassium**, anhydre (K_2SO_4).

5.3 **Sulfate de cuivre(II) pentahydraté** ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$).

5.4 **Saccharose** ($C_{12}H_{22}O_{11}$).

5.5 **Acide borique**, solution à 40 g/l.

5.6 **Hydroxyde de sodium**, solution aqueuse concentrée à 30 % (m/m).

5.7 **Acide chlorhydrique**, solution titrée 0,1 N, étalonnée par rapport à une solution de tétraborate de sodium décahydraté ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$) ou de carbonate de sodium anhydre (Na_2CO_3).

5.8 **Indicateur mixte**

Mélanger à volumes égaux une solution de rouge de méthyle à 2 g/l dans de l'éthanol à au moins 95 % (V/V) et une solution de bleu de méthylène à 1 g/l dans de l'éthanol à au moins 95 % (V/V).

6 APPAREILLAGE

6.1 **Balance analytique**.

6.2 **Ballon de Kjeldahl**, de 500 ml de capacité.

6.3 **Appareil de minéralisation**, permettant de maintenir le ballon de Kjeldahl (6.2) dans une position inclinée, et équipé d'un dispositif de chauffage qui ne devra pas chauffer la partie du ballon se trouvant au-dessus de la surface du liquide qu'il contient.

6.4 **Réfrigérant**, à tube intérieur rectiligne.

6.5 **Tube à dégagement**, présentant un bulbe de sûreté sphérique relié à la partie inférieure du réfrigérant (6.4) par un assemblage en verre rodé, ou par un tuyau en caoutchouc. Si l'on utilise un tuyau en caoutchouc, les extrémités en verre doivent être proches l'une de l'autre.

6.6 **Déflégmateur (piège)**, relié au ballon de Kjeldahl (6.2) et au réfrigérant (6.4) par des bouchons en caoutchouc souple bien adaptés.

6.7 **Fiole conique**, de 500 ml de capacité.

6.8 **Éprouvettes graduées**, de 50 ml et 100 ml de capacité.

6.9 **Burette**, de 50 ml de capacité, graduée en 0,1 ml.

1) Actuellement au stade de projet.

6.10 Régularisateurs d'ébullition :

6.10.1 Pour la minéralisation : petits morceaux de porcelaine dure ou billes en verre.

6.10.2 Pour la distillation : petits grains de pierre ponce récemment calcinés.

6.11 Dispositif de broyage, permettant, si nécessaire (voir 8.1.4), de broyer l'échantillon pour laboratoire sans provoquer d'échauffement excessif ni de perte ou absorption d'humidité. Ne pas utiliser un broyeur à marteaux.

6.12 Tamis de contrôle, à toile métallique, de 200 mm de diamètre, de 500 μm de dimension nominale d'ouverture, muni d'un réceptacle, conforme à l'ISO 3310/1.

7 ÉCHANTILLONNAGE

Voir ISO/R 707.

8 MODE OPÉRATOIRE

8.1 Préparation de l'échantillon pour essai

8.1.1 Bien mélanger l'échantillon pour laboratoire au moyen d'agitations et de retournements répétés du récipient (si nécessaire après avoir transvasé la totalité de l'échantillon pour laboratoire dans un récipient étanche à l'air, de capacité convenable, en vue de permettre la réalisation de cette opération).

8.1.2 Transvaser environ 50 g de l'échantillon pour laboratoire bien mélangé sur le tamis de contrôle (6.12).

8.1.3 Si cette fraction de 50 g passe complètement ou presque à travers le tamis, utiliser pour la détermination l'échantillon tel qu'il a été préparé en 8.1.1.

8.1.4 Dans le cas contraire, broyer cette fraction de 50 g au moyen du dispositif de broyage (6.11) jusqu'à ce qu'il passe complètement à travers le tamis. Transvaser immédiatement l'échantillon tamisé dans un récipient étanche à l'air, de capacité suffisante, et bien mélanger au moyen d'agitations et de retournements répétés. Au cours de ces opérations, prendre toutes précautions utiles en vue d'éviter une modification de la teneur en eau du produit.

8.1.5 Procéder à la détermination dès que possible après la préparation de l'échantillon pour essai.

8.2 Contrôle de la présence d'azote non protéique

Si l'on suppose la présence de caséinate d'ammonium ou d'autres composés ammoniacaux, effectuer l'essai suivant. Ajouter, à 1 g d'échantillon placé dans une petite fiole conique, 10 ml d'eau et 100 mg d'oxyde de magnésium. Rincer l'oxyde adhérent aux parois et fermer la fiole à l'aide d'un bouchon en liège, en insérant, entre le bouchon

et le col de la fiole, un papier de tournesol rouge. Mélanger avec soin, le contenu de la fiole et chauffer la fiole au bain d'eau réglé de 60 à 65 °C. Si le papier de tournesol se colore en bleu dans les 15 min, il y a présence d'ammoniac et la méthode n'est pas applicable (voir chapitre 1).

8.3 Essai à blanc

En même temps que la détermination de la teneur en azote de l'échantillon, procéder à un essai à blanc en remplaçant la prise d'essai par 0,5 g du saccharose (5.4), et en utilisant le même appareillage, les mêmes quantités de tous les réactifs et le même mode opératoire tel qu'il est décrit en 8.5. Si le résultat de l'essai à blanc dépasse 0,5 ml d'acide 0,1 N, les réactifs doivent être vérifiés et le (ou les) réactif(s) impur(s) doit (doivent) être purifié(s) ou remplacé(s).

8.4 Prise d'essai

Introduire, dans le ballon de Kjeldahl (6.2), 0,3 à 0,4 g de l'échantillon pour essai (8.1) pesé à 0,1 mg près.

8.5 Détermination

8.5.1 Introduire ensuite, dans le ballon, quelques morceaux de porcelaine ou quelques billes en verre (6.10.1) et environ 15 g du sulfate de potassium anhydre (5.2).

Ajouter 0,2 g du sulfate de cuivre(II) (5.3) et rincer le col du ballon avec un peu d'eau. Ajouter 20 ml de l'acide sulfurique concentré (5.1). Mélanger le contenu du ballon.

Chauffer doucement sur l'appareil de minéralisation (6.3) jusqu'à ce qu'il ne se forme plus de mousse. Faire bouillir doucement jusqu'à ce que la solution devienne limpide et incolore. Au cours du chauffage, agiter de temps à autre le ballon.

Poursuivre l'ébullition en réglant le chauffage de manière à condenser les vapeurs d'acide vers le milieu du col du ballon. Poursuivre le chauffage durant 90 min, en évitant toute surchauffe locale.

Laisser refroidir jusqu'à la température ambiante. Ajouter, avec précaution, environ 200 ml d'eau et quelques grains de pierre ponce (6.10.2). Mélanger et refroidir de nouveau.

8.5.2 Introduire, dans la fiole conique (6.7), 50 ml de la solution d'acide borique (5.5) et 4 gouttes de l'indicateur mixte (5.8). Mélanger. Placer la fiole conique sous le réfrigérant (6.4) de manière que l'extrémité du tube à dégagement (6.5) plonge dans la solution d'acide borique. À l'aide d'une éprouvette graduée (6.8), introduire, dans le ballon de Kjeldahl, 80 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (5.6). Pendant cette opération, tenir le ballon incliné de manière que la solution d'hydroxyde de sodium coule le long de la paroi et forme une couche à la partie inférieure du ballon.

Relier immédiatement le ballon de Kjeldahl au réfrigérant par l'intermédiaire du déflegmateur (6.6).

Mélanger le contenu du ballon de Kjeldahl en imprimant un léger mouvement de rotation au ballon. Chauffer et porter

progressivement à l'ébullition, en évitant soigneusement toute formation de mousse. Poursuivre la distillation de manière à recueillir 150 ml de distillat en environ 30 min. La température du distillat doit être inférieure à 25 °C. Environ 2 min avant la fin de la distillation, abaisser la fiole conique de manière que l'extrémité du tube à dégagement ne plonge plus dans la solution acide, et rincer l'extrémité inférieure avec un peu d'eau. Arrêter le chauffage, enlever le tube à dégagement, et en rincer les parois intérieure et extérieure avec un peu d'eau, en recueillant les eaux de rinçage dans la fiole conique.

8.5.3 Titrer le distillat dans la fiole conique à l'aide de la solution titrée d'acide chlorhydrique (5.7).

9 EXPRESSION DES RÉSULTATS

9.1 Mode de calcul et formule

9.1.1 La teneur en protéines de l'échantillon, exprimée en pourcentage en masse, est égale à

$$\frac{(V_1 - V_2) \times T \times 1,4}{m} \times 6,38$$

$$= \frac{8,932 (V_1 - V_2) \times T}{m}$$

où

V_1 est le volume, en millilitres, de la solution titrée d'acide chlorhydrique (5.7), utilisé pour la détermination (8.5);

V_2 est le volume, en millilitres, de la solution titrée d'acide chlorhydrique (5.7), utilisé pour l'essai à blanc (8.3);

T est la normalité de la solution titrée d'acide chlorhydrique (5.7);

m est la masse, en grammes, de la prise d'essai.

Calculer la teneur en protéines à 0,1 % près.

9.1.2 Pour calculer la teneur en protéines de l'échantillon en pourcentage en masse par rapport à la matière sèche, multiplier le résultat obtenu selon 9.1.1 par

$$\frac{100}{100 - M}$$

où M est la teneur en eau de l'échantillon, déterminée selon l'ISO 5550.

9.2 Fidélité

9.2.1 Répétabilité

La différence entre deux résultats individuels, obtenus sur un produit identique soumis à essai, par le même analyste utilisant le même appareillage, dans un court intervalle de temps, ne doit pas dépasser 0,5 g de protéines pour 100 g de produit tel quel en moyenne plus d'une fois sur 20 dans l'application normale et correcte de la méthode.

9.2.2 Reproductibilité

La différence entre deux résultats individuels et indépendants, obtenus par deux opérateurs travaillant dans des laboratoires différents sur un produit identique soumis à essai, ne doit pas dépasser 1,0 g de protéines pour 100 g de produit tel quel en moyenne plus d'une fois sur 20 dans l'application normale et correcte de la méthode.

10 PROCÈS-VERBAL D'ESSAI

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et les résultats obtenus. Il doit, en outre, mentionner tous les détails opératoires non prévus dans la présente Norme internationale, ou facultatifs, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur les résultats.

Le procès-verbal d'essai doit donner tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 5549:1978

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4bac546b-40bc-450f-ac17-e683e411cb98/iso-5549-1978>

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 5549:1978

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4bac546b-40bc-450f-ac17-e683e411cb98/iso-5549-1978>

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 5549:1978

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4bac546b-40bc-450f-ac17-e683e411cb98/iso-5549-1978>