
**Produits alimentaires —
Détermination de la teneur en azote
total par combustion selon le principe
Dumas et calcul de la teneur en
protéines brutes —**

Partie 2:
**Céréales, légumineuses et produits
céréaliers de mouture**

ISO 16634-2:2016
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c66fddb8-6d96-44ab-8a51-1b46ab115452/iso-16634-2-2016>

*Food products — Determination of the total nitrogen content by
combustion according to the Dumas principle and calculation of the
crude protein content —*

Part 2: Cereals, pulses and milled cereal products



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16634-2:2016

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c66fddb8-6d96-44ab-8a51-1b46ab115452/iso-16634-2-2016>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2016, Publié en Suisse

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
Ch. de Blandonnet 8 • CP 401
CH-1214 Vernier, Geneva, Switzerland
Tel. +41 22 749 01 11
Fax +41 22 749 09 47
copyright@iso.org
www.iso.org

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
Introduction	v
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 Mode opératoire	4
9.1 Généralités.....	4
9.2 Prise d'essai.....	4
9.3 Contrôle de l'alimentation en oxygène.....	5
9.4 Étalonnage.....	5
9.5 Détermination.....	5
9.6 Détection et traitement des données.....	6
10 Calcul et expression des résultats	6
10.1 Calcul.....	6
10.1.1 Teneur en azote.....	6
10.1.2 Teneur en protéines brutes.....	6
10.2 Expression des résultats.....	7
11 Fidélité	7
11.1 Essais interlaboratoires.....	7
11.2 Répétabilité.....	7
11.3 Reproductibilité.....	7
11.4 Différence critique.....	8
11.4.1 Comparaison de deux groupes de mesures dans un même laboratoire.....	8
11.4.2 Comparaison de deux groupes de mesures dans deux laboratoires.....	8
11.5 Incertitude.....	8
12 Rapport d'essai	8
Annexe A (informative) Organigramme pour un appareil de Dumas de base	10
Annexe B (informative) Schémas de types d'appareils de Dumas appropriés	11
Annexe C (informative) Étalonnage du matériel	14
Annexe D (informative) Résultats des essais interlaboratoires	16
Bibliographie	23

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/c661ddb8-6d96-44ab-8a51-1b46ab115452/iso-16634-2-2016).

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

Cette première édition annule et remplace l'ISO/TS 16634-2:2009, qui a fait l'objet d'une révision technique.

L'ISO 16634 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Produits alimentaires — Détermination de la teneur en azote total par combustion selon le principe Dumas et calcul de la teneur en protéines brutes*:

- *Partie 1: Graines oléagineuses et aliments des animaux*
- *Partie 2: Céréales, légumineuses et produits céréaliers de mouture*

Introduction

Longtemps, la méthode de Kjeldahl a été la méthode la plus fréquemment utilisée pour déterminer la teneur en protéines des produits alimentaires. Ces dernières années, la méthode de Dumas a gagné en importance par rapport à la méthode de Kjeldahl; plus rapide, la méthode de Dumas n'utilise en outre aucun produit chimique dangereux. En dépit de principes différents, les deux méthodes mesurent la teneur en azote du produit. Il est possible de convertir la teneur en azote pour obtenir la teneur en protéines en utilisant un facteur approprié. La valeur de ce facteur varie en fonction des quantités relatives des différentes protéines et de la composition en acides aminés de ces dernières dans un produit donné.

Ni la méthode de Dumas ni la méthode de Kjeldahl ne distinguent l'azote protéique de l'azote non protéique. Dans la plupart des cas, les résultats obtenus avec la méthode de Dumas sont légèrement supérieurs à ceux produits par la méthode de Kjeldahl. En effet, la méthode de Dumas mesure presque tout l'azote non protéique alors que la méthode de Kjeldahl n'en mesure qu'une partie.

Compte tenu du fait que la teneur en protéines d'un produit calculée à l'aide des deux méthodes ne fait que se rapprocher de la vraie valeur, il est nécessaire de décider laquelle est acceptée. La solution la plus appropriée doit consister à utiliser un second facteur afin d'éliminer l'erreur systématique causée par la teneur en azote non protéique des différents produits. Cependant, il faut déterminer ce second facteur pour chaque produit, tout comme les facteurs existants qui présentent le rapport entre la teneur en protéines et la teneur en azote.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 16634-2:2016](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c66fd8b8-6d96-44ab-8a51-1b46ab115452/iso-16634-2-2016)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c66fd8b8-6d96-44ab-8a51-1b46ab115452/iso-16634-2-2016>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16634-2:2016

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c66fdb8-6d96-44ab-8a51-1b46ab115452/iso-16634-2-2016>

Produits alimentaires — Détermination de la teneur en azote total par combustion selon le principe Dumas et calcul de la teneur en protéines brutes —

Partie 2: Céréales, légumineuses et produits céréaliers de mouture

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 16634 spécifie une méthode pour la détermination de la teneur en azote total et le calcul de la teneur en protéines brutes des céréales, légumineuses et produits céréaliers de mouture.

Cette méthode, comme la méthode de Kjeldahl (voir Références [1] et [6]), ne distingue pas l'azote protéique de l'azote non protéique. Divers facteurs de conversion sont utilisés pour le calcul de la teneur en protéines (voir 3.2).

2 Références normatives

Les documents ci-après, dans leur intégralité ou non, sont des références normatives indispensables à 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*

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

fraction massique de l'azote total

Note 1 à l'article: Déterminée selon le mode opératoire spécifié dans la présente partie de l'ISO 16634.

Note 2 à l'article: La fraction massique est exprimée en pourcentage.

3.2

teneur en protéines brutes

teneur en azote (3.1) multipliée par un facteur

Note 1 à l'article: On utilise généralement un facteur égal à 5,7 pour les produits destinés à l'alimentation humaine (tels que le blé, le seigle et leurs produits de mouture), et un facteur égal à 6,25 pour l'orge de brasserie et les céréales destinées à l'alimentation animale et les autres produits relevant du domaine d'application de la présente partie de l'ISO 16634.

Note 2 à l'article: Les facteurs utilisés pour calculer la teneur en protéines brutes à partir de la teneur en azote total sont dérivés de la méthode de Kjeldahl, qui est la méthode de référence pour la détermination de la teneur en azote total.

4 Principe

Les échantillons sont transformés en gaz par chauffage dans un tube de combustion. Les composants interférents sont éliminés du mélange gazeux obtenu. Les composés azotés du mélange gazeux, ou une partie représentative de ces composés, sont transformés en azote moléculaire, qui est déterminé quantitativement au moyen d'un détecteur à conductivité thermique. La teneur en azote de l'échantillon est ensuite calculée par un système informatique.

5 Réactifs

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue ou des réactifs d'une pureté équivalente selon les spécifications des fabricants d'appareils. À l'exception des matériaux de référence (5.12), aucun réactif ne doit contenir d'azote.

5.1 Gaz vecteur(s), utiliser le gaz spécifié en 5.1.1 ou le gaz spécifié en 5.1.2.

5.1.1 Dioxyde de carbone, aussi pur que possible et de fraction volumique minimale de CO₂ de 99,99 %.

5.1.2 Hélium, aussi pur que possible et de fraction volumique minimale de He de 99,99 %.

5.2 Oxygène, aussi pur que possible et de fraction volumique minimale de O₂ de 99,99 %.

5.3 Produit absorbant le dioxyde de soufre et les halogènes, afin d'éliminer toute trace de composés soufrés de l'échantillon [par exemple, chromate de plomb (PbCrO₄) ou laine d'acier].

5.4 Oxyde de cuivre/catalyseur au platine, pour le tube de postcombustion.

Le catalyseur au platine [5 % de platine (Pt) sur alumine (Al₂O₃)] est mélangé à de l'oxyde de cuivre (CuO) dans un rapport de 1:7 ou de 1:8, conformément aux recommandations du fabricant.

Afin d'éviter la séparation de ces deux matériaux en raison de leurs masses volumiques en vrac différentes, il est recommandé de ne pas préparer le mélange avant de remplir le tube mais de verser simultanément le catalyseur au platine et l'oxyde de cuivre dans le tube de postcombustion, en utilisant un entonnoir adapté.

5.5 Laine d'argent ou de cuivre.

La laine d'argent ou de cuivre doit être désagrégée avant d'être introduite dans le tube de postcombustion ou de réduction.

5.6 Laine de silice (quartz) ou de verre ou ouate, selon les recommandations du fabricant d'appareils.

5.7 Cuivre ou tungstène (fils, copeaux, tournures ou poudre), pour le tube de réduction.

L'utilisation de cuivre ou de tungstène sous l'une de ces formes peut améliorer la fidélité des résultats analytiques dans le cas d'échantillons à faibles teneurs en azote (fraction massique de 1 % environ).

5.8 Pentoxyde de diphosphore (P₂O₅), perchlorate de magnésium en granulés [Mg(ClO₄)₂], ou autre agent déshydratant approprié, afin de remplir les tubes de déshydratation.

5.9 Sphères creuses de corindon ou pastilles d'oxyde d'aluminium, pour le tube de combustion.

5.10 Oxyde de cuivre (CuO), comme matériau de remplissage du tube de combustion.

5.11 Hydroxyde de sodium (NaOH), sur un matériau de support.

5.12 Composés étalons, par exemple acide aspartique (C₄H₇NO₄), acide éthylène diamine tétraacétique (C₁₀H₁₆N₂O₈), acide glutamique (C₅H₉NO₄) ou acide hippurique (C₉H₉NO₃), ou autres matériaux de référence appropriés de teneur en azote certifiée, connue et constante.

Il convient que le dosage minimal soit de 99 % en fraction massique.

5.13 Éther de pétrole, dont le point d'ébullition est compris entre 30 °C et 60 °C, ou acétone ou éthanol.

6 Appareillage

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

6.1 Balance analytique, permettant des pesées à 0,000 1 g près.

6.2 Broyeur, adapté à la nature de l'échantillon.

6.3 Tamis, fabriqué dans un matériau non ferreux et de dimension nominale d'ouverture de 800 µm ou de 1 mm.

6.4 Creusets (par exemple, en acier inoxydable, en quartz, en céramique ou en platine), capsules en étain, feuilles d'étain ou papier-filtre exempt d'azote, adaptés à l'appareil de Dumas utilisé.

NOTE 1 Un certain nombre d'appareils disponibles dans le commerce sont munis d'un échantillonneur automatique.

NOTE 2 Certains échantillons sous forme solide (par exemple, des poudres) peuvent être agglomérés sous forme de pastilles.

6.5 Appareil de Dumas, équipé d'un four capable de maintenir une température donnée supérieure ou égale à 850 °C, d'un détecteur à conductivité thermique et d'un dispositif approprié d'intégration du signal.

Les appareils de Dumas adaptés fonctionnent selon le principe général donné dans l'[Annexe A](#), bien que plusieurs configurations et composants puissent être utilisés.

NOTE Les schémas correspondant à trois types d'appareils disponibles dans le commerce sont présentés, à titre d'exemple, dans les [Figures B.1](#) à [B.3](#).

Afin d'éviter les fuites, il faut légèrement lubrifier les joints toriques utilisés pour assurer l'étanchéité avec une graisse compatible avec un vide poussé avant de les mettre en place.

L'expérience a montré qu'il est important de nettoyer soigneusement tous les éléments en silice et en verre, et d'ôter les traces de doigts sur les tubes au moyen d'un solvant approprié ([5.13](#)) avant de placer ces derniers dans le four.

7 Échantillonnage

Il convient d'envoyer préalablement au laboratoire un échantillon représentatif. Il convient de ne pas endommager ni modifier cet échantillon au cours du transport ou de l'entreposage.

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente partie de l'ISO 16634. Des méthodes d'échantillonnage recommandées sont données dans l'ISO 24333 pour les céréales et les produits céréaliers.

8 Préparation de l'échantillon pour essai

Il faut préparer l'échantillon pour essai à partir de l'échantillon pour laboratoire de façon à obtenir un échantillon pour essai homogène.

À l'aide d'un broyeur approprié (6.2), broyer l'échantillon pour laboratoire. Généralement, passer le produit broyé sur un tamis (6.3) de dimension nominale d'ouverture de 800 µm pour les échantillons de petite taille (inférieure à 300 mg) ou sur un tamis de dimension nominale d'ouverture de 1 mm pour les échantillons de plus grande taille (300 mg ou plus). Les broyeurs qui produisent des particules dont la taille répond aux spécifications du [Tableau 1](#) donnent des résultats acceptables.

Tableau 1 — Taille de particules requise

Dimension nominale d'ouverture du tamis µm	Quantité passant à travers le tamis fraction massique en %
710	100
500	95 à 100
200	85 ou moins

Il peut résulter du broyage une perte de teneur en eau et, par conséquent, il convient de déterminer également la teneur en eau de l'échantillon broyé lorsque les valeurs relatives à l'azote et aux protéines sont rapportées à la matière sèche ou à une base constante de teneur en eau. La détermination de la teneur en eau doit être réalisée conformément à l'ISO 712 pour les céréales autres que le maïs, à l'ISO 6540 pour le maïs et à l'ISO 24557 pour les légumineuses.

Il est possible de vérifier l'efficacité du broyeur en préparant un échantillon en double d'un mélange broyé de maïs et de graines de soja dans un rapport de 2 + 1. Il convient que le coefficient de variation soit inférieur à 2 % en fraction massique.

9 Mode opératoire

9.1 Généralités

Suivre attentivement les instructions du fabricant concernant l'installation, l'optimisation, l'étalonnage et l'utilisation de l'appareil. Mettre l'appareil en position de marche et le laisser se stabiliser comme défini dans les modes opératoires locaux.

Il convient de réaliser un essai de performance de l'appareil tous les jours, à l'aide du matériau de référence (5.12). Il convient que le dosage d'azote soit supérieur à 99,0 % en fraction massique.

9.2 Prise d'essai

Peser, à 0,000 1 g près, au moins 0,1 g de l'échantillon pour essai dans un creuset ou une capsule en étain ou du papier-filtre exempt d'azote (6.4). Pour les échantillons à faible teneur en protéines (fraction massique inférieure à 1 %), la quantité de prise d'essai peut aller jusqu'à 3,5 g, selon le type d'appareil de Dumas utilisé et la nature de l'échantillon.

En fonction du type de matériel utilisé, si l'échantillon contient une fraction massique de plus de 17 % d'eau, il peut être nécessaire de le sécher avant l'analyse.

Des masses plus faibles peuvent être nécessaires dans le cas d'échantillons à très forte teneur en protéines ou lorsque seules de très petites quantités d'échantillon sont disponibles. Dans le cas de masses inférieures à 0,1 g, une deuxième détermination (validation) doit être réalisée.

9.3 Contrôle de l'alimentation en oxygène

Contrôler l'alimentation en oxygène, en particulier le débit, conformément aux instructions du fabricant du matériel.

Pour chaque série de déterminations de la teneur en azote, réaliser autant de déterminations à blanc que nécessaire pour stabiliser le matériel, en utilisant pour chacune une masse équivalente de saccharose à la place de la prise d'essai. Le blanc à base de saccharose fournit la quantité d'azote qui est apportée par l'air atmosphérique et qui est piégée dans une matière organique en poudre. Utiliser la valeur moyenne des déterminations à blanc comme correction d'erreur dans le calcul de la teneur en azote de chaque échantillon pour essai.

9.4 Étalonnage

Utiliser comme étalons des composés purs dont la teneur en azote est connue et constante, par exemple l'acide aspartique (5.12), pour l'étalonnage de l'appareil. Effectuer deux analyses de trois composés purs, chacun en trois quantités différentes, choisies selon la plage de mesures des échantillons réels.

Pour établir une courbe d'étalonnage, effectuer au moins cinq déterminations avec différentes quantités du même composé et en quantités telles que la courbe obtenue couvre la plage des teneurs en azote des échantillons à analyser.

Si la prise d'essai contient plus de 200 mg d'azote, la courbe d'étalonnage est théoriquement non linéaire. Dans cette section non linéaire, il est néanmoins possible de réaliser l'étalonnage en utilisant plusieurs segments de taille réduite. Afin de garantir la fiabilité de la courbe sur ces segments, il faut ajouter la quantité d'étalon utilisée par paliers de 1 mg à 5 mg d'azote sur les segments.

L'étalonnage peut également être effectué à l'aide de solutions étalons aqueuses.

Vérifier l'étalonnage au moins trois fois au début d'une série d'analyses, puis tous les 15 à 25 échantillons, en analysant soit l'un des étalons (5.12), soit un échantillon de valeur connue. La valeur obtenue pour la fraction massique d'azote ne doit différer de la valeur théorique que de 0,05 % au plus. Si ce n'est pas le cas, vérifier à nouveau l'étalonnage après avoir vérifié les performances de l'appareil.

9.5 Détermination

L'appareil étant en marche et stabilisé, introduire la prise d'essai conformément aux instructions du fabricant.

Pendant l'analyse, les processus suivants se déroulent dans l'appareil (voir Figure B.1, B.2 ou B.3).

La prise d'essai est soumise à une combustion quantitative dans des conditions normalisées, à une température minimale de 850 °C, en fonction de l'appareil et du matériau en cours d'analyse.

Les produits volatils issus de la décomposition (principalement azote moléculaire, oxydes d'azote, dioxyde de carbone et eau) sont transportés par le gaz vecteur (5.1) à travers l'appareil.

Les oxydes d'azote sont réduits en azote moléculaire et l'oxygène en excès est retenu sur le cuivre ou le tungstène (5.7) dans la colonne de réduction.

L'eau est éliminée au moyen de tubes de déshydratation remplis de perchlorate de magnésium, de pentoxyde de diphosphore ou d'un autre agent de déshydratation (5.8). Si le dioxyde de carbone est utilisé comme gaz vecteur (5.1.1), il est éliminé après passage sur un matériau absorbant approprié, par exemple de l'hydroxyde de sodium (5.11) sur un matériau de support approprié.

Les composés interférents (par exemple, les gaz halogènes et les composés soufrés volatils) sont éliminés au moyen de matériaux absorbants (5.3) ou de réactifs chimiques, par exemple de la laine d'argent (5.5) ou de l'hydroxyde de sodium (5.11) sur un matériau de support approprié.

Le mélange gazeux résiduel, contenant l'azote et le gaz vecteur, est acheminé à travers un détecteur à conductivité thermique.

9.6 Détection et traitement des données

Une cellule à conductivité thermique sensible, optimisée pour le gaz vecteur employé et pouvant être munie d'un système de mise à zéro automatique entre les mesurages des prises d'essai individuelles, est utilisée pour la détermination quantitative de l'azote. Après amplification et conversion analogique/numérique du signal fourni par le détecteur, les données obtenues sont traitées par un ordinateur périphérique.

10 Calcul et expression des résultats

10.1 Calcul

10.1.1 Teneur en azote

Les résultats indiquant la teneur en azote total, w_N , en fraction massique, exprimée en pourcentage, sont généralement fournis par les sorties sur imprimante des appareils.

10.1.2 Teneur en protéines brutes (standards.iteh.ai)

Le facteur de correction, F_c , est obtenu à l'aide de l'Équation (1):

$$F_c = \frac{100 - w_{H_2O,1}}{100 - w_{H_2O,2}} \quad \text{ISO 16634-2:2016} \quad \text{https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c66fdb8-6d96-44ab-8a51-1b46ab115452/iso-16634-2-2016} \quad (1)$$

où

$w_{H_2O,1}$ est la fraction massique d'eau, exprimée en pourcentage, avant broyage;

$w_{H_2O,2}$ est la fraction massique d'eau, exprimée en pourcentage, après broyage.

La teneur en protéines brutes, w_p , en fraction massique, exprimée en pourcentage, est obtenue à l'aide de l'Équation (2):

$$w_p = w_N F F_c \quad (2)$$

où

w_N est la teneur en azote, en fraction massique, exprimée en pourcentage, de l'échantillon à sa teneur en eau naturelle;

F est le facteur de conversion généralement reconnu pour le produit analysé, égal à 5,7 pour les céréales destinées à l'alimentation humaine (telles que le blé, le seigle et leurs produits de mouture), et à 6,25 pour l'orge de brasserie et les céréales destinées à l'alimentation animale et les autres produits relevant du domaine d'application de la présente partie de l'ISO 16634 (voir 3.2).