

# CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION



Food and Agriculture  
Organization of the  
United Nations



World Health  
Organization

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Rome, Italy - Tel: (+39) 06 57051 - E-mail: [codex@fao.org](mailto:codex@fao.org) - [www.codexalimentarius.org](http://www.codexalimentarius.org)

Agenda item 4.1

CX/MAS 25/44/4

April 2025

ORIGINAL LANGUAGE ONLY

## JOINT FAO/WHO FOOD STANDARDS PROGRAMME CODEX COMMITTEE ON METHODS OF ANALYSIS AND SAMPLING

Forty-fourth Session

Virtual

5 – 8 May 2025

### METHODS OF ANALYSIS FOR PROTEIN IN QUINOA (Comments in reply to CL 2024/91-MAS)

*submitted by*

*Argentina, Bolivia (Plurinational State of), Egypt, European Union, Indonesia, Peru, Saudi Arabia*

#### **Background**

1. This document compiles comments received through the Codex Online Commenting System (OCS) in response to CL 2024/91-MAS issued in December 2024. Under the OCS, comments are compiled in alphabetical order.
2. The Annex includes comments proposing different methods of analysis and/or proposals only.

#### **Explanatory notes on the appendix**

3. The comments submitted through the OCS are hereby annexed and presented in tabulated format.

## ANNEX

COMMENT	MEMBER
<p>Los productos químicos específicos utilizados para los catalizadores:</p> <p><b>Laboratorio A:</b> Sulfato de potasio                      Selenio metálico</p> <p><b>Laboratorio B:</b> Sulfato de potasio                      Sulfato de Cobre Los diferentes reactivos y las concentraciones que fueron utilizadas:</p> <p><b>Laboratorio A:</b></p> <p>Digestión: <i>Catalizador:</i> Sulfato de potasio (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) - Selenio metálico 0,5 % p/p.  <i>Reactivo:</i> Ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado p.a. (98 % p/p).  Destilación: <i>Reactivos:</i> Hidróxido de sodio (NaOH) 35 % p/v.  Solución de ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) 4 % p/v.  Valoración: <i>Reactivo:</i> Solución de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 0,1000 N  Solución 0,1 % p/v rojo de metilo en etanol (indicador).  Solución 1 % p/v verde de bromocresol en etanol (indicador).  Solución de fenolftaleína 1% p/v en etanol (indicador).</p> <p><b>Laboratorio B:</b></p> <p>Digestión: <i>Catalizador:</i> Sulfato de potasio 99,0% - sulfato de cobre mar 98,0%. Proporción: 350g de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y 62,62g de CuSO<sub>4</sub>. 7,5 - 8,2 g/tubo.  <i>Reactivo:</i> Ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado p.a. (98 % p/p).  Destilación: <i>Reactivos:</i> Hidróxido de sodio ≥ 97,0%, solución de NaOH 32 %;  Ácido bórico 99,9 - 100 %, solución H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 2 %  Valoración: <i>Reactivo:</i> Solución de HCl 0,1N (Ácido clorhídrico 37 %) Indicador rojo de metilo + verde de bromocresol  Primary Standard Sigma Trizma base Tris(hydroxymethyl)-aminomethane</p> <p>Las condiciones empleadas para el método, correspondientes a los datos de validación proporcionados:</p> <p><b>Laboratorio A:</b> <i>Digestión:</i> Colocar la cantidad de muestra (de acuerdo al contenido estimado de nitrógeno) entre 0,1 y 4 g con una precisión de 0,1 mg en tubo de digestión de 100 mL. Agregar (0,6 – 0,7) g y 10 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. La muestra debe estar sumergida en el ácido para que no haya pérdidas de nitrógeno. Colocar los tubos en el rack de digestión. Calentar la mezcla suavemente hasta que cese el desprendimiento de la espuma siguiendo el programa preestablecido en el digestor. La digestión</p>	<p><b>Argentina</b></p>

COMMENT	MEMBER
<p>requiere aproximadamente 2 h. El final de la digestión se establece cuando dejan de observarse partículas de carbón sin oxidar y el líquido queda translúcido. Dejar enfriar.</p> <p><i>Destilación:</i> Colocar el tubo con la muestra digerida en el equipo de destilación agregando 10 mL de agua destilada y dos gotas de fenolftaleína 1% p/v. Preparar un erlenmeyer con 25 mL de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 4% p/v para recoger el amoníaco (NH<sub>3</sub>) destilado y cinco gotas de solución de verde de bromocresol más 1 gota de solución de rojo de metilo y colocarlo a la salida del refrigerante cuidando que el extremo del mismo quede burbujeando en la solución. Una vez colocado el tubo se agrega automáticamente 45 mL NaOH 34% p/v para neutralizar el ácido sulfúrico y brindar un medio alcalino. A continuación, el equipo realiza un precalentamiento de 1 minuto y comienza la destilación por arrastre con vapor de agua. El color de la solución de ácido bórico, originalmente de color ámbar vira al azul con las primeras gotas de amoníaco. Se destila durante 5 minutos hasta recoger 150-200 mL en el erlenmeyer. Finalizada esta etapa se retira el erlenmeyer conteniendo el amoníaco y se procede a la valoración con solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1 N hasta lograr el viraje del indicador al color ámbar inicial. Realizar un blanco de reactivos, siguiendo las mismas indicaciones, pero sin colocar muestra en el tubo.</p> <p><b>Laboratorio B:</b></p> <p><i>Digestión:</i> Colocar a Temperatura: 410°C; tiempo: 2 horas</p> <p><i>Control de digestión:</i> Sucrose form molecular biology. Pureza ≥ 99,5 %</p> <p>Glycine electrophoresis purity reagent (Heavy metals as Pb ≤ 20 ppm ((10 ppm)));</p> <p>Ammonia ≤ 75 ppm ((2 ppm)); O.D.290 of 1 M solution &lt; 0,15 ((0,01)))</p> <p><i>Control de destilación:</i> Ammonium sulfate Suprapur pureza 99,9999 %</p>	
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Los productos químicos específicos utilizados para los catalizadores. R. El laboratorio utiliza en el método validado los catalizadores sulfato de cobre y sulfato de potasio.</li> <li>2. Los diferentes reactivos y las concentraciones que fueron utilizadas. R. Los reactivos utilizados en la validación son: *Sulfato de potación catalizador. *Sulfató de cobre catalizador. *Ácido clorhídrico concentrado p.a. para la digestión. *Hidróxido de sodio al 40% para la destilación. *Indicar mezcla de rojo de metilo y verde de bromo cresol. *Ácido clorhídrico 0,052 mol/L para la titulación.</li> <li>3. Las condiciones empleadas para el método, correspondientes a los datos de validación proporcionados. R. Las condiciones empleadas para el método corresponden a la norma ISO 20843-2013 Cereales y legumbres. Determinación del contenido de nitrógeno y cálculo de contenido de proteína cruda. Método Kjeldahl específico para cereales. De requerir podemos adjuntar los datos de validación obtenidos en el Laboratorio de Control de Alimentos y los respaldos de acreditación del laboratorio que realizo la validación del método.</li> </ol>	<p><b>Bolivia (Plurinational State of)</b></p>

COMMENT	MEMBER
<p>1. Specific Chemicals Used for the Catalysts:  oThe catalysts used in the Kjeldahl digestion process included copper(II) sulfate (<math>\text{CuSO}_4</math>) as a catalyst and potassium sulfate (<math>\text{K}_2\text{SO}_4</math>) to increase the boiling point of sulfuric acid.</p> <p>2. Different Reagents and Their Concentrations Used:  For pump:  o-Sodium hydroxide solution 15%(W/V)  Weight 150 g from NaOH in plastic container. Dissolve it in distilled water with stirring in fume hood. Place the solution to flask 1L (with funnel) .Cool the solution with current or top water to laboratory temperature. Complete the solution to the mark. Put the solution in its tank (Washing bottle )  For titration system:  o-Sodium hydroxide solution 35%(W/V)  Weight 350 g from NaOH in plastic container, Dissolve it in distilled water with stirring in fume hood. Place the solution to flask 1L (with funnel) then Cool the solution with current or top water to laboratory temperature. Complete the solution to the mark. Put the solution in NaOH tank .  o-Boric acid solution 4%(W/V):  Weight 40 g <math>\text{H}_3\text{BO}_3</math> in beaker 1L .Dissolve it in distilled water with stirring. Heat on electric hot plate for 5min.Place the solution to flask 1L (with funnel) ,Complete the solution to the mark.put the solution in boric acid tank.  oSulfuric acid (<math>\text{H}_2\text{SO}_4</math>): Concentrated (96–98%) for digestion.</p> <p>3. Conditions Used for the Method Corresponding to the Validation Data Provided:  SPECIFIC ENVIRONMENTAL CONDITIONS</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1- Preservation of the sample and the control sample according to sample type.</li> <li>2- The period of storage of sample according to sample type.</li> <li>3- kjeldahl must not be operated in hazardous locations the maximum humidity allowed is 80% the maximum ambient temperature must not exceed 40°C .</li> <li>4- weigh from 0.1g to 2 gm of sample(according to presumed nitrogen content of the sample type) to the nearest 0.001 gram on filter paper or insert and put it in digestion tube. and record mass m in grams or by using pipette to give volume V in ml into the digestion tube directly.  -add 2 tablets of catalysts to each tube.  -add 10ml to 30 ml of conc. Sulfuric acid according to sample type.</li> <li>5- Digestion <ul style="list-style-type: none"> <li>- put the digestion tubes in rack of digestion tubes and place it into the heating chamber.</li> <li>- turn on the digester unit and choose the digestion program(the digestion temperature and time)according to sample type. The digest obtained should be clear and free from black particles</li> <li>- switch on pump to remove acid fumes</li> <li>- at the end of digestion process allow tubes to cool to 50-60 C° while pump is working.</li> </ul> </li> </ol>	<p>Egypt</p>

COMMENT	MEMBER
<ul style="list-style-type: none"> <li>- after cooling tubes turn off the digester unit and pump.</li> <li>- At the end of the cooling off phase place the exhaust cassette into the upper suspension. Before removing the insert rack slides the drip tray into the exhaust cassette.</li> </ul> <p>6- Titration</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Turn on the distillation and titration unit and choose the method of analysis.</li> <li>- Insert the data in sample analysis.</li> <li>- Press down quick clamping device and insert the blank tube then close protection door and press enter to start distillation and titration part.</li> <li>- After finished the blank tube replace it with digested tube and insert the weight of sample and press enter.</li> <li>- After the last sample is finished the message analysis finished is displayed.</li> <li>- repeat steps until finish all tubes.</li> </ul>	
<p>The EU and its Member States (EUMS) have no further information regarding</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• the specific chemicals used for the catalysts;</li> <li>• the different reagents and their concentrations that were used; and</li> <li>• what conditions for the method were used corresponding to the validation data provided</li> </ul> <p>for the determination of protein in quinoa using ISO 1871 Food and feed products — General guidelines for the determination of nitrogen by the Kjeldahl method.</p> <p>ISO 1871 gives general guidance for the determination of protein according to the Kjeldahl principles and does not offer validation data. The method is currently listed as a Type I for determination of protein in Teheña and as Type IV for quinoa in CXS 234.</p> <p>In case that detailed information and validation data for the determination of protein in quinoa by the Kjeldahl method become available, the EUMS are wondering how this information will be captured in CXS 234. The EUMS would favour the elaboration of a standard for determination of protein by the principles described in ISO 1871 by an SDOs.</p> <p>Alternatively, the scope of ISO 20483 Cereals and pulses — Determination of the nitrogen content and calculation of the crude protein content — Kjeldahl method could be extended to quinoa provided the validated method for quinoa follows the one outlined in ISO 20483.</p> <p>Describing the validated method for the determination of protein in quinoa in an Annex to CXS 234 could be a possibility but is not favoured by the EUMS.</p>	<p><b>European Union</b></p>
<p>Indonesia currently does not possess an accredited laboratory for testing the protein content in quinoa, primarily because quinoa is not a widely consumed commodity in the country.</p> <p>Additionally, it is important to note that ISO 1871 is presently utilized in Indonesia for testing methods concerning wheat flour and corn flour.</p>	<p><b>Indonesia</b></p>

COMMENT	MEMBER
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Los productos químicos específicos utilizados para los catalizadores:               <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Catalizador (mezcla de 15 g sulfato de potasio anhidro y 0,5 g sulfato de cobre pentahidratado).</li> </ol> </li> <li>• Los diferentes reactivos y las concentraciones que fueron utilizadas:               <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ácido sulfúrico libre de nitrógeno y densidad 1,84 g/mL .</li> <li>2. Solución de ácido bórico 40 g/L .</li> <li>3. Solución de ácido clorhídrico: 0,1 M, estandarizado con hidróxido de sodio 0,1 M (estandarizado con KHP – SRM 84L / NIST) .</li> <li>4. Solución de hidróxido de sodio 400 g/L .</li> <li>5. Sacarosa de pureza 100 % (control de recuperación).</li> <li>6. Glicina de pureza 99,9 % (control de recuperación).</li> <li>7. Sulfato de amonio de pureza 99,8 % (control de recuperación).</li> <li>8. Material de Referencia Certificado ERM BD 381 (harina de centeno).</li> <li>9. Agua ultrapura.</li> </ol> </li> </ul> <p>Las condiciones empleadas para el método, correspondientes a los datos de validación proporcionados</p> <p>Estudio de validación Plan de Validación</p> <p>Los parámetros para la validación del método incluyeron:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Repetibilidad.</li> <li>- Precisión intermedia.</li> <li>- Veracidad.</li> </ul> <p>El esquema general establecido fue: Semana 1 día 1, réplicas del analista 1. Semana 1 día 2, respuestas del analista 2. Semana 2 día 1, réplicas del analista 1. Semana 2 día 2, respuestas del analista 2.</p> <p>La cantidad de réplicas se definió según el espacio disponible en el bloque digestor, siguiendo la siguiente secuencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Un control de blanco.</li> <li>- Un control para recuperación.</li> <li>- Dos controles de MRC.</li> <li>- Resto posiciones bloque digestor: muestras para validación.</li> </ul> <p>Según el esquema planteado se dispondría de cuatro duplicados de valores de MRC (veracidad).</p> <p>Cada analista del laboratorio realizó juntamente con su serie de muestras, un ensayo de humedad por duplicado para la corrección en base seca, según la Norma ISO 712.</p>	<p><b>Peru</b></p>

COMMENT	MEMBER
<p>Cada laboratorio (Instituto Nacional de Metrología o Instituto designado) realizó la validación utilizando una muestra comercial de quinua adquirida en su respectivo mercado local. Los laboratorios participantes fueron:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- BMETRO, Instituto de Metrología de Bolivia, Bolivia.</li> <li>- INACAL, Instituto Nacional de Calidad, Perú.</li> <li>- INEN, Servicio Ecuatoriano de Normalización, Ecuador.</li> <li>- INM, Instituto Nacional de Metrología, Colombia.</li> <li>- ISP, Instituto de Salud Pública de Chile, Chile.</li> <li>- LATU, Laboratorio Tecnológico del Uruguay, Uruguay.</li> <li>- INTI, Instituto Nacional de Tecnología Industrial, Argentina.</li> </ul> <p>La validación concluyó con una comparación interlaboratorios. El objetivo de esta etapa fue establecer el grado de concordancia entre las mediciones de los laboratorios de los Institutos Nacionales de Metrología - INM (o institutos ID designados). Fue realizada por todos los laboratorios que contribuyeron al valor caracterizado del MRC desarrollado en el marco del subproyecto regional del PTB, siguiendo la directriz CIPM MRA-D-05 "Comparaciones de mediciones Versión 1.6".</p> <p>Criterios de validación. Parámetro y Criterio Proteína ISO 1871  Repetibilidad, r, g/100g  <math>r = (0,0063 \times wP) \times 2,8</math></p> <p>Donde wP es el contenido de nitrógeno en base seca  Precisión intermedia, ri, g/100g  2r  Sesgo  MRC 1 - ERM BD 381 – Harina de Centeno</p> <p>Valor certificado en contenido de nitrógeno, en base seca  (U, k = 2):  <math>(1,562 \pm 0,014) \text{ g/100 g}</math></p> <p>MRC 2 - ERM BD 382 – Harina de Trigo  Valor certificado en contenido de nitrógeno, en base seca  (U, k = 2):  <math>(1,851 \pm 0,017) \text{ g/100 g}</math></p> <p>Factor conversion (Nx) (*)  6,25</p> <p>(*) Referencias bibliográficas consultadas para el factor de conversión de nitrógeno a proteína de la Quinua:</p> <p>Nx  Reference</p>	

COMMENT	MEMBER
<p>6,25 Nutrient Data Laboratory, ARS, USDA National Food and Nutrient Analysis Program, Wave 9o, 2005. Beltsville MD United States Department of Agriculture Agricultural Research Service National Nutrient Database for Standard Reference Release 28. 2016-03-30</p> <p>5,7 Carlo Giuseppe Rizzello, Anna Lorusso, Marco Montemurro, Marco Gobetti. (2016). Use of sourdough made with quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i>) flour and autochthonous selected lactic acid bacteria for enhancing the nutritional, textural and sensory features of white bread. <i>Food Microbiology</i> 56, 1-13</p> <p>6,25 Gulsum M. Turkut, Hulya Cakmak, Seher Kumcuoglu, Sebnem Tavman. (2016). Effect of quinoa flour on gluten-free bread batter rheology and bread quality. <i>Journal of Cereal Science</i> 69, 174-181</p> <p>6,25 (pseudocereales) Carla Mota, Mariana Santos, Raul Mauro, Norma Samman, Ana Sofia Matos, Duarte Torres, Isabel Castanheira. (2016). Analytical Methods Protein content and amino acids profile of pseudocereals. <i>Food Chemistry</i> 193, 55–61</p> <p>6,25 S.A. Elsohaimy, T.M. Refaay, M.A.M. Zaytoun. (2015). Physicochemical and functional properties of quinoa protein isolate. <i>Annals of Agricultural Science</i> 60(2), 297–305.</p> <p>6,25 Ana Cláudia Nascimento, Carla Mota, Inês Coelho, Sandra Gueifão, Mariana Santos, Ana Sofia Matos, Alejandra Gimenez, Manuel Lobo, Norma Samman, Isabel Castanheira. (2014). Characterisation of nutrient profile of quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i>), amaranth (<i>Amaranthus caudatus</i>), and purple corn (<i>Zea mays</i> L.) consumed in the North of Argentina: Proximates, minerals and trace elements. <i>Food Chemistry</i> 148, 420–426</p> <p>6,25 Margarita Miranda, Antonio Vega-Gálvez, Elsa Uribe, Jessica López, Enrique Martínez, María José Rodríguez, Issis Quispe, Karina Di Scala. (2011). Physico-chemical analysis, antioxidant capacity and vitamins of six ecotypes of chilean quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd). <i>Procedia Food Science</i> 1, 1439 – 1446</p> <p>6,25 NB 312029:2006 Cereales - Quinoa en grano - Determinación de proteínas totales según el método Kjeldahl of the Bolivian Institute of Standardization and Quality (IBNORCA)</p> <p>Condiciones adicionales empleadas para el método</p> <p>Preparación de muestra Cantidad de catalizador: Mezcla de 15 g sulfato de potasio anhidro y 0,5 g sulfato de cobre pentahidratado Cantidad de muestra: 1 g ± 0,05 g</p>	



COMMENT	MEMBER
<p>Digestión  Cantidad de ácido sulfúrico: 20 mL  Temperatura digestión: 420 °C  Tiempo de digestión: hasta obtener una solución clara libre de partículas negras (aproximadamente 2 h)  Destilación  Cantidad de agua para diluir la muestra digestada: 100 mL  Cantidad de solución de hidróxido de sodio 400 g/L: 70 mL  Tiempo de destilación: 6 minutos</p> <p>Volumen final de destilación: 300 mL (destilado recogido sobre 100 mL de solución de ácido bórico 40 g/L)  Titulación  Titulación potenciométrica, con ácido clorhídrico 0,1 N (estandarizado)</p> <p>Equipos utilizados</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Balanza analítica 0,000 1 g</li> <li>2. Sistema de digestión, destilación y titulación (automático)</li> <li>3. Ph metro y electrodo de vidrio</li> <li>4. Milli-Q - Integral 5</li> <li>5. Estufa eléctrica</li> </ol> <p>Parámetro - Criterio - Lab 1 - Lab 2 - Lab 3 - Lab 4 - Lab 5 - Lab 6 - Lab 7</p> <p>RSD r, % / --- / 0,62 / 0,2 / 0,64 / 0,44 / 0,07 / 4,32  0,94</p> <p>Repetibilidad, r, g/100g / <math>r = (0,0063 \times wP) \times 2,8</math> / 0,24 / 0,028 / 0,27 / 0,18 / 0,42 / 0,202 / 0,27 /  RSD ri, % / --- / 0,65 / 0,4 / 0,85 / 0,38 / 0,08 / 3,68 / 0,98</p> <p>Precisión intermedia, / ri, g/100g / 2r / 0,38 / 0,056 / 0,36 / 0,18 / 0,56 / 0,210 / 0,50</p> <p>Material de referencia certificado, Valor de certificado, ,g/100 g/ --- / ERM – / BD 381  1,562 ± 0,014 / ERM – / BD 382 / 1,851 ± 0,017 ERM-BD382 / 1,851 ± 0,017  ERM-BD382 / 1,851 ± 0,017 / ERM-BD381 / 1,562 ± 0,014 / ERM-BD381 / 1,562 ± 0,014  ERM-BD382 / 1,851 ± 0,017</p> <p>Valor promedio , N, g/100g / ---1,554 / n,i, / 1,837 / 1,840 / 1,568 / n,i, 1,838  Sesgo, g/100g / --- 0,008 / n,i, / 0,014 / 0,011 / 0,006 / n,i, / 0,016  Us, k=2, g/100g / --- / 0,030 / n,i, / 0,029 / 0,039 / 0,019 / n,i, / 0,092  --- / Cumple / ---Cumple / Cumple / Cumple / ---/Cumple</p> <p>Resultados de la comparación interlaboratorios</p> <p>Los laboratorios realizaron las pruebas en dos muestras, según la asignación aleatoria de uso realizada al finalizar la preparación del lote. Para cada muestra, debían realizar al menos dos réplicas, informando el valor de cada réplica obtenida</p>	

COMMENT	MEMBER
<p>y el promedio de dichos valores y su incertidumbre asociada.</p> <p>Los laboratorios debían homogeneizar correctamente las botellas antes de tomar las alícuotas y seguir los métodos previamente validados.</p> <p>En aquellos parámetros en los que el número de resultados informados fue superior a cuatro, se calculó el valor consensuado mediante la mediana (KCRV).</p> <p>La incertidumbre estándar del valor consensuado ( ) se calculó como:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- número de laboratorios</li> <li>- resultado reportado por el laboratorio</li> <li>- mediana de los resultados reportados</li> </ul> <p>Para calcular los grados de equivalencia, se determinó la diferencia entre el valor reportado y el valor de consenso (di) y su incertidumbre asociada, U(di), según las siguientes ecuaciones:</p> <p>A lo largo de esta etapa, se realizaron las mediciones necesarias para alcanzar valores de grados de equivalencia (DoE) dentro o próximos al rango -1; 1, y se revisaron los cálculos de incertidumbre.</p> <p>En los parámetros en los que el número de datos proporcionados por los laboratorios fue de 4 o menos, se utilizó el error normalizado, siendo el valor para alcanzar <math>E_n \leq 1</math>.</p> <p>Método ISO 1871 Laboratorio - Proteína (di / Udi) Lab 1 - 0,0 Lab 2 - 0,6 Lab 3 - -0,9 Lab 4 - 0,1 Lab 5 - 0,4 Lab 6 - -1,1 Lab 7 - -0,7</p>	
<p>Firstly, The Kingdom of Saudi Arabia would like to thank the committee of CCMAS for their efforts. The Kingdom of Saudi Arabia respectfully submits the following comments on the Request for information on ISO 1871 (determination of protein in quinoa).</p> <p>ISO 1871:2009 provides general guidelines for determining nitrogen content in food and feed products using the Kjeldahl method, and quinoa is no exception. Below are the details corresponding to your queries:</p> <p>1. Specific Chemicals Used for the Catalyst:</p> <p>The Kjeldahl method involves digestion of the sample with concentrated sulfuric acid in the presence of catalysts to convert organic nitrogen into ammonium sulfate. The catalysts used is two Kjeltabs Cu 3.5 (alternatively 7 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 0.8 g CuSO<sub>4</sub>•5H<sub>2</sub>O) which facilitate the digestion process.</p>	<p><b>Saudi Arabia</b></p>

COMMENT	MEMBER
<p>2. Reagents and Their Concentrations:</p> <p>The method specifies the use of the following reagents:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sulfuric Acid (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>): Nitrogen-free sulfuric acid (95-98%, Analytical Grade) is used for digestion.</li> <li>• Boric Acid Solution: A solution with a concentration of 1% w/v.</li> <li>• Hydrochloric acid (HCl) solutions: The concentration is 0.1 mol/L.</li> <li>• Indicators: the indicators used are a combination of methyl red and bromocresol green. <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Bromocresol Green Solution - preparation of receiver solutions. Dissolve 100 mg bromocresol green (C<sub>21</sub>H<sub>14</sub>Br<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S, Analytical Grade) in 100 mL methanol (≥99.5%).</li> <li>○ Methyl Red Solution - Preparation of Receiver Solutions Dissolve 100 mg of methyl red solution (C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, Analytical Grade) in 100 mL of methanol (≥ 99.5%).</li> </ul> </li> <li>• Sodium hydroxide (NaOH) solution, nitrogen-free, 40% w/v NaOH, purity of NaOH pellets ≥97%</li> </ul> <p>3. Conditions used to determine the protein content in quinoa</p> <p>The Kjeldahl method involves several critical steps:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Digestion: The sample (1 g) is digested with concentrated sulfuric acid (15 mL) in the presence of catalysts (2 pcs of Kjeltabs Cu 3.5) at 420 °C for one hour to convert organic nitrogen into ammonium sulfate.</li> <li>• Neutralization and Distillation: After digestion, the solution is cooled, and an excess of sodium hydroxide (NaOH) is added to release ammonia. The released ammonia is then distilled into a boric acid solution containing the indicators.</li> <li>• Titration: The ammonia captured in the boric acid solution is titrated with hydrochloric acid solution to determine the nitrogen content.</li> </ul>	