
**Céréales et légumineuses —
Détermination de la teneur en azote et
calcul de la teneur en protéines brutes —
Méthode de Kjeldahl**

*Cereals and pulses — Determination of the nitrogen content and
calculation of the crude protein content — Kjeldahl method*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 20483:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c0b813f6-7925-411d-8e65-628b92f146de/iso-20483-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c0b813f6-7925-411d-8e65-628b92f146de/iso-20483-2006>



PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 20483:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c0b813f6-7925-411d-8e65-628b92f146de/iso-20483-2006>

© ISO 2006

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, 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 et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax. + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	2
5 Réactifs	2
6 Appareillage	3
7 Échantillonnage	3
8 Préparation de l'échantillon pour essai	3
9 Détermination de la teneur en eau	4
10 Mode opératoire	4
10.1 Généralités	4
10.2 Prise d'essai	4
10.3 Détermination	4
10.4 Essai à blanc	5
10.5 Essai avec matériau de référence (Essai de contrôle)	5
11 Expression des résultats	5
11.1 Teneur en azote	5
11.2 Teneur en protéines brutes	6
12 Fidélité	6
12.1 Essai interlaboratoires	6
12.2 Répétabilité	6
12.3 Reproductibilité	6
12.4 Différence critique	7
13 Rapport d'essai	7
Annexe A (informative) Résultats des essais interlaboratoires	8
Annexe B (informative) Différence critique et application pratique des limites de répétabilité et de reproductibilité à différentes teneurs en protéines	10
Annexe C (informative) Facteurs permettant de convertir une teneur en azote en teneur en protéines	12
Bibliographie	13

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 (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

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.

L'ISO 20483 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 4, *Céréales et légumineuses*.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 20483:2006
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c0b813f6-7925-411d-8e65-628b92f146de/iso-20483-2006>

Céréales et légumineuses — Détermination de la teneur en azote et calcul de la teneur en protéines brutes — Méthode de Kjeldahl

AVERTISSEMENT — L'utilisation de cette norme implique l'utilisation d'équipements et de réactifs dangereux. Cette norme ne prétend pas mettre en garde contre tous les problèmes de sécurité associés à son utilisation. Il est de la responsabilité de l'utilisateur de cette norme d'établir les consignes de sécurité nécessaires en accord avec la réglementation en vigueur avant son utilisation.

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode pour la détermination de la teneur en azote des céréales, des légumineuses et des produits dérivés, selon la méthode de Kjeldahl, ainsi qu'une méthode de calcul de la teneur en protéines brutes.

La méthode ne fait pas la distinction entre l'azote protéique et l'azote non protéique. S'il importe de déterminer la teneur en azote non protéique, on peut appliquer une méthode appropriée.

NOTE Dans certains cas, il est impossible de récupérer la totalité de l'azote des nitrates et nitrites par cette méthode.

2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 712, *Céréales et produits céréaliers — Détermination de la teneur en eau — Méthode de référence pratique*

ISO 6540, *Mais — Détermination de la teneur en eau (sur grains broyés et sur grains entiers)*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

3.1

teneur en azote

quantité d'azote déterminée après l'application du mode opératoire décrit dans le présent document

NOTE Elle est exprimée en fraction massique de produit sec, en pourcentage.

3.2

teneur protéines brutes

quantité de protéines brutes obtenue à partir de la teneur en azote telle que déterminée en appliquant la méthode décrite dans le présent document, calculée en multipliant cette teneur par un facteur approprié selon le type de céréale ou de légumineuse

NOTE Elle est exprimée en fraction massique de produit sec, en pourcentage.

4 Principe

Minéralisation d'une prise d'essai par l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur, alcalinisation des produits de la réaction, distillation et récupération de l'ammoniac libéré dans une solution d'acide borique, qui est titré par une solution d'acide sulfurique. Détermination de la teneur en azote et calcul de la teneur en protéines brutes.

5 Réactifs

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue exempts d'azote, excepté les matériaux de référence, et de l'eau distillée ou de l'eau déminéralisée ou de pureté équivalente.

AVERTISSEMENT — Les réactifs décrits en 5.4, 5.8, 5.11 et 5.12 doivent être manipulés avec précaution.

5.1 Sulfate de potassium (K_2SO_4).

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

5.3 Oxyde de titane (TiO_2).

5.4 Acide sulfurique $c(H_2SO_4) = 18 \text{ mol/l}$, $\rho_{20}(H_2SO_4) = 1,84 \text{ g/ml}$.

5.5 Huile de paraffine.

5.6 Acétanilide (C_8H_9NO), ayant un point de fusion de $114 \text{ }^\circ\text{C}$ et une teneur en azote de $10,36 \text{ g/100 g}$.

5.7 Tryptophane ($C_{11}H_{12}N_2O_2$), ayant un point de fusion de $282 \text{ }^\circ\text{C}$ et une teneur en azote de $13,72 \text{ g/100 g}$.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c0b813f6-7925-411d-8e65-628b92f146de/iso-20483-2006>

5.8 Di-phosphore pentaoxyde (P_2O_5).

5.9 Solution aqueuse d'acide borique, $\rho_{20}(H_3BO_3) = 40 \text{ g/l}$, ou toute autre concentration préconisée pour l'appareillage utilisé.

5.10 Indicateur coloré

Mélanger la Solution A (5.10.1) et la Solution B (5.10.2) selon la proportion requise pour l'appareil utilisé (par exemple: 5 volumes de Solution A pour 1 volume de Solution B).

NOTE 1 Il est possible d'utiliser une solution d'acide borique prête à l'emploi, contenant l'indicateur coloré (5.9 + 5.10).

NOTE 2 Le rapport des Solutions A et B peut être ajusté en fonction de l'appareil utilisé.

La titration peut également être réalisée potentiométriquement en utilisant une électrode de pH qui doit être vérifiée quotidiennement.

5.10.1 Solution A

Vert de bromocrésol ($C_{21}H_{14}Br_4O_5S$): 200 mg.

Éthanol (C_2H_5OH), à 95 % (fraction volumique): quantité suffisante pour 100 ml de solution.

5.10.2 Solution B

Rouge de méthyle ($C_{15}H_{15}N_3O_2$): 200 mg.

Éthanol (C_2H_5OH), à 95 % (fraction volumique): quantité suffisante pour 100 ml de solution.

5.11 Hydroxyde de sodium (NaOH), solution aqueuse ayant une fraction massique de 33 % ou une fraction massique de 40 %, avec une teneur en azote inférieure ou égale à 0,001 %.

De l'hydroxyde de sodium de qualité technique peut également être utilisé si sa teneur en azote est inférieure ou égale à 0,001 %.

5.12 Acide sulfurique, solution titrée, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,05 \text{ mol/l}$.

L'utilisation de H_2SO_4 est recommandée plutôt que celle de HCl car H_2SO_4 n'a pas tendance à produire des bulles dans les tubes de raccordement.

5.13 Sulfate d'ammonium, solution titrée, $c(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 = 0,05 \text{ mol/l}$.

Un sel de type $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ peut également être utilisé.

5.14 Pierre ponce, en granulés, lavée à l'acide chlorhydrique et passée à la flamme.

5.15 Saccharose (optionnel), exempt d'azote.

6 Appareillage

6.1 Broyeur mécanique.

6.2 Tamis, de 0,8 mm d'ouverture de maille.

6.3 Balance analytique, capable de peser à 0,001 g près.

6.4 Appareillage pour la minéralisation, la distillation et le titrage.

Il convient de s'assurer de l'homogénéité du bloc de minéralisation en réalisant sa géographie thermique.

Il convient de s'assurer de l'homogénéité de température du bloc de minéralisation en réalisant un essai complet avec un des deux matériaux de référence (5.6 ou 5.7). La conformité de cette vérification sera évaluée au regard du taux de récupération de l'azote de ces molécules.

Il convient également de vérifier l'appareil à distiller en procédant à la distillation d'une quantité connue d'un sel d'ammonium [par exemple 10 ml d'une solution de sulfate d'ammonium (5.13)], et en contrôlant que le taux de récupération est bien supérieur ou égal à 99,8 %.

7 Échantillonnage

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif, non endommagé ou modifié lors du transport et de l'entreposage.

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente Norme Internationale. Des méthodes d'échantillonnage recommandées sont données dans l'ISO 6644 et l'ISO 13690.

8 Préparation de l'échantillon pour essai

Si nécessaire, broyer l'échantillon de telle sorte qu'il passe en totalité au travers d'un tamis de 0,8 mm d'ouverture de maille. Pour les graines, une masse d'au moins 200 g doit être broyée. Bien mélanger l'échantillon broyé.

9 Détermination de la teneur en eau

Déterminer la teneur en eau (w_H) de l'échantillon pour essai à partir d'une fraction aliquote de l'échantillon préparé selon l'Article 8. Réaliser la détermination en suivant la méthode appropriée au produit soumis à l'essai (par exemple ISO 712 pour les céréales et produits céréaliers, ISO 6540 pour le maïs, ou encore la méthode décrite dans la Référence [10] pour certaines légumineuses).

10 Mode opératoire

10.1 Généralités

S'il est demandé de vérifier que l'on satisfait aux exigences données en ce qui concerne la limite de répétabilité (12.2), effectuer deux déterminations séparées conformément à 10.2 jusqu'à 10.5.

10.2 Prise d'essai

Peser, à 0,001 g près, une masse de l'échantillon pour essai préparé selon l'Article 8, choisie en fonction de la teneur présumée en azote, de façon que la prise d'essai contienne entre 0,005 g et 0,2 g d'azote et, de préférence, plus de 0,02 g.

10.3 Détermination

10.3.1 Minéralisation

iTeh STANDARD PREVIEW

AVERTISSEMENT — Il convient d'effectuer les opérations suivantes sous une hotte bien ventilée résistante à l'acide sulfurique.

Introduire la prise d'essai (10.2) dans le tube de minéralisation, ajouter ensuite

- 10 g de sulfate de potassium (5.1),
- 0,30 g de sulfate de cuivre(II) pentahydraté (5.2),
- 0,30 g de d'oxyde de titane (5.3) (un catalyseur en pastilles correspondant à la composition décrite peut être utilisé),
- 20 ml d'acide sulfurique (5.4).

La quantité d'acide peut être modulée en fonction de l'appareillage, mais seulement après s'être assuré que cette disposition conduit bien à un taux de récupération de 99,5 % pour l'acétanilide et de 99,0 % pour le tryptophane.

Mélanger soigneusement de manière à assurer un mouillage complet de la prise d'essai.

Placer les tubes dans le bloc de minéralisation préchauffé à (420 ± 10) °C.

Après un minimum de 2 h de minéralisation, compté à partir du moment où la température est revenue à (420 ± 10) °C, laisser refroidir.

NOTE Il peut être utile d'ajouter de la pierre ponce (5.14) comme régulateur d'ébullition et un antimousse tel que l'huile de paraffine (5.5).

Le temps de minéralisation minimal doit être testé sur le matériau de référence le plus difficile à minéraliser afin d'obtenir le taux de recouvrement spécifié (voir 10.5).

Suivre les recommandations du constructeur du matériel en ce qui concerne l'évacuation des vapeurs car une trop forte aspiration peut entraîner une perte d'azote.

10.3.2 Distillation

Dans le tube refroidi, ajouter avec précaution 50 ml d'eau, et laisser refroidir. Introduire dans le flacon collecteur 50 ml d'acide borique (5.9) et, dans le cas d'un dosage colorimétrique (visuel ou par sonde optique), au moins 10 gouttes d'indicateur coloré (5.10).

Ajouter un **excédent** de 5 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (5.11) nécessaire pour neutraliser la quantité d'acide sulfurique mise en œuvre. Procéder ensuite à la distillation.

En fonction du matériel, les quantités de réactifs utilisées peuvent être variables.

10.3.3 Titrage

Le titrage peut être réalisé à l'aide de la solution d'acide sulfurique (5.12) soit en continu en cours de distillation, soit en fin de distillation sur l'ensemble du distillat.

La détermination du point d'équivalence peut être réalisée par colorimétrie visuelle, colorimétrie automatique ou par pHmétrie.

10.4 Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc avec les réactifs utilisés de 10.3.1 à 10.3.3 en omettant la prise d'essai (10.2).

NOTE Éventuellement, remplacer la prise d'essai par 1 g de saccharose (5.15).

10.5 Essai avec matériau de référence (Essai de contrôle)

Sécher le (les) matériau(x) de référence utilisé(s) à une température comprise entre 60 °C et 80 °C, sous vide, en présence de *di*-phosphore pentaoxyde (5.8).

Effectuer un essai de contrôle sur une prise d'essai de 0,15 g minimum, en déterminant la teneur en azote du tryptophane (5.7) et/ou de l'acétanilide (5.6).

NOTE Éventuellement, il est possible d'ajouter 1 g saccharose (5.15) au matériau de référence.

Le taux de récupération de l'azote doit être au moins de 99,5 % à partir de l'acétanilide et d'au moins 99,0 % à partir du tryptophane.

11 Expression des résultats

11.1 Teneur en azote

La teneur en azote, w_N , exprimée en fraction massique de produit sec, en pourcentage, est obtenue à l'aide de l'équation suivante:

$$w_N = \frac{(V_1 - V_0) \times T \times 0,014 \times 100}{m} \times \frac{100}{100 - w_H} = \frac{140 T (V_1 - V_0)}{m(100 - w_H)}$$

où

V_0 est le volume, en millilitres, de la solution d'acide sulfurique (5.12) nécessaire pour l'essai à blanc;

V_1 est le volume, en millilitres, de la solution d'acide sulfurique (5.12) nécessaire pour la prise d'essai;

0,014 est l'expression, en grammes, de la quantité d'azote équivalant à l'utilisation de 1 ml d'une solution d'acide sulfurique 0,5 mol/l;