

Etude comparative des performances sur matrices oléoprotéagineuses des normes de dosage de l'azote (et calcul des protéines brutes) NF EN ISO 5983-2 et NF EN ISO 20483

Jérémy Manzini¹, Sylvain Tréguier¹, Vincent Jauvion¹ *
¹ Terres Inovia, 270 av. de la Pomme de Pin, Ardon, 45166 Olivet, France
 * v.jauvion@terresinovia.fr

Contexte et objectifs

Avec des surfaces en France de 1.875.000ha et 224.000ha (données 2019) pour les cultures oléagineuses et protéagineuses, respectivement, les cultures oléoprotéagineuses représentent une part majeure de la sole et de la production française. Le débouché principal de trituration des oléagineux, aboutit au coproduit qu'est le tourteau. Les graines et tourteaux d'oléoprotéagineux constituent ainsi une source majeure de protéines, alimentant les débouchés de l'alimentation humaine (*food*) et/ou animale (*feed*).

Le dosage du taux de protéine est réalisé selon plusieurs méthodes, qui peuvent être rapides et indirectes (NIRS,...) ou selon des méthodes normées pour doser l'azote et le convertir en teneur en protéines (Nx6,25), telles que par méthode Dumas (combustion, selon NF EN ISO 16634-1 et NF EN ISO 16634-2) ou par méthode Kjeldahl (minéralisation selon NF EN ISO 5983-2 et NF EN ISO 20483). Les normes d'analyses sont établies de façon sectorielle, e.g. alimentation animale (ISO TC34 SC10), graines et tourteaux oléagineux (ISO TC34 SC2), graines et farines de céréales et légumineuses (ISO TC34 SC4). Néanmoins, les graines oléoprotéagineuses étant souvent cultivées au sein d'une même filière, les acteurs de l'analyse sont amenés à travailler sur des matrices végétales variées mélangeant céréales, oléagineux, légumineuses. Il est donc intéressant de comprendre et comparer ces différentes normes permettant d'analyser le même critère.

Le focus dans cette étude a été mis sur l'analyse selon Kjeldahl entre la méthode couvrant le domaine alimentation animale et graines et tourteaux oléagineux (NF EN ISO 5983-2) et la méthode issue du domaine céréales et légumineuses (NF EN ISO 20483) afin d'en comparer les similitudes et différences et leurs performances respectives selon les matrices.

Matériel et méthodes

Les analyses de teneur en eau graines entières ont été effectuées selon la NF V03-909 pour les graines oléagineuses (colza et soja) et selon une méthode interne par étuvage (17h à 131,5°C) pour les protéagineux (pois et féverole).

Les analyses de teneur en protéines ont été réalisées sur matière sèche (MS) selon la méthode Kjeldahl, entre la méthode couvrant le domaine alimentation animale et graines et tourteaux oléagineux (NF EN ISO 5983-2) et la méthode issue du domaine céréales et légumineuses (NF EN ISO 20483).

Des échantillons des matrices Colza, Soja, Pois et Féverole ont été sélectionnés parmi des échantillons provenant des circuits BIPEA afin de disposer d'échantillons homogènes.

Matrice	Teneur en protéines brutes (g/100g)	
	Échantillon 1	Échantillon 2
Colza	17,3	22,4
Soja	32,2	39,0
Pois	19,7	24,0
Féverole	28,9	30,9

1. Données de référence des échantillons BIPEA pour chaque matrice étudiée

Pour chaque matrice, deux échantillons de valeurs différentes couvrant la gamme usuelle de teneur en protéines de l'espèce ont été sélectionnés. Les analyses ont été réalisées en double pour permettre de valider la répétabilité (r) et vérifiées en fidélité intermédiaire (fid) dans le temps.

Comparaison de méthodes

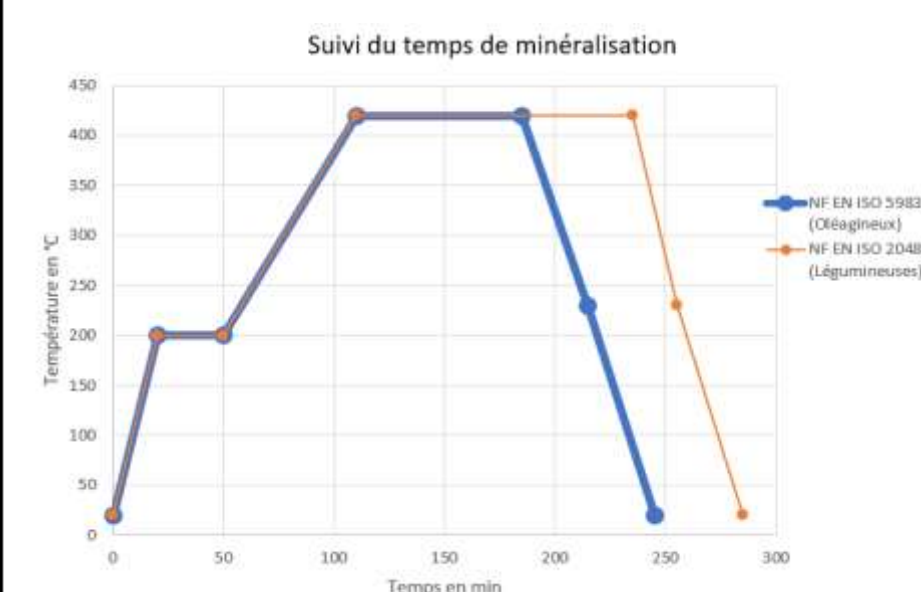
Les deux normes d'analyses reposent sur la même méthode Kjeldahl et présentent de grandes similitudes au niveau expérimental.

Afin d'assurer une digestion totale des échantillons, le temps de minéralisation entre les deux normes est légèrement différent (2 heures pour la NF EN ISO 16634-1 contre seulement 1 heure pour la méthode NF EN ISO 5983-2 ; fig. 3). Les autres variations recensées dans le tableau 2 concernent la prise d'essai, le volume d'acide sulfurique et les catalyseurs.

Étape	NF EN ISO 5983-2	NF EN ISO 20483
Prise d'essai	Colza -> 1gr Soja, Pois, Féverole -> 0,5 gr Tamis 1mm	Colza -> 2gr Soja, Pois, Féverole -> 1 gr Tamis 0,8mm
Minéralisation	Durée -> 4h Ac Sulfurique -> 15 mL	Durée -> 4h 45 min Ac Sulfurique -> 20 mL
Distillation	Eau -> 65 mL Soude (NaOH) 32% -> 50mL Ac. Borique (H3BO3) -> 25 mL Durée -> 300 sec	Eau -> 65 mL Soude (NaOH) 32% -> 50mL Ac. Borique (H3BO3) -> 25 mL Durée -> 300 sec
Catalyseur	3,5 gr de sulfate de potassium 0,4 gr de sulfate de cuivre (II) Pentahydraté	3,5 gr de sulfate de potassium 0,15 gr d'oxyde de titane

2. Variations entre les normes mentionnées

Cette comparaison confirme la proximité des méthodes et nous a permis de définir un plan d'expérimentation efficace pour comparer les résultats fournis par les deux normes sur de mêmes matrices.



3. Représentation de la minéralisation selon les normes

Résultats

Afin de s'affranchir de tout biais lié à une perte d'eau lors de la préparation, les analyses ont été réalisées sur MS. Les écarts constatés entre les méthodes ont été testés en comparaison sur chaque matrice. La préparation de l'échantillon étant une étape critique, ce critère a été sélectionné pour être étudié individuellement. Le tableau 4 synthétise ainsi les résultats d'analyse selon les méthodes décrites dans chaque norme avec une préparation à 0,8mm et 1mm selon les exigences des normes NF EN ISO 20483 et NF EN ISO 5983-2, respectivement sur les échantillons de chaque matrice. Par ces résultats issus de la moyenne de deux répétitions cohérentes et validées en fidélité intermédiaire, on observe que pour toutes les matrices étudiées, et quelle que soit la méthode utilisée, la préparation et tamisage n'ont pas d'impact significatif.

Les méthodes appliquées après broyage étant ensuite fidèles au exigence de chaque norme, nous pouvons également noter que pour la gamme de valeurs et les matrices considérées, il n'y pas de différence significative sur le résultat final de protéines des autres variations de protocoles (pesées, catalyseur, temps de minéralisation,...) selon la méthode utilisée.

	NF EN ISO 5983-2		NF EN ISO 20483	
	0,8 mm	1 mm	0,8 mm	1 mm
Colza 1	17,72	17,69	17,76	17,71
Colza 2	22,74	22,60	22,94	22,91
Soja 1	38,21	38,19	38,23	38,19
Soja 2	42,47	42,46	42,61	42,62
Pois 1	19,81	19,84	19,77	19,93
Pois 2	23,47	23,60	23,37	23,55
Féverole 1	29,53	29,29	29,70	29,34
Féverole 2	31,58	31,36	31,63	31,41

4. Tableau de résultat de teneur en protéines (/MS) avec les différentes méthodes utilisées pour chaque matrice

Conclusions

Notre étude initiale des méthodes a montré que les normes NF EN ISO 5983-2 et NF EN ISO 20483 utilisent la même méthode de minéralisation/distillation dite de « Kjeldahl » et présentent des ajustements de protocole. Parmi ces ajustements, l'étape initiale de préparation de l'échantillon et en particulier de tamisage à 1mm ou 0,8mm respectivement nous a semblé la plus critique et a donc été ciblée pour notre étude comparative. L'analyse d'échantillons de valeurs variées sur plusieurs matrices oléoprotéagineuses a ainsi permis de montrer qu'il n'y avait pas de différence significative entre les résultats selon la granulométrie de l'échantillon préparé entre 0,8mm et 1mm. De même, les autres variantes de protocole apparaissent sans effet significatif sur le résultat final ce qui indique que pour les matrices considérées et sans les gammes de valeurs étudiées, les deux normes sont parfaitement comparables.

Ces éléments permettent de documenter et d'informer les acteurs de nos filières communes sur la prise de risque si l'analyse de teneur en protéines est réalisée avec l'une ou l'autre des méthodes, chacune étant sectorielle et souvent reprise au contrat.

Enfin, nos analyses ont été menées sur MS pour nous affranchir du biais éventuel de la variation de la teneur en eau de l'échantillon. Comme les analyses commerciales sont principalement réalisées sur des échantillons tel quel, nous recommandons la plus grande vigilance sur la maîtrise et surveillance de la teneur en eau à chaque étape de l'analyse afin de garantir la fiabilité du résultat final.

Nous souhaitons remercier l'ensemble de l'équipe du laboratoire d'Ardon qui a contribué à ce travail d'alternance L3 de Jérémy