
Riz — Détermination de la teneur en amylose —

Partie 1:

Méthode spectrophotométrique avec un mode opératoire de dégraissage au méthanol et des solutions d'étalonnage d'amylose de pomme de terre et d'amylopectine de riz gluant

*Rice — Détermination of amylose content —
Part 1: Spectrophotometric method with a defatting procedure by methanol and with calibration solutions of potato amylose and waxy rice amylopectin*



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 6647-1:2020

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b87d4c6f-e3d5-49c3-b65c-flaccb2814e7/iso-6647-1-2020>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2020

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, 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, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée 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 401 • Ch. de Blandonnet 8

CH-1214 Vernier, Genève

Tél.: +41 22 749 01 11

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	4
8 Mode opératoire	4
8.1 Préparation de l'échantillon pour essai.....	4
8.2 Prise d'essai et préparation de la solution d'essai.....	4
8.3 Préparation de la solution à blanc.....	4
8.4 Élaboration de la courbe d'étalonnage.....	5
8.4.1 Préparation du jeu de solutions d'étalonnage.....	5
8.4.2 Développement de la couleur et mesurages spectrophotométriques.....	5
8.4.3 Tracé de la courbe d'étalonnage.....	5
8.5 Détermination.....	5
9 Expression des résultats	5
10 Fidélité	6
10.1 Essai interlaboratoires.....	6
10.2 Répétabilité.....	6
10.3 Reproductibilité.....	6
11 Rapport d'essai	6
Annexe A (informative) Détermination de la qualité de la suspension mère d'amylose de pomme de terre	7
Annexe B (informative) Résultats d'un essai interlaboratoires	9
Annexe C (informative) Exemple d'analyseur par injection de flux (<i>flow injection analyser</i>, FIA) pour la détermination de la teneur en amylose	11
Bibliographie	12

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 attirée 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.

(standards.iteh.ai)

Pour une explication de la nature volontaire des normes, 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'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir www.iso.org/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 4, *Céréales et légumineuses*, en collaboration avec le comité technique CEN/TC 338, *Céréales et produits céréaliers*, du Comité européen de normalisation (CEN), conformément à l'Accord de coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne).

Cette troisième édition annule et remplace la deuxième édition (ISO 6647-1:2015), qui a fait l'objet d'une révision technique. Les principales modifications par rapport à l'édition précédente sont les suivantes:

- une méthode spectrophotométrique avec un mode opératoire de dégraissage au méthanol et des solutions d'étalonnage d'amylase de pomme de terre et d'amylopectine de riz gluant a remplacé la méthode par chromatographie par exclusion stérique.

Une liste de toutes les parties de la série ISO 6647 se trouve sur le site web de l'ISO.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

Riz — Détermination de la teneur en amylose —

Partie 1:

Méthode spectrophotométrique avec un mode opératoire de dégraissage au méthanol et des solutions d'étalonnage d'amylose de pomme de terre et d'amylopectine de riz gluant

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie une méthode de référence pour la détermination de la teneur en amylose du riz usiné, non étuvé. La méthode est applicable à du riz avec une fraction massique d'amylose supérieure à 5 %.

Le présent document peut aussi être utilisé pour le riz décortiqué, le maïs, le millet et d'autres céréales si l'extension de son domaine d'application a été validée par l'utilisateur.

NOTE Les valeurs de teneur en amylose déterminées selon le présent document peuvent être comparées à la législation AOP et IGP.

2 Références normatives

Les documents suivants cités dans le texte constituent pour tout ou partie de leur contenu, des exigences 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 8466-1, *Qualité de l'eau — Étalonnage et évaluation des méthodes d'analyse et estimation des caractères de performance — Partie 1: Évaluation statistique de la fonction linéaire d'étalonnage*

ISO 15914, *Aliments des animaux — Détermination enzymatique de la teneur totale en amidon*

3 Termes et définitions

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

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

- ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>

3.1

amylose

DÉCONSEILLÉ: amylose apparente

constituant polysaccharide de l'amidon, dont les macromolécules contiennent des unités de glucose reliées pour former une structure majoritairement linéaire

3.2

amylopectine

constituant polysaccharide de l'amidon, dont les macromolécules contiennent entre 6 et 100 unités de glucose reliées pour former une structure ramifiée

4 Principe

Le riz est broyé jusqu'à l'obtention d'une très fine farine pour rompre la structure de l'endosperme, en vue de faciliter la dispersion complète et la gélatinisation; la farine est ensuite dégraissée. Une prise d'essai est dispersée dans une solution d'hydroxyde de sodium. Une partie aliquote est prélevée, à laquelle est ajoutée une solution d'iode. L'absorbance à 720 nm du complexe coloré formé est déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre.

La fraction massique d'amylose de l'échantillon est ensuite lue sur une courbe d'étalonnage, qui est préparée en utilisant des mélanges d'amylose de pomme de terre et d'amylopectine pour tenir compte de l'effet de l'amylopectine sur la couleur du complexe amylose/iode de la solution d'essai.

5 Réactifs

Sauf spécification contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée, déminéralisée ou de pureté équivalente.

5.1 **Méthanol**, d'une fraction volumique de 85 %.

5.2 **Éthanol**, d'une fraction volumique de 95 %.

5.3 **Hydroxyde de sodium**, solution à 1 mol/l.

5.4 **Hydroxyde de sodium**, solution à 0,09 mol/l.

5.5 **Solution détergente.**

Dissoudre du dodécylbenzènesulfonate de sodium correspondant à une concentration de 20 g/l. Juste avant utilisation, ajouter du sulfite de sodium à une concentration finale de 2 g/l.

5.6 **Hydroxyde de sodium**, pour l'élimination des protéines, solution à 3 g/l.

5.7 **Acide acétique**, solution à 1 mol/l.

5.8 **Solution d'iode.**

Peser, à 5 mg près, 2,000 g d'iodure de potassium dans un flacon à tare équipé d'un bouchon. Ajouter de l'eau en quantité suffisante pour obtenir une solution saturée. Ajouter 0,200 g d'iode, à 1 mg près. Transférer la solution quantitativement dans une fiole jaugée de 100 ml (6.6) une fois l'iode entièrement dissous, puis compléter au volume avec de l'eau, et mélanger.

Préparer une nouvelle solution chaque jour avant analyse et la maintenir à l'abri de la lumière.

5.9 **Suspension mère d'amylose de pomme de terre**, exempte d'amylopectine, 1 g/l.

5.9.1 Dégraisser l'amylose de pomme de terre par reflux avec du méthanol (5.1) pendant 4 h à 6 h dans un extracteur à une vitesse de 5 à 6 gouttelettes par seconde.

Il convient que l'amylose de pomme de terre soit pure et que cela soit vérifié par titrage ampérométrique ou potentiométrique. Certaines préparations du commerce sont impures et conduiraient à des résultats

faussement élevés pour la fraction massique d'amylose des échantillons de riz. Pour l'amylose pure, il convient que 19 % à 20 % de sa propre masse se lie avec l'iode. Pour vérifier la pureté de l'amylose, voir l'[Annexe A](#).

5.9.2 Étaler l'amylose de pomme de terre dégraissée sur un plateau et laisser reposer pendant deux jours pour permettre l'évaporation du méthanol résiduel et pour que l'équilibre de la teneur en eau soit atteint.

Traiter l'amylopectine ([5.10](#)) et les échantillons pour essai (voir [8.1](#)) de la même manière.

5.9.3 Peser ([6.9](#)) 100 mg \pm 0,5 mg de l'amylose de pomme de terre dégraissée et conditionnée dans une fiole conique de 100 ml ([6.8](#)). Ajouter avec précaution 1 ml d'éthanol ([5.2](#)), en rinçant l'amylose de pomme de terre éventuelle qui adhère aux parois de la fiole. Ajouter 9,0 ml de solution d'hydroxyde de sodium à 1 mol/l ([5.3](#)) et mélanger. Chauffer ensuite le mélange dans un bain d'eau bouillante ([6.7](#)) pendant 10 min pour disperser l'amylose de pomme de terre. Laisser l'échantillon refroidir à la température ambiante et le transvaser dans une fiole jaugée de 100 ml ([6.6](#)).

Compléter au volume avec de l'eau et mélanger vigoureusement.

1 ml de cette suspension mère contient 1 mg d'amylose de pomme de terre.

Si les échantillons pour essai, l'amylose et l'amylopectine sont conditionnés dans le même environnement, aucune correction pour la teneur en eau n'est nécessaire et les résultats sont obtenus sur une base exprimée en matière sèche de riz usiné. Si les échantillons pour essai et les solutions mères ne sont pas préparés dans les mêmes conditions, la teneur en eau des échantillons et des solutions mères doit être déterminée comme spécifié dans l'ISO 712 et il convient de corriger les résultats en conséquence.

5.10 Suspension mère d'amylopectine, 1 g/l.

Préparer la suspension mère à partir de riz gluant (collant) usiné ayant une teneur en amidon connue pour être au moins égale à 99 % en masse d'amylopectine. Faire tremper le riz gluant usiné et le placer dans un broyeur homogénéisateur de laboratoire approprié ([6.1](#)) pour obtenir un état finement divisé. Éliminer les protéines en réalisant une extraction exhaustive avec une solution détergente ([5.5](#)) ou, sinon avec une solution d'hydroxyde de sodium ([5.6](#)). Laver puis dégraisser par reflux avec du méthanol ([5.1](#)) comme décrit en [5.9.1](#). Étaler l'amylopectine déprotéinée et dégraissée sur un plateau et laisser reposer pendant deux jours pour permettre l'évaporation du méthanol résiduel et pour que l'équilibre de la teneur en eau soit atteint.

Suivre le mode opératoire indiqué en [5.9.3](#), mais en utilisant l'amylopectine à la place de l'amylose. 1 ml de cette suspension mère contient 1 mg d'amylopectine.

Il convient que la capacité de liaison de l'amylopectine à l'iode soit inférieure à 0,2 % (voir l'[Annexe A](#)).

6 Appareillage

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

6.1 Broyeur homogénéisateur de laboratoire.

6.2 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 (100 mesh à 80 mesh). Il est recommandé d'utiliser un filtre cyclone avec un tamis de 0,5 mm.

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

6.4 Spectrophotomètre, muni de cellules appropriées, ayant généralement un trajet optique égal à 1 cm, permettant de mesurer l'absorbance à 720 nm.

6.5 Appareillage d'extraction, permettant le reflux des échantillons avec du méthanol à une vitesse de 5 à 6 gouttelettes par seconde.

6.6 Fioles jaugées, 100 ml.

6.7 Bain d'eau bouillante.

6.8 Fioles coniques, 100 ml.

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

7 Échantillonnage

Il convient qu'un échantillon représentatif ait été envoyé au laboratoire. Il convient qu'il n'ait été ni endommagé ni modifié au cours du transport ou du stockage.

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans le présent document. Une méthode d'échantillonnage recommandée est indiquée dans l'ISO 24333.

8 Mode opératoire

8.1 Préparation de l'échantillon pour essai

À l'aide du filtre cyclone (6.2), broyer au moins 10 g de riz usiné jusqu'à l'obtention d'une farine très fine pouvant passer à travers le tamis (6.3).

Dégraisser la farine par reflux avec du méthanol (5.1). Suivre le mode opératoire décrit en 5.9.1.

NOTE Les lipides sont en concurrence avec l'iode pour former un complexe avec l'amylase et il a été montré que le dégraissage de la farine de riz réduit efficacement l'interférence avec les lipides.

Après le dégraissage, étaler la farine pour former une fine couche dans un plat ou sur un verre de montre et laisser reposer pendant deux jours pour permettre l'évaporation du méthanol résiduel et pour que l'équilibre de la teneur en eau soit atteint (voir 5.9).

AVERTISSEMENT — Observer les mesures de sécurité, par exemple utiliser une hotte aspirante, lors de l'évaporation du méthanol.

8.2 Prise d'essai et préparation de la solution d'essai

Peser (6.9) 100 mg \pm 0,5 mg d'échantillon pour essai (voir 8.1) dans une fiole conique de 100 ml (6.8). Ajouter avec précaution 1 ml d'éthanol (5.2) à cette prise d'essai, en veillant à rincer les éventuelles fractions de la prise d'essai qui adhèrent aux parois de la fiole et en remuant légèrement afin de mouiller entièrement l'échantillon. Ajouter 9,0 ml de solution d'hydroxyde de sodium à 1 mol/l (5.3) et mélanger. Chauffer ensuite le mélange dans un bain d'eau bouillante (6.7) pendant 10 min pour disperser l'amidon. Laisser l'échantillon refroidir à la température ambiante et le transvaser dans une fiole jaugée de 100 ml (6.6).

Compléter au volume avec de l'eau et mélanger vigoureusement.

8.3 Préparation de la solution à blanc

Préparer une solution à blanc en suivant le même mode opératoire et en utilisant les mêmes quantités de réactifs que pour la détermination, mais en remplaçant la solution d'essai par 5,0 ml de solution d'hydroxyde de sodium à 0,09 mol/l (5.4).

8.4 Élaboration de la courbe d'étalonnage

8.4.1 Préparation du jeu de solutions d'étalonnage

Mélanger des volumes de suspensions mères d'amylose de pomme de terre (5.9) et d'amylopectine (5.10) et de solution d'hydroxyde de sodium à 0,09 mol/l (5.4) conformément au [Tableau 1](#).

Tableau 1 — Jeu de solutions d'étalonnage

Fraction massique d'amylose dans le riz usiné %, sur une base exprimée en matière sèche ^a	Amylose de pomme de terre (5.9) ml	Amylopectine (5.10) ml	Hydroxyde de sodium à 0,09 mol/l (5.4) ml
0	0	18	2
10	2	16	2
20	4	14	2
25	5	13	2
30	6	12	2
35	7	11	2

^a Ces valeurs ont été calculées sur la base d'une fraction massique moyenne d'amidon de 90 % dans le riz usiné.

8.4.2 Développement de la couleur et mesurages spectrophotométriques

À l'aide d'une pipette, introduire une partie aliquote de 5,0 ml de chaque solution d'étalonnage (voir 8.4.1) dans une série de fioles jaugées de 100 ml (6.6) contenant chacune environ 50 ml d'eau. Ajouter 1,0 ml d'acide acétique (5.7) et mélanger. Puis, ajouter 2,0 ml de solution d'iode (5.8), compléter jusqu'au trait avec de l'eau et mélanger. ~~Laisser reposer~~

Mesurer l'absorbance à 720 nm par rapport à celle de la solution à blanc (voir 8.3) à l'aide du spectrophotomètre (6.4).

8.4.3 Tracé de la courbe d'étalonnage

Élaborer une courbe d'étalonnage en représentant l'absorbance en fonction de la fraction massique d'amylose, exprimée en pourcentage, dans le riz usiné par rapport à la matière sèche.

8.5 Détermination

À l'aide d'une pipette, introduire une partie aliquote de 5,0 ml de la solution d'essai (voir 8.2) dans une fiole jaugée de 100 ml (6.6) contenant environ 50 ml d'eau et procéder conformément à 8.4.2, en commençant par l'ajout d'acide acétique (5.7).

Mesurer l'absorbance à 720 nm par rapport à celle de la solution à blanc (voir 8.3) à l'aide du spectrophotomètre (6.4).

À la place du mesurage spectrophotométrique manuel, un analyseur automatique, par exemple un analyseur par injection de flux, peut être utilisé (voir l'exemple donné dans l'[Annexe C](#)).

Réaliser deux déterminations sur des prises d'essai séparées prélevées sur le même échantillon pour essai.

9 Expression des résultats

La fraction massique d'amylose, exprimée en pourcentage de matière sèche, doit être obtenue en rapportant l'absorbance (voir 8.5) sur la courbe d'étalonnage (voir 8.4.3) conformément à l'ISO 8466-1.

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations.