

NOTA IMPORTANTE:

La entidad sólo puede hacer uso de esta norma para si misma, por lo que este documento NO puede ser reproducido, ni almacenado, ni transmitido, en forma electrónica, fotocopia, grabación o cualquier otra tecnología, fuera de su propio marco.

ININ/ Oficina Nacional de Normalización

NORMA CUBANA

NC

ISO 20483: 2009
(Publicada por la ISO en 2006)

**CEREALES Y LEGUMBRES — DETERMINACIÓN DEL
CONTENIDO DE NITRÓGENO Y CÁLCULO DEL CONTENIDO
DE LA PROTEÍNA BRUTA — MÉTODO DE KJELDAHL
(ISO 20483:2006, IDT)**

Cereals and pulses — Determination of the nitrogen content and calculation of
the crude protein content — Kjeldahl method

ICS: 67.060

1. Edición Febrero 2009
REPRODUCCIÓN PROHIBIDA

Oficina Nacional de Normalización (NC) Calle E No. 261 Vedado, Ciudad de La
Habana. Cuba. Teléfono: 830-0835 Fax: (537) 836-8048; Correo electrónico:
nc@ncnorma.cu; Sitio Web: www.nc.cubaindustria.cu



Cuban National Bureau of Standards

Prefacio

La Oficina Nacional de Normalización (NC), es el Organismo Nacional de Normalización de la República de Cuba y representa al país ante las organizaciones internacionales y regionales de normalización.

La elaboración de las Normas Cubanas y otros documentos normativos relacionados se realiza generalmente a través de los Comités Técnicos de Normalización. Su aprobación es competencia de la Oficina Nacional de Normalización y se basa en las evidencias del consenso.

Esta Norma Cubana:

- Ha sido elaborada por el NC/CTN 67 de Cereales. Legumbres y Productos Derivados, integrado por las entidades siguientes:
 - Instituto de Investigaciones de la Industria Alimenticia (IIIA-MINAL)
 - Unión Molinera, MINAL
 - Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos (INHA-MINSAP)
 - Laboratorio CUBACONTROL S.A.
 - Centro Nacional de Inspección de la Calidad (CNICA-MINAL)
 - Ministerio de Comercio Interior
 - Alimport (MINCEX)
 - Unión Confitera
 - Empresa de Cereales José Antonio Echeverría
 - Empresa de Cereales Turcios Lima
 - Empresa de Cereales Cienfuegos
 - Empresa de Cereales Santiago
 - Empresa Panificadora
 - Empresa Alimenticia C. de La Habana
 - Ministerio de las Fuerzas Armadas
 - Instituto de Investigaciones en Normalización (ININ)
 - Ofical Nacional de Normalización (ONN)
- Es una adopción idéntica por el método de traducción de la Norma Internacional ISO 20483 2006 *Cereals and pulses- Determination of the nitrogen content and calculation of the crude protein content. Kleidahl method*
- Cancela y sustituye a la NC 86-05: 1984. Cereales. Harinas. Determinación de proteínas.

© NC, 2009

Todos los derechos reservados. A menos que se especifique, ninguna parte de esta publicación podrá ser reproducida o utilizada en alguna forma o por medios electrónicos o mecánicos, incluyendo las fotocopias, fotografías y microfilmes, sin el permiso escrito previo de:

Oficina Nacional de Normalización (NC)

Calle E No. 261, Vedado, Ciudad de La Habana, Habana 4, Cuba.

Impreso en Cuba.

CEREALES Y LEGUMBRES — DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE NITRÓGENO Y CÁLCULO DEL CONTENIDO DE LA PROTEÍNA BRUTA — MÉTODO DE KJELDAHL

ATENCIÓN — La utilización de este método puede suponer el uso de equipamiento, procedimientos y materiales peligrosos. Este método no pretende abarcar todos los problemas de seguridad relacionados con su uso. Es responsabilidad del usuario de esta norma establecer las prácticas de seguridad apropiadas y determinar la aplicación de las limitaciones reglamentarias con anterioridad a su puesta en práctica.

1 Objeto y campo de aplicación

Esta norma describe la determinación del contenido de nitrógeno en los cereales, las legumbres y sus productos derivados, de acuerdo con el método de Kjeldahl, y un método para el cálculo del contenido de proteína bruta.

Este método no es capaz de distinguir entre el nitrógeno que forma parte de las proteínas y el que no forma parte de ellas. Cuando sea importante determinar el contenido de nitrógeno que no forma parte de las proteínas, puede aplicarse un método apropiado.

NOTA: En algunos casos con este método, no es posible conseguir una recuperación completa del nitrógeno en forma de nitratos y nitritos.

2 Referencias normativas

Las normas que a continuación se indican son indispensables para la aplicación de esta norma. Para las referencias con fecha, solo se aplica la edición citada. Para las referencias sin fecha, se aplica la última edición de la norma (incluyendo cualquier modificación de ésta).

NC ISO 712 *Cereales y productos derivados. Determinación del contenido de humedad. Método de referencia de rutina.*

ISO 6540, *Maíz. Determinación del contenido de humedad en granos enteros y en granos molidos.*

3 Términos y definiciones

Para los propósitos de este documento, se aplican los siguientes términos y sus definiciones.

3.1 contenido de nitrógeno

Cantidad de nitrógeno determinada tras la aplicación del procedimiento descrito en esta norma internacional

NOTA Se expresa como fracción en masa de producto seco, en tanto por ciento

3.2 contenido de proteína bruta

cantidad de proteína bruta obtenida del contenido de nitrógeno determinado mediante la aplicación del método descrito en esta norma, calculada mediante la multiplicación de dicho contenido por un factor apropiado dependiendo del tipo de cereal o legumbre.

NOTA: Se expresa como fracción en masa de producto seco, en tanto por ciento

4 Principio

Se digiere una porción de ensayo con ácido sulfúrico en presencia de un catalizador. Los productos de la reacción se llevan a medio básico y a continuación se destilan. El amoníaco liberado se recoge en una disolución de ácido bórico, que se valora con una disolución de ácido sulfúrico, para determinar el contenido de nitrógeno y calcular el contenido de proteína bruta.

5 Reactivos

Se utilizan exclusivamente reactivos libres de nitrógeno de grado analítico reconocido, excepto para los materiales de referencia, y agua destilada o desmineralizada, o agua de una pureza equivalente.

ATENCIÓN – Los reactivos indicados en los apartados 5.4, 5.8, 5.11 y 5.12 deben manipularse con precaución.

5.1 Sulfato potásico (K_2SO_4)

5.2 Sulfato de cobre II pentahidratado ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$).

5.3 Óxido de titanio (TiO_2)

5.4 Ácido sulfúrico: $c(H_2SO_4) = 18 \text{ mol/L}$, $\rho_{20}(H_2SO_4) = 1,84 \text{ g/mL}$.

5.5 Aceite de parafina

5.6 Acetanilida (C_8H_9NO), con un punto de fusión de 114 °C y un contenido de nitrógeno de $10,36 \text{ g/100 g}$.

5.7 Triptófano ($C_{11}H_{12}N_2O_2$), con un punto de fusión de 282 °C y un contenido de nitrógeno de $13,72 \text{ g/100 g}$

5.8 Pentóxido de fósforo (P_2O_5).

5.9 Ácido bórico: disolución acuosa, $\rho_{20}(H_3BO_3) = 40 \text{ g/L}$, u otra concentración recomendada para el aparato que se esté utilizando.

5.10 Indicador de color: Se añaden los volúmenes de disolución A (5.10.1) y de disolución B (5.10.2) recomendados para el aparato que se esté utilizando (por ejemplo 5 volúmenes de

disolución A y 1 volumen de disolución B).NOTA 1 Se puede emplear una disolución ya preparada de ácido bórico que incluya el indicador de color (5. 9+ 5.10).

NOTA 2 La proporción de disoluciones A y B puede tener que ajustarse en función del aparato.

La valoración también puede realizarse potenciométricamente mediante el uso de un electrodo de pH, cuyo funcionamiento tendrá que comprobarse diariamente.

5.10.1 Disolución A Verde de bromocresol ($C_{21}H_{14}Br_4O_5S$): 200 mg.Etanol (C_2H_5OH), con una fracción en volumen del 95%: cantidad suficiente para 100 mL de disolución.

5.10.2 Disolución B Rojo de metilo ($C_{15}H_{15}N_3O_2$) 200 mg.Etanol (C_2H_5OH), con una fracción en volumen del 95%: cantidad suficiente para 100 mL de disolución.

5.11 Hidróxido de sodio: disolución acuosa ($NaOH$) con una fracción en masa del 33%, o de una fracción en masa del 40%, cuyo contenido de nitrógeno sea igual o inferior al 0,001%.

También puede utilizarse hidróxido de sodio de grado técnico si su contenido de nitrógeno es igual o inferior al 0,001%.

5.12 Ácido sulfúrico: disolución volumétrica patrón, $c(H_2SO_4) = 0,05$ mol/L.

Se recomienda utilizar H_2SO_4 en lugar de HCl debido a que el H_2SO_4 no muestra la tendencia a producir burbujas en los tubos de conexión.

5.13 Sulfato de amonio: disolución volumétrica patrón, $c(NH_4)_2SO_4 = 0,05$ mol/L.

De forma alternativa, puede utilizarse una sal del tipo $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$.

5.14 Piedra pómez: granulada, lavada con ácido clorhídrico y calentada al fuego.

5.15 Sacarosa (opcional), libre de nitrógeno.

6 Aparatos

6.1 Trituradora mecánica

6.2 Tamiz: con tamaño de apertura de 0,8 mm.

6.3 Balanza analítica: capaz de pesar con una precisión de 0,001 g.

6.4 Aparatos de digestión, destilación y valoración

Deberá asegurarse la homogeneidad de la distribución de la temperatura en la unidad de digestión.

La evaluación de la homogeneidad de la distribución de la temperatura debería realizarse llevando a cabo un análisis completo con uno de los dos materiales de referencia (5.6 ó 5.7) y considerando los índices de recuperación obtenidos.

El aparato de destilación también debería verificarse mediante la destilación de una cantidad conocida de una sal de amonio [por ejemplo 10 mL de una disolución de sulfato de amonio (5.13)] y comprobando que el índice de recuperación es igual o superior al 99,8%.

7 Toma de muestras

Una muestra representativa debe haberse enviado al laboratorio. Esta no debe haber sufrido daño o transformación durante el transporte o el almacenamiento.

La toma de muestras no es parte del método especificado en esta norma. En las ISO 6644 e ISO 13690 se describen métodos de toma de muestras recomendados.

8 Preparación de la muestra para análisis

En caso necesario, se tritura la muestra hasta conseguir que atraviese completamente un tamiz de 0,8 mm de apertura. Para granos, debe triturarse como mínimo una masa de 200 g. Se mezcla minuciosamente la muestra triturada.

9 Determinación del contenido de humedad

Se determina el contenido de humedad (w_H) de la muestra para análisis utilizando una alícuota de la muestra, preparada de acuerdo con el epígrafe 8. La determinación se realiza siguiendo el método adaptado al producto que se está analizando (es decir, la NC ISO 712 para los cereales y sus productos derivados y la ISO 6540 para el maíz, o mediante el método descrito en la referencia [10] para algunas legumbres).

10 Procedimiento

10.1 Generalidades

Si se necesita comprobar si se cumplen los requisitos referentes al límite de la repetibilidad (12.2), se realizan dos determinaciones por separado de acuerdo con los apartados 10.2 a 10.5.

10.2 Porción de ensayo

Se pesa, con una precisión de 0,001 g, una masa de muestra para análisis preparada de acuerdo con el epígrafe 8, escogida en función del contenido esperado de nitrógeno, de forma que la porción de ensayo contenga entre 0,005 g y 0,2 g de nitrógeno y preferiblemente más de 0,02 g.

10.3 Determinación

10.3.1 Digestión

AVISO — Las siguientes operaciones deberán realizarse en una cabina bien ventilada resistente al ácido sulfúrico.

Se transfiere la porción de ensayo (10.2) al frasco de digestión y a continuación se añaden

- 10 g de sulfato de potasio (5.1),
- 0,30 g de sulfato de cobre (II) pentahidratado (5.2),
- 0,30 g de óxido de titanio (5.3) (puede utilizarse un catalizador en forma de pastilla correspondiente a la composición descrita), y
- 20 mL de ácido sulfúrico (5.4).

La cantidad de ácido puede ajustarse en función del aparato concreto, pero solamente una vez que se haya asegurado que esta medida conduce realmente a un límite de recuperación del 99,5% para la acetanilida y del 99,0% para el triptofano.

Se mezcla cuidadosamente para asegurar que la porción de ensayo se humedece completamente

Se introducen los frascos de digestión en la unidad de digestión previamente calentada a (420 ± 10) °C.

Después de un tiempo de digestión de como mínimo 2 h, contadas a partir del momento en que la temperatura de la unidad vuelve a alcanzar los (420 ± 10) °C, se deja enfriar.

NOTA: Es aconsejable añadir piedra pómez (5.14) como regulador de ebullición y un agente antiespumante como el aceite de parafina (5.5).

El tiempo mínimo de digestión debe comprobarse en aquel material de referencia que sea más difícil alcanzar el índice de recuperación (véase el apartado 10.5).

Se deben seguir las recomendaciones del fabricante del equipamiento en lo referente a la evacuación de los gases, ya que una succión demasiado intensa puede provocar una pérdida de nitrógeno.

10.3.2 Destilación

Al frasco de digestión ya enfriado se le añaden cuidadosamente 50 mL de agua y se vuelve a dejar enfriar. Se introducen 50 mL de ácido bórico (5.9) en el frasco de recogida, y en el caso de que se emplee colorimetría visual o una sonda óptica, añadir como mínimo 10 gotas del indicador de color (5.10).

Se añade un **exceso** de 5 mL de disolución de hidróxido de sodio (5.11) el cual se requiere para neutralizar la cantidad de ácido sulfúrico utilizado. A continuación se realiza la destilación.

En función del equipamiento utilizado, las cantidades de reactivos pueden variar.

10.3.3 Valoración

La valoración se realiza utilizando la disolución de ácido sulfúrico (5.12), bien de forma continua a lo largo de la destilación, o bien al terminar la destilación sobre el total del destilado.

La determinación del punto de equivalencia se juzga mediante colorimetría visual, o utilizando una sonda óptica, o mediante análisis potenciométrico con un sistema de medida del pH.

10.4 Análisis en blanco

Se realiza un análisis en blanco empleando los reactivos utilizados en los apartados 10.3.1 a 10.3.3, pero omitiendo la porción de ensayo (10.2).

NOTA: Se puede reemplazar la porción de ensayo por 1 g de sacarosa (5.15).

10.5 Análisis de un material de referencia (Análisis de comprobación)

Se seca(n) el(los) material(es) de referencia utilizado(s) a una temperatura de entre 60 °C y 80 °C, a vacío, en presencia de pentóxido de fósforo (5.8).

Se realiza un análisis de comprobación sobre una porción de ensayo de como mínimo 0,15 g, determinando el contenido de nitrógeno del triptófano (5.7) y/o de la acetanilida (5.6).

NOTA: Se puede añadir 1 g de sacarosa (5.15) al material de referencia.

El índice de recuperación de nitrógeno a partir de la acetanilida debe ser como mínimo del 99,5% y para el triptófano como mínimo del 99,0%.

11 Expresión de los resultados

11.1 Contenido de nitrógeno

El contenido de nitrógeno, w_N expresado como fracción en masa de producto seco, en tanto por ciento, se obtiene utilizando la siguiente ecuación:

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

Donde:

V_0 es el volumen, en mililitros, de la disolución de ácido sulfúrico (5.12) requerida para el análisis en blanco;

V_1 es el volumen en mililitros, de la disolución de ácido sulfúrico (5.12) requerida en la porción de ensayo;

0,014 es el valor, en gramos, de la cantidad de nitrógeno equivalente al uso de 1 mL de una disolución 0,5 mol/L de ácido sulfúrico;

T es la normalidad de la disolución de ácido sulfúrico utilizada en la valoración;

m es la masa, en gramos, de la porción de ensayo;

w_H es el contenido de humedad, determinado según el epígrafe 9.

El resultado se expresa con dos cifras decimales.

11.2 Contenido de proteína bruta

El contenido de proteína bruta del producto seco se calcula multiplicando el valor del contenido de nitrógeno obtenido en la determinación (11.1) por un factor de conversión adaptado al tipo de cereal o legumbre y a su utilización.

El resultado se expresa con una cifra decimal.

NOTA En el anexo C se muestran algunos factores de conversión utilizados para los cereales. En otros casos, se suele utilizar generalmente el valor de 6,25.

12 Precisión

12.1 Análisis interlaboratorios

En el Anexo A se resumen los detalles de los análisis interlaboratorios sobre la precisión del método. Los valores obtenidos a partir de dichos análisis interlaboratorios pueden no resultar aplicables a rangos de concentraciones y matrices diferentes de las indicadas.

12.2 Repetibilidad

La diferencia absoluta entre los resultados de dos análisis individuales independientes obtenidos mediante la aplicación del mismo método sobre un material para análisis idéntico, realizados dentro de un corto intervalo de tiempo en el mismo laboratorio, por el mismo analista, y utilizando el mismo equipamiento, no será superior en más de un 5% de los casos al valor del límite de la repetibilidad r calculado en base a la siguiente ecuación:

$$r = (0,0063 \times w_P) \times 2,8$$

Donde: w_P es el contenido de proteína bruta de la muestra expresado como fracción en masa del producto seco, en tanto por ciento (véase la tabla B. 1).

Para los productos cuyo contenido de proteína bruta estén comprendidos entre el 7% y el 80%, consúltese la tabla A. 1 y la figura A. 1.

12.3 Reproducibilidad

La diferencia absoluta entre los resultados de dos análisis individuales, obtenidos mediante la aplicación del mismo método sobre un material para análisis idéntico, realizado en laboratorios diferentes por analistas distintos que utilizan equipamiento diferente, no será superior en más de un 5% de los casos al valor del límite de la reproducibilidad R calculado en base a la siguiente ecuación:

$$R = (0,014 \times w_p) \times 2,8$$

(Véase la tabla B.1).

Para los productos cuyo contenido de proteína bruta estén comprendidos entre el 7% y el 80%, consúltense la tabla A. I y la figura A. 1.

12.4 Diferencia crítica

12.4.1 Comparación entre dos grupos de mediciones dentro de un mismo laboratorio

La diferencia crítica (CDr) entre dos promedios, cada uno de ellos obtenido con los resultados de dos análisis realizados bajo condiciones de repetibilidad, es igual a:

$$CDr = 1,98 \times s_r = 1,98 \times (0,063 \times w_p) = 0,01247 \times w_p$$

(Véase la tabla B.1).

12.4.2 Comparación de dos grupos de mediciones procedentes de dos laboratorios

La diferencia crítica (CDR) entre dos promedios, cada uno de ellos obtenidos con los resultados de dos análisis realizados por dos laboratorios diferentes bajo condiciones de repetibilidad, es igual a:

$$CDR = 2,8 \sqrt{s_R^2 - 0,5s_r^2} = 2,8 \sqrt{(0,014 \times w_p)^2 - 0,5 \times (0,0063 \times w_p)^2} = 0,03716 \times w_p$$

(Véase la tabla B.1).

13 Informe del análisis

El informe del análisis debe detallar:

- a) toda la información necesaria para la identificación completa de la muestra;
- b) el método de toma de muestras utilizado, si se conoce;
- c) el método de análisis empleado haciendo referencia a esta norma internacional;
- d) el factor de conversión utilizado (véase la Nota del epígrafe 11.2);

e) todos los detalles experimentales no descritos en esta norma internacional, o considerados opcionales, junto con los detalles de todo tipo de incidencias que pudieran haber influido sobre el(los) resultado(s) del análisis;

f) el (los) resultado (s) obtenido (s) o, si se ha comprobado la repetibilidad, el resultado final registrado.

Anexo A

(informativo)

Resultados de los análisis interlaboratorios

La repetibilidad, reproducibilidad y diferencia crítica del método se establecieron mediante dos circuitos de análisis interlaboratorios realizados de acuerdo con los requisitos de las Partes 2, 3 y 6 de la ISO 5725.

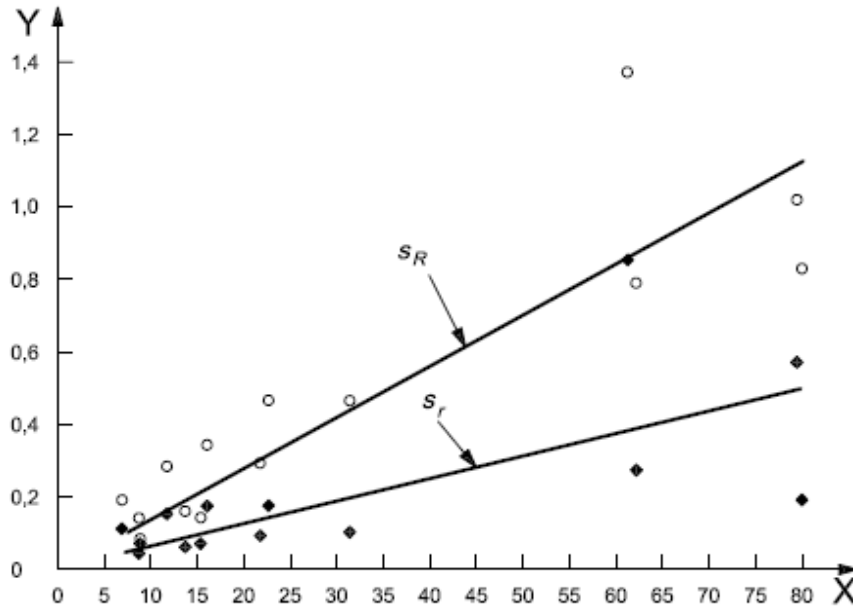
En este análisis participaron diez laboratorios. Se analizaron catorce productos y cuatro materiales de referencia. Los resultados se muestran en la tabla A. 1.

Tabla A.1 — Resultados estadísticos de los análisis interlaboratorios

Parámetros	Muestras ^a						
	1	2	3	4	5	6	7
Número de laboratorios mantenidos tras la eliminación de los discrepantes	10	9	10	10	10	10	10
Contenido medio de proteína ($w_N \times 5,7$), % de materia seca, w_P	7,03	8,94	9,02	11,88	13,90	15,54	16,19
Desviación estándar de la repetibilidad, s_r	0,11	0,04	0,07	0,15	0,06	0,07	0,17
Coefficiente de variación (desviación estándar r /media), %	1,56	0,45	0,78	1,26	0,43	0,45	1,05
Límite de repetibilidad, $r (=2,8 \times s_r)$	0,31	0,11	0,20	0,42	0,17	0,20	0,48
Desviación estándar de la reproducibilidad, s_R	0,19	0,14	0,08	0,28	0,16	0,14	0,34
Coefficiente de variación (desviación estándar R /media), %	2,70	1,57	0,89	2,36	1,15	0,90	2,10
Límite de reproducibilidad, $R (=2,8 s_R)$	0,53	0,39	0,22	0,78	0,45	0,39	0,95
a Las muestras fueron: 1= Harina de trigo común 1; 2= Maíz; 3= Cebada; 4= Trigo común 1, 5= Harina de trigo común 3; 6= Trigo durum, 7= Harina de trigo común 2.							

Tabla A.1 (continuación)

Parámetros	Muestras ^a						
	8	9	10	11	12	13	14
Número de laboratorios mantenidos tras la eliminación de los discrepantes	10	10	10	10	10	10	9
Contenido medio de proteína ($w_N \times 5,7$), % de materia seca, w_P	21,91	22,80	31,57	61,33	62,19	79,46	79,99
Desviación estándar de la repetibilidad. s_r	0,09	0,17	0,10	0,85	0,27	0,57	0,19
Coefficiente de variación (desviación estándar r /media), %	0,41	0,75	0,32	1,39	0,43	0,72	0,24
Límite de repetibilidad, $r (=2,8 \times s_r)$	0,25	0,48	0,28	2,38	0,76	1,60	0,53
Desviación estándar de la reproducibilidad, S_R	0,29	0,46	0,46	1,37	0,79	1,02	0,83
Coefficiente de variación (desviación estándar R /media), %	1,32	2,02	1,46	2,23	1,27	1,28	1,04
Límite de reproducibilidad, $R (=2,8 S_R)$	0,81	1,29	1,29	3,84	2,21	2,86	2,32
Las muestras fueron: 8= Guisantes 2; 9= Guisantes 1; 10= Judías verdes; 11= Gluten de trigo 1; 12= Gluten de trigo 2, 13= Gluten de maíz 1; 14= Gluten de maíz 2.							



Leyenda

X contenido de proteínas, %

Y desviación estándar, %

Figura A.1 — Relación entre las desviaciones estándar de la repetibilidad, reproducibilidad y valor medio del contenido de proteína

La figura A. 1 muestra que las desviaciones estándar de la repetibilidad y reproducibilidad dependen de los valores de proteína bruta obtenidos y por lo tanto no son constantes.

El establecimiento de una relación funcional entre los valores de precisión (repetibilidad o reproducibilidad) y la cantidad media de proteínas dio origen a varios tipos de relaciones.

Las pequeñas diferencias observadas entre estas relaciones permitieron adoptar una ecuación que atravesara el origen de las coordenadas:

a) ecuación de la regresión lineal para s_r $s_r = 0,0063 \times w_p$

b) coeficiente de correlación $R^2 = 0,4646$

c) ecuación de la regresión lineal para s_R $s_R = 0,014 \times w_p$

d) coeficiente de correlación $R^2 = 0,7849$

Anexo B
(informativo)

Diferencia crítica y aplicación práctica de los límites de la repetibilidad y reproducibilidad para diferentes contenidos de proteína

B.1 Comparación entre los grupos de mediciones dentro de un mismo laboratorio

La diferencia crítica (CDr)¹ entre dos valores promediados de los resultados de dos análisis realizados en condiciones de repetibilidad es igual a

$$CDr = 2.8s_r \sqrt{\frac{1}{2n_1} + \frac{1}{2n_2}}$$

Donde:

s_r es la desviación estándar de la repetibilidad;
 n_1 y n_2 son el número de resultados de ensayos correspondientes a cada uno de los valores promediados.

Si tanto n_1 como n_2 son iguales a dos, la ecuación se reduce a:

$$CDr = 2.8s_r \sqrt{\frac{1}{2}} = 1,98 s_r$$

B.2 Comparación de dos grupos de mediciones procedentes de dos laboratorios

La diferencia crítica (CDR) entre dos valores promediados de los resultados de dos análisis realizados por dos laboratorios diferentes en condiciones de reproducibilidad es igual a:

$$CDR = 2,8 \sqrt{s_R^2 - s_r^2 \left(1 - \frac{1}{2n_1} - \frac{1}{2n_2}\right)}$$

Donde:

s_r es la desviación estándar de la repetibilidad;
 s_R es la desviación estándar de la reproducibilidad;
 n_1 y n_2 son el número de resultados de ensayos correspondientes a cada uno de los valores promediados.

Si tanto n_1 y n_2 son iguales a dos, la ecuación se reduce a:

$$CDR = 2,8 \sqrt{s_R^2 - 0.5s_r^2}$$

¹ La diferencia crítica es la diferencia obtenida entre dos valores promediados de los resultados de dos análisis realizados bajo condiciones de repetibilidad; véase la ISO 5725-6.

Tabla B.1 — Aplicación práctica de los límites de la repetibilidad y reproducibilidad para diferentes contenidos de proteína

Contenido de proteína (w _N × 5,7) %	Desviación estándar de la repetibilidad s _r	Límite de la repetibilidad r	Desviación estándar de la reproducibilidad s _R	Límite de la reproducibilidad R	Diferencia crítica (CD) entre dos promedios	
					en un laboratorio	entre dos laboratorios
10	0,06	0,17	0,14	0,39	0,12	0,37
15	0,09	0,25	0,21	0,59	0,18	0,56
20	0,12	0,34	0,28	0,78	0,24	0,75
25	0,15	0,42	0,35	0,98	0,30	0,93
30	0,18	0,50	0,42	1,18	0,36	1,12
35	0,21	0,59	0,49	1,37	0,42	1,31
40	0,24	0,67	0,56	1,57	0,48	1,49
45	0,27	0,76	0,63	1,76	0,53	1,68
50	0,30	0,84	0,70	1,96	0,59	1,87
55	0,33	0,92	0,77	2,16	0,65	2,05
60	0,36	1,01	0,84	2,35	0,71	2,24
65	0,39	1,09	0,91	2,55	0,77	2,43
70	0,42	1,18	0,98	2,74	0,83	2,61
75	0,45	1,26	1,05	2,94	0,89	2,80
80	0,48	1,34	1,12	3,14	0,95	2,99

Si definimos:

$$\boxed{\text{Análisis 1}} + \boxed{\text{Análisis 2}} = \boxed{\text{Promedio 1 (análisis 1 +análisis 2)/2}}$$

$$\boxed{\text{Análisis 5}} + \boxed{\text{Análisis 6}} = \boxed{\text{Promedio 2 (análisis 5 +análisis 6)/2}}$$

$$\boxed{\text{Análisis 9}} + \boxed{\text{Análisis 10}} = \boxed{\text{Promedio 3 (análisis 9 +análisis 10)/2}}$$

EJEMPLO

El límite de la repetibilidad se aplica entre análisis 1 -- análisis 2
o entre análisis 5 -- análisis 6

El límite de la reproducibilidad es aplicado entre análisis 1 -- análisis 6
o entre análisis 2 -- análisis 9

La diferencia crítica (CD) es aplicado entre promedio 1 – promedio 2
o entre promedio 1 – promedio 3

Anexo C
(informativo)

Factores para convertir el contenido de nitrógeno en contenido de proteína

Producto	Factor de conversión de nitrógeno a proteína
Trigo normal	5,7
Trigo durum	5,7
Productos de la molienda de trigo	5,7 ó 6,25
Trigo para pienso	6,25
Cebada	6,25
Avena	5,7 ó 6,25
Centeno	5,7
Tnticale	6,25
Maíz	6,25
Legumbres	6,25

Bibliografía

- [1] ISO 1871:1975, *Productos alimenticios de origen agrícola. Directrices generales para la determinación de nitrógeno mediante el método de Kjeldahl.*
- [2] ISO 3188:1994, *Almidones y productos derivados. Determinación del contenido es nitrógeno por el método de Kjeldahl. Método titrimétrico.*
- [3] ISO 5725-2:1994, *Exactitud (veracidad y precisión) de resultados y métodos de medición. Parte 2: Método básico para la determinación de la repetibilidad y la reproducibilidad en un método de medida normalizado.*
- [4] ISO 5725-3:1994, *Exactitud (veracidad y precisión) de resultados y métodos de medición. Parte 3: Medidas de precisión intermedias de un método de medida normalizado.*
- [5] ISO 5725-6:1994, *Exactitud (veracidad y precisión) de resultados y métodos de medición. Parte 6: Utilización en la práctica de los valores de exactitud.*
- [6] ISO 5983-1:2005, *Alimentos para animales. Determinación del con tenido en nitrógeno y cálculo del contenido de proteína bruta. Parte 1: Método de Kjeldahl.*
- [7] ISO 6644:2002, *Cereales y productos molidos de cereales en movimiento. Toma de muestras automática por medios mecánicos.*
- [8] ISO 13690:1999, *Cereales, legumbres y productos molidos. Toma de muestras a partir de lotes estáticos.*
- [9] NF V 03-050, *Produits agricoles alimentaires. Directives générales pour le dosage de l 'azote selon la méthode de Kjeldahl.*
- [10] BIPEA, *Conseils méthodologiques pour le dosage de l 'eau dans les grains et les graines. LU68 E 8405. Détermination de le teneur en eau. Protéagineux (Fiche n° 4).*
- [11] European Brewery Convention, *Analytica EBC, 1984.*
- [12] *Nitrogen-ammonia-protein. Modified Kjeldahl method. Titanium oxide and copper sulfate catalyst.* Official Methods and Recommended Practices of the AOCS, (ed. D. E. Firestone). AOCS Official Method Ba Ai 4-91, AOCS Press, Champaign IL, 1997.
- [13] Tkachuk, R. *Nitrogen-to-protein conversion factors for cereals and oilseed meals.* Cereal Chem., **46**(4), 1969, pp. 419-423.
- [14] ICC Standard 105/2, *Determinación del contenido de proteína bruta en cereales y productos derivados en alimentos y forrajes.*