
**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 Standards

(<https://standards.iteh.ai>)

Document Preview

[ISO 20483:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/86350c42-b475-427b-b7b5-5a5772ed21cd/iso-20483-2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/86350c42-b475-427b-b7b5-5a5772ed21cd/iso-20483-2013>



iTeh Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

[ISO 20483:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/86350c42-b475-427b-b7b5-5a5772ed21cd/iso-20483-2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/86350c42-b475-427b-b7b5-5a5772ed21cd/iso-20483-2013>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2013

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	2
5 Réactifs	2
6 Appareillage	3
7 Échantillonnage	3
8 Préparation de l'échantillon pour essai	4
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	6
11.1 Teneur en azote.....	6
11.2 Teneur en protéines brutes.....	6
12 Fidélité	6
12.1 Essai interlaboratoires.....	6
12.2 Répétabilité.....	6
12.3 Reproductibilité.....	7
12.4 Différence critique.....	7
13 Rapport d'essai	8
Annexe A (informative) Résultats des essais interlaboratoires	9
Annexe B (informative) Différence critique et application pratique des limites de répétabilité et de reproductibilité à différentes teneurs en protéines	11
Annexe C (informative) Facteurs permettant de convertir la teneur en azote en teneur en protéines	13
Bibliographie	14

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 procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/CEI, 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/CEI, Partie 2, 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 sur la liste ISO des déclarations de brevets reçues, www.iso.org/brevets.

Les éventuelles appellations commerciales utilisées dans le présent document sont données pour information à l'intention des utilisateurs et ne constituent pas une approbation ou une recommandation.

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 20483:2006), qui a fait l'objet d'une révision technique.

[ISO 20483:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/86350c42-b475-427b-b7b5-5a5772ed21cd/iso-20483-2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/86350c42-b475-427b-b7b5-5a5772ed21cd/iso-20483-2013>

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

AVERTISSEMENT — L'utilisation de la présente Norme internationale peut impliquer l'emploi de produits et la mise en œuvre de modes opératoires et d'appareillages à caractère dangereux. La présente Norme internationale n'a pas pour but d'aborder tous les problèmes de sécurité liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur de la présente Norme internationale d'établir, avant de l'utiliser, des pratiques d'hygiène et de sécurité appropriées et de déterminer l'applicabilité des restrictions réglementaires.

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, une méthode appropriée est à appliquer.

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 suivants, en tout ou partie, sont référencés de manière normative dans le présent document et sont indispensables pour son application. 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*

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

ISO 24557, *Légumineuses — Détermination de la teneur en eau — Méthode par séchage à l'étuve*

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

Note 1 à l'article: Elle est exprimée en fraction massique de produit sec, en pourcentage.

3.2

teneur en protéines brutes

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

Note 1 à l'article: 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 afin de déterminer la teneur en azote et de calculer la teneur en protéines brutes.

5 Réactifs

AVERTISSEMENT — Les réactifs décrits en [5.3](#), [5.8](#), [5.9](#) et [5.13](#) doivent être manipulés avec précaution.

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

5.2 Pastilles de Kjeldahl, correspondant à la composition suivante: sulfate de cuivre(II) pentahydraté ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) = 2,8 %, oxyde de titane (TiO_2) = 2,8 % et sulfate de potassium (K_2SO_4) = 94,3 %.

Le sulfate de cuivre(II) pentahydraté, l'oxyde de titane et le sulfate de potassium peuvent également être mélangés selon les taux correspondants.

5.3 Acide sulfurique, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 18 \text{ mol/l}$, $\rho_{20}(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1,84 \text{ g/ml}$.

5.4 Agent antimousse: l'huile de paraffine, la silicone ou même des pastilles antimousses peuvent être utilisées pour éviter la mousse.

5.5 Acéтанilide ($\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}$) ou tryptophane ($\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$), d'une concentration minimale de 99 % (fraction massique).

5.6 Solution aqueuse d'acide borique, $\rho_{20}(\text{H}_3\text{BO}_3) = 40 \text{ g/l}$, ou toute autre concentration préconisée pour l'appareillage utilisé.

5.7 Indicateur coloré.

Mélanger la Solution A ([5.7.1](#)) et la Solution B ([5.7.2](#)) selon la proportion requise pour l'appareil utilisé (par exemple: 5 volumes de Solution A pour 1 volume de Solution B), ou tout autre indicateur coloré recommandé pour l'appareillage utilisé.

NOTE 1 Il est possible d'utiliser une solution d'acide borique prête à l'emploi, contenant l'indicateur coloré ([5.7.1](#) + [5.7.2](#)).

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.

5.7.1 Solution A.

Vert de bromocrésol ($\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Br}_4\text{O}_5\text{S}$): 200 mg.

Éthanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), à 95 % (fraction volumique): quantité suffisante pour 100 ml de solution.

5.7.2 Solution B.

Rouge de méthyle ($\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$): 200 mg.

Éthanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), à 95 % (fraction volumique): quantité suffisante pour 100 ml de solution.

5.8 Hydroxyde de sodium, (NaOH), solution aqueuse ayant une fraction massique comprise entre 30 % et 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 %.

5.9 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.

5.10 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.

5.11 Pierre ponce, en granulés, lavée à l'acide chlorhydrique et passée à la flamme, ou des billes de verre d'ébullition peuvent être utilisées pour éviter des projections.

5.12 Saccharose (optionnel), exempt d'azote.

5.13 Pentaoxyde de phosphore (P_2O_5).

6 Appareillage

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

6.1 Broyeur mécanique.

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

6.3 Balance analytique, précise à 0,001 g près.

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

Il convient de s'assurer de la répartition homogène de la température du bloc de minéralisation.

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 (5.5) et en tenant compte des taux de récupération obtenus.

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 (5.10)], et en contrôlant que le taux de récupération est supérieur ou égal à 99,8 %.

7 Échantillonnage

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 24333.

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

8 Préparation de l'échantillon pour essai

Si nécessaire, broyer l'échantillon de sorte qu'il passe en totalité au travers d'un tamis de 0,8 mm d'ouverture de maille. Pour les graines, il convient de broyer une masse d'au moins 200 g. 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 essai (par exemple l'ISO 712 pour les céréales et produits céréaliers, l'ISO 6540 pour le maïs, la méthode citée en Référence [8] et ayant été utilisée dans l'essai interlaboratoires pour certaines légumineuses ou l'ISO 24557 pour les 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

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 le nombre nécessaire de pastilles de catalyseur (5.2) contenant 10 g de sulfate de potassium, 0,30 g de sulfate de cuivre(II) pentahydraté et 0,30 g d'oxyde de titane. Terminer par l'ajout de 20 ml d'acide sulfurique (5.3).

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 est recommandé d'ajouter de la pierre ponce ou des billes de verre d'ébullition (5.11) comme régulateur d'ébullition et l'agent antimousse (5.4).

Le temps de minéralisation minimal doit être soumis à essai sur le matériau de référence le plus difficile à minéraliser afin d'obtenir le taux de récupération 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 (5.6) et, dans le cas d'un dosage colorimétrique (visuel ou par sonde optique), au moins 10 gouttes d'indicateur coloré (5.7).

Ajouter un **excédent** de 5 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (5.8) 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 varier.

10.3.3 Titrage

Effectuer le titrage à l'aide de la solution d'acide sulfurique (5.9) 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 pH-métrie.

10.4 Essai à blanc

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

NOTE Éventuellement, remplacer la prise d'essai par 1 g de saccharose (5.12).

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 pentaoxyde de diphosphore (5.13).

Effectuer un essai de contrôle sur une prise d'essai de 0,15 g minimum, en déterminant la teneur en azote du tryptophane et/ou de l'acétanilide (5.5).

NOTE Éventuellement, il est possible d'ajouter 1 g de saccharose (5.12) 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 la Formule (1):

$$w_N = \frac{(V_1 - V_0) \times T \times 0,014 \times 100}{m} \times \frac{100}{100 - w_H} = \frac{140 T (V_1 - V_0)}{m(100 - w_H)} \quad (1)$$

où

V_0 est le volume, en millilitres, de la solution d'acide sulfurique (5.9) nécessaire pour l'essai à blanc;

V_1 est le volume, en millilitres, de la solution d'acide sulfurique (5.9) 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;

T est la normalité de la solution d'acide sulfurique utilisée lors du titrage;

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

w_H est la teneur en eau déterminée conformément à l'Article 9.

Exprimer le résultat avec deux décimales.

11.2 Teneur en protéines brutes

Calculer la teneur en protéines brutes du produit sec en multipliant la valeur obtenue lors de la détermination de la teneur en azote (11.1) par un facteur de conversion adapté au type de céréales ou de légumineuses et à leur utilisation.

Exprimer le résultat avec une décimale.

NOTE Quelques facteurs de conversion utilisés pour les céréales sont donnés en Annexe C. Pour les autres, on utilise généralement 6,25.

12 Fidélité

12.1 Essai interlaboratoires

Les détails des essais interlaboratoires sur la fidélité de la méthode sont présentés dans l'Annexe A. Les valeurs dérivées de ces essais interlaboratoires peuvent ne pas être applicables à des gammes de concentrations et des matrices autres que celles données.

12.2 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 essai dans le même laboratoire par le même opérateur