
**Riz — Détermination de la teneur en
amylose —**

**Partie 1:
Méthode de référence**

Rice — Determination of amylose content —

Part 1: Reference method
iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 6647-1:2015

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3ba25934-1675-4972-90de-dbffcd5fb83c/iso-6647-1-2015>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 6647-1:2015

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3ba25934-1675-4972-90de-dbfcd5fb83c/iso-6647-1-2015>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2015

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
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	1
5 Réactifs	1
6 Appareillage	2
7 Échantillonnage	3
8 Mode opératoire	3
8.1 Préparation des échantillons pour essai.....	3
8.2 Prise d'essai et préparation des solutions.....	3
8.3 Déramification visant à obtenir des chaînes linéaires d'amidon.....	3
8.4 Essai à blanc.....	3
8.5 Conditions de fonctionnement du chromatographe par exclusion stérique.....	3
8.6 Calcul de la teneur en amylose.....	4
9 Expression des résultats	4
10 Fidélité	4
10.1 Essai interlaboratoires.....	4
10.2 Répétabilité.....	4
10.3 Reproductibilité.....	5
11 Rapport d'essai	5
Annexe A (informative) Résultats de l'essai interlaboratoires	6
Bibliographie	8

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](http://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3ba25934-1675-4972-90de-d18fd5fb83c/iso-6647-1-2015).

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est l'ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 4, *Céréales et légumineuses*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 6647-1:2007) dont elle constitue une révision mineure.

L'ISO 6647 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Riz — Détermination de la teneur en amylose*:

- *Partie 1: Méthode de référence*
- *Partie 2: Méthodes de routine*

Riz — Détermination de la teneur en amylose —

Partie 1: Méthode de référence

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 6647 spécifie une méthode de référence pour la détermination de valeurs de référence des étalons utilisés afin de tracer une courbe d'étalonnage, en vue de déterminer la teneur en amylose du riz usiné et non étuvé, dans une plage allant de 0 % à 30 %.

2 Références normatives

Aucune référence normative n'est citée dans ce document.

3 Termes et définitions

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

3.1 amylose

molécules constituées de chaînes linéaires, contenant plus de 200 unités de glucose reliées

[ISO 6647-1:2015](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3ba25934-1675-4972-90de-dbf8cd5fb83c/iso-6647-1-2015)

3.2 amylopectine

molécules constituées de ramifications, contenant entre 6 et 100 unités de glucose reliées

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3ba25934-1675-4972-90de-dbf8cd5fb83c/iso-6647-1-2015>

3.3 riz gluant

riz gluant dont la longueur des chaînes présentes ne permet pas de considérer celles-ci comme constituant de l'amylose

4 Principe

Les chaînes linéaires d'amidon sont séparées en fonction du volume hydrodynamique et de la masse molaire, à l'aide d'un chromatographe par exclusion stérique.^[2] La farine est gélatinisée dans une solution d'hydroxyde de sodium, puis les ramifications reliant les molécules d'amidon et l'isoamylose contenus dans la solution sont rompues.^{[1][2]} Les chaînes linéaires sont ensuite rompues par chromatographie par exclusion stérique et la proportion des chaînes d'amylose est calculée à partir de l'aire des pics d'amylose issus de la réponse du détecteur.

5 Réactifs

Tous les réactifs utilisés doivent être de qualité analytique reconnue et l'eau utilisée doit être distillée, déminéralisée ou de pureté équivalente.

5.1 Éthanol, d'une fraction volumique de 95 %.

5.2 Hydroxyde de sodium, solution à 0,25 mol/l.

5.3 Acide acétique glacial.

5.4 Solution tampon d'acétate de sodium, d'une concentration de 0,2 mol/l, amenée à pH4 en utilisant de l'acide acétique glacial. Mélanger 10 ml de solution tampon avec 360 µl supplémentaires d'acide acétique glacial.

5.5 Isoamylose.

5.6 Lit mélangé de résines échangeuses d'ions, par exemple AG 501-X8 ou Bio-Rex MSZ 501(D)¹⁾.

5.7 Éluant d'acétate d'ammonium, d'une concentration de 0,05 mol/l et ayant un pH de 4,75.

6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et, en particulier, ce qui suit.

6.1 Agitateur et agitateurs magnétiques.

6.2 Plaque chauffante.

6.3 Microcentrifugeuse.

6.4 Tubes pour microcentrifugeuse, d'une capacité de 2,0 ml.

6.5 Flacons à scintillation, d'une capacité de 20 ml.

6.6 Agitateur vortex. <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3ba25934-1675-4972-90de-dbffcd5fb83c/iso-6647-1-2015>

6.7 Bains d'eau, permettant de maintenir une température de 50 °C et d'atteindre le point d'ébullition.

6.8 Balance analytique, pouvant peser à 0,000 1 g près.

6.9 Pipettes et micropipettes, ayant une contenance de 0,2 ml, 1 ml, 5 ml et 10 ml.

6.10 Seringue, d'une contenance de 25 µl.

6.11 Chromatographe par exclusion stérique équipé d'un détecteur d'indice de réfraction.

6.12 Colonne pour chromatographe par exclusion stérique, adaptée à la séparation des chaînes ayant un poids moléculaire inférieur à 1 620 000 unités.

6.13 Broyeur, permettant de réduire le riz usiné non cuit en farine qui passera à travers un tamis ayant une ouverture de maille de 150 µm à 180 µm (80 à 100 Mesh). Il est recommandé d'utiliser un filtre cyclone avec un tamis de 0,5 mm.

6.14 Tamis, ayant une ouverture de maille de 150 µm à 180 µm (80 à 100 Mesh).

1) AG 501-X8 et Bio-Rex MSZ 501 (D) sont des exemples de produits appropriés disponibles sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif de ces produits ainsi désignés.

7 Échantillonnage

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif, n'ayant été ni endommagé, ni modifié lors du transport ou du stockage.

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente partie de l'ISO 6647. Il est recommandé de suivre la méthode d'échantillonnage indiquée dans l'ISO 24333.

8 Mode opératoire

8.1 Préparation des échantillons pour essai

L'étalonnage est effectué en utilisant 300 g de farine pour chacun des cinq étalons de variétés spécifiques²⁾, chaque étalon portant un des cinq allèles du gène cireux, qui est responsable de la synthèse de l'amylose.

Pour chaque échantillon, broyer au moins 10 g de riz usiné à l'aide du broyeur (6.13) jusqu'à l'obtention d'une farine très fine pouvant passer à travers le tamis (6.14).

8.2 Prise d'essai et préparation des solutions

Pour chaque échantillon pour essai, peser trois échantillons de $50 \text{ mg} \pm 0,5 \text{ mg}$ chacun, dans des flacons à scintillation (6.5) en verre de masse connue. Ajouter doucement un petit agitateur magnétique (6.1), ainsi que 0,5 ml d'éthanol (5.1) à l'aide d'une pipette (6.9), en veillant à rincer les éventuelles fractions de l'échantillon pour essai qui adhèrent aux parois des flacons. Remuer doucement afin de mouiller entièrement l'échantillon. Ajouter 2,0 ml de solution d'hydroxyde de sodium (5.2) à l'aide d'une pipette et mélanger. Disperser entièrement l'amidon en faisant bouillir doucement le mélange sur une plaque chauffante (6.2) pendant environ 10 min et en veillant à ce qu'il ne déborde pas. Lorsque la solution devient limpide (environ 10 min de bouillonnement), l'enlever de la plaque chauffante. Peser chaque flacon et ajuster la masse à 4 g avec de l'eau chauffée entre 60 °C et 70 °C.

8.3 Déramification visant à obtenir des chaînes linéaires d'amidon

Transvaser 800 µl de chaque solution gélatinisée dans un tube à microcentrifugeuse (6.4) à l'aide d'une pipette appropriée (6.9). Ajouter 200 µl de solution tampon d'acétate de sodium (5.4). À l'aide de la seringue (6.10), ajouter 2,5 unités d'activité (U) d'isoamylose. Mélanger soigneusement au moyen de l'agitateur vortex (6.6). Incuber le mélange dans un bain d'eau (6.7) à 50 °C pendant 2 h, en agitant toutes les demi-heures, puis le faire bouillir pendant 5 min pour dénaturer l'isoamylose. Prélever le surnageant et l'introduire dans un tube à microcentrifugeuse propre en y ajoutant environ 0,1 g de résine échangeuse d'ions (5.6). Incuber à 50 °C pendant 30 min, puis centrifuger. Prélever soigneusement le surnageant et l'introduire dans un tube à microcentrifugeuse propre. L'échantillon peut ensuite être injecté dans le chromatographe par exclusion stérique (6.11). Il convient de réaliser cette injection le jour même de la préparation.

8.4 Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc en parallèle, en suivant le même mode opératoire et en utilisant la même quantité pour tous les réactifs, conformément aux indications du 8.2 et du 8.3, mais en utilisant 800 µl de solution d'hydroxyde de sodium (5.2) qui ne contiennent pas d'amidon gélatinisé.

8.5 Conditions de fonctionnement du chromatographe par exclusion stérique

Il convient que le chromatographe par exclusion stérique (6.11) comporte un module de séparation, un détecteur d'indice de réfraction, un logiciel et une colonne adaptée (6.12). Si un injecteur automatique

2) Il est possible d'obtenir des étalons de farines de riz en s'adressant à l'International Rice Research Institute, DAPO 7777, Metro Manila, Philippines. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif des produits ainsi désignés. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

est utilisé, il est préférable que celui-ci comporte un dispositif de chauffage d'échantillons afin de maintenir à 40 °C les échantillons d'amidon déramifiés. Veiller à amorcer le système et les seringues d'injection du chromatographe par exclusion stérique, à purger l'injecteur, à nettoyer les dispositifs de fermeture et à équilibrer la colonne conformément aux instructions de fonctionnement du fabricant du chromatographe par exclusion stérique et de la colonne.

Pour effectuer l'analyse de l'amidon, il convient que le débit de l'éluant (5.7) soit de 0,5 ml/min dans une colonne à exclusion (6.12) d'une taille suffisante. La température de la colonne (6.12) est maintenue à 60 °C. Les échantillons peuvent être injectés une fois que la colonne est étalonnée et que la ligne de base du détecteur d'indice de réfraction (6.11) est stable. Chaque échantillon et chaque blanc est analysé pendant 40 min.

8.6 Calcul de la teneur en amylose

Une fois que les séries de chromatographie par exclusion stérique sont terminées, identifier le pic correspondant aux chaînes d'amylose en fonction du pic manquant pour l'échantillon de riz gluant et qui ne doit pas contenir d'amylose. Après avoir résolu les problèmes concernant la ligne de base et après avoir normalisé la réponse du détecteur, calculer l'aire des pics attribués à l'amidon, puis calculer l'aire du pic attribué aux chaînes d'amylose. Déterminer la teneur, en pourcentage, en amylose à l'aide de la formule suivante:

$$A = \frac{Sa}{St} \times 100 \quad \% \quad (1)$$

où

iTeh STANDARD PREVIEW

A est la teneur en amylose, en pourcentage;

Sa est l'aire du pic de l'amylose;

St est l'aire totale des pics d'amidon.

ISO 6647-1:2015

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3ba25934-1675-4972-90de-dbfcd5fb83c/iso-6647-1-2015>

9 Expression des résultats

Le pic de l'amylose est identifié par comparaison avec les pics correspondant à une variété de riz gluant issus d'une chromatographie par exclusion stérique parce que ces variétés ne contiennent pas d'amylose. La teneur en amylose est calculée pour les trois éprouvettes identiques issues de chacun des cinq échantillons différents, puis la moyenne arithmétique des trois valeurs obtenues pour chaque échantillon est considérée comme la teneur en amylose. Il convient de répéter les étapes du mode opératoire à partir du 8.1 pour toute analyse produisant des résultats qui varient de manière importante par rapport aux autres.

10 Fidélité

10.1 Essai interlaboratoires

Les détails d'un essai interlaboratoires international relatif à la fidélité de la méthode sont récapitulés à l'Annexe A. Les valeurs obtenues à partir de cet essai peuvent ne pas être applicables à des plages de concentration et à des matrices autres que celles indiquées.

10.2 Répétabilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels indépendants, obtenus à l'aide de la même méthode sur un matériau identique soumis à l'essai dans le même laboratoire par le même opérateur utilisant le même appareillage dans un court intervalle de temps, ne dépassera que dans 5 % des cas au plus la limite de répétabilité *r* (la valeur de *r* est déduite des résultats de l'essai interlaboratoires).

10.3 Reproductibilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels indépendants, obtenus à l'aide de la même méthode, sur un matériau identique soumis à l'essai dans différents laboratoires, avec différents opérateurs utilisant un appareillage différent, ne dépassera la limite de reproductibilité R que dans 5 % des cas au plus (la valeur de R est déduite des résultats de l'essai interlaboratoires).

11 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit préciser les informations suivantes:

- a) toutes les informations nécessaires à l'identification complète de l'échantillon;
- b) la méthode d'échantillonnage utilisée;
- c) la méthode d'essai utilisée, avec une référence à la présente partie de l'ISO 6647 (c'est-à-dire ISO 6647-1);
- d) tous les détails opératoires non spécifiés dans la présente partie de l'ISO 6647, ou considérés comme facultatifs, ainsi que les détails de tous les incidents susceptibles d'avoir influé sur le ou les résultats d'essai;
- e) le ou les résultats d'essai obtenus ou, en cas de vérification de la répétabilité, le résultat final indiqué.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 6647-1:2015](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3ba25934-1675-4972-90de-dbfcd5fb83c/iso-6647-1-2015)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3ba25934-1675-4972-90de-dbfcd5fb83c/iso-6647-1-2015>