

---

**NORME INTERNATIONALE**



**5378**

---

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION • МЕЖДУНАРОДНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ • ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION

---

**Amidons, féculés et produits dérivés — Dosage de l'azote  
selon la méthode de Kjeldahl — Méthode  
spectrophotométrique**

*Starches and derived products — Determination of nitrogen content by the Kjeldahl method —  
Spectrophotometric method*

**(standards.iteh.ai)**

Première édition — 1978-06-15

[ISO 5378:1978](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/435c13aa-776f-4796-8ff-0e6aeb2d336b/iso-5378-1978>

---

CDU 664.2 : 543.846 : 543.42

Réf. n° : ISO 5378-1978 (F)

**Descripteurs** : produit alimentaire, amidon, analyse chimique, dosage, azote, méthode spectrophotométrique.

## 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 confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique correspondant. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO, participent également aux travaux.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour approbation, avant leur acceptation comme Normes internationales par le Conseil de l'ISO.

La Norme internationale ISO 5378 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 93, *Amidon (amidons, féculés), dérivés et sous-produits*, et a été soumise aux comités membres en mars 1976.

Les comités membres des pays suivants l'ont approuvée : [ISO 5378:1978](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/435c13aa-776f-4796-81f1-0e6aeb2d5907/iso-5378-1978)

Allemagne  
Australie  
Autriche  
Chili  
Espagne  
Finlande

France  
Hongrie  
Irlande  
Mexique  
Pays-Bas  
Philippines

Roumanie  
Royaume-Uni  
Tchécoslovaquie  
Turquie  
Yougoslavie

Le comité membre du pays suivant l'a désapprouvée pour des raisons techniques :

Pologne

# Amidons, féculés et produits dérivés — Dosage de l'azote selon la méthode de Kjeldahl — Méthode spectrophotométrique

## 1 OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

La présente Norme internationale spécifie une méthode spectrophotométrique de dosage de l'azote selon la méthode de Kjeldahl, dans les amidons, féculés et leurs produits dérivés, dont la teneur présumée en azote est inférieure à 0,025 % (m/m).<sup>1)</sup>

NOTE — Dans les amidons, féculés et dérivés n'ayant pas reçu d'adjonctions azotées, l'azote est présent essentiellement sous forme de protides et/ou d'acides-amino.

## 2 RÉFÉRENCES

ISO 1227/Add. 2, *Amidon (amidons, féculés), dérivés et sous-produits — Vocabulaire.*

ISO 1871, *Produits agricoles alimentaires — Directives générales pour le dosage de l'azote selon la méthode de Kjeldahl.*

ISO 3188, *Amidons, féculés et produits dérivés — Dosage de l'azote selon la méthode de Kjeldahl — Méthode titrimétrique.*

## 3 DÉFINITION

**teneur en azote :** Valeur trouvée en utilisant la méthode spécifiée. Elle inclut la teneur en azote des acides-amino libres, des composés produisant des acides-amino par hydrolyse et des composés ammoniacaux. Elle n'inclut pas l'azote des radicaux nitrites et nitrates, ni l'azote directement lié à un autre atome d'azote ou l'azote lié à un atome d'oxygène.

## 4 PRINCIPE

Minéralisation d'une prise d'essai par l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur composé<sup>2)</sup>, alcalinisation des produits de la réaction, distillation de l'ammoniac libéré, qui est recueilli dans une solution d'acide sulfurique, et spectrophotométrie du sel d'ammonium formé après addition de réactif de Nessler.

## 5 RÉACTIFS

Au cours de l'analyse, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue, et de l'eau distillée exempte d'ammoniac ou de l'eau de pureté au moins équivalente.

**5.1 Acide sulfurique**, concentré,  $\rho_{20}$  1,84 g/ml [96 % (m/m)].

**5.2 Hydroxyde de sodium**, solution à 30 % (m/m),  $\rho_{20}$  1,33 g/ml.

NOTE — Cette solution peut toutefois être plus concentrée.

**5.3 Catalyseur composé<sup>3)</sup>**, constitué, par exemple, de

— sulfate de potassium : 97 g;

— sulfate de cuivre(II) anhydre : 3 g.

**5.4 Sulfate d'ammonium**, ou **oxalate d'ammonium**, ou **chlorure d'ammonium**.

**5.5 Acide sulfurique**, solution titrée environ 0,1 N.

**5.6 Réactif de Nessler**, préparé de la façon suivante, au moins 2 jours avant son utilisation :

Dissoudre 100 g d'iodure de mercure(II) et 70 g d'iodure de potassium dans 100 ml d'eau. Dissoudre 224 g d'hydroxyde de potassium dans 700 ml d'eau, dans une fiole jaugée de 1 000 ml, et refroidir à la température ambiante. Ajouter, avec précaution et en agitant, le mélange iodure de mercure(II)-iodure de potassium dans la fiole contenant la solution d'hydroxyde de potassium. Compléter au trait repère avec de l'eau et mélanger. Laisser reposer durant au moins 2 jours avant l'emploi.

NOTE — Le réactif doit être conservé dans un flacon en verre brun. S'il est conservé dans un flacon étanche à l'air et maintenu à l'abri de la lumière, il peut être utilisé même après 1 an, en veillant à ne pas remettre en suspension les sédiments au moment du réemploi.

1) Dans le cas des produits dont la teneur présumée en azote est supérieure à 0,01 % (m/m), voir ISO 3188.

2) Voir ISO 1871.

3) Voir ISO 1871, paragraphe 5.2.

## 6 APPAREILLAGE

Matériel courant de laboratoire, et notamment :

**6.1 Ballon de Kjeldahl**, de capacité convenable, en général de 500 à 800 ml, de préférence à joint rodé, et muni d'une ampoule piriforme en verre s'adaptant librement à la partie supérieure du col du ballon.

**6.2 Support d'appareil d'attaque**, sur lequel le ballon de Kjeldahl (6.1) peut être chauffé en position inclinée, de manière que seule la partie de la paroi du ballon où se trouve le liquide soit soumise au chauffage.

**6.3 Appareil de distillation ou d'entraînement par la vapeur**, muni d'une ampoule à décanter graduée, de 200 ml, et d'un piège efficace, ce dernier étant relié au ballon de Kjeldahl (6.1) par l'intermédiaire d'un réfrigérant.

Cependant, tous les appareils qui satisfont aux essais témoins indiqués dans l'ISO 1871 sont admis.

**6.4 Fioles coniques**, de capacité 100 ml.

**6.5 Fiole jaugée**, à col lisse, de capacité 200 ml, conforme à l'ISO 1042, classe A.

**6.6 Pipettes**, de capacité appropriée, conforme à l'ISO 648, classe A.

**6.7 Spectrophotomètre**, réglable à la longueur d'onde de 430 nm et muni de cuves appropriées dont le parcours optique doit être précisé dans le procès-verbal d'essai.

**6.8 Broyeur mécanique**, ou mortier.

**6.9 Tamis**, d'ouverture nominale 0,6 mm, conforme aux spécifications de l'ISO 565.

**6.10 Balance analytique**.

## 7 MODE OPÉRATOIRE

### 7.1 Préparation de l'échantillon pour essai

Mélanger soigneusement et rapidement l'échantillon, en le secouant ou en l'agitant avec une spatule dans le récipient pour échantillon<sup>1)</sup>; si celui-ci est trop petit pour opérer ainsi, transférer la totalité de l'échantillon dans un autre récipient, préalablement séché et de taille convenable pour effectuer facilement le mélange.

Il peut être nécessaire de broyer l'échantillon pour qu'il passe sans refus au tamis (6.9).

### 7.2 Prise d'essai

Peser, à 0,001 g près, de 2 à 5 g (masse  $m_0$ ) de l'échantillon pour essai (7.1), selon la teneur présumée en azote, et transférer cette prise d'essai dans le ballon de Kjeldahl (6.1) préalablement séché, en opérant de façon à ne laisser aucune trace du produit sur la paroi intérieure du col du ballon.

La prise d'essai peut être pesée, notamment lorsqu'il s'agit d'un liquide visqueux ou d'un produit pâteux, dans un petit godet en verre ou dans une feuille d'aluminium, de papier ou de plastique, n'apportant aucune surcharge d'azote, ou dont la teneur en azote est connue, et qu'on laissera dans le ballon. Dans le cas d'un support responsable d'un apport d'azote, il faudrait en tenir compte dans l'essai à blanc (7.8).

### 7.3 Minéralisation

Ajouter 3 g du catalyseur composé (5.3) et, au moyen d'une éprouvette graduée appropriée, le volume, en millilitres, de l'acide sulfurique concentré (5.1) nécessaire, calculé d'après la formule  $20 + 4 m_0$ , et de façon que l'acide rince la paroi intérieure du col du ballon.

Mélanger le contenu du ballon, en agitant doucement ce dernier jusqu'à ce que le mélange ne contienne plus de grumeaux et que la prise d'essai soit complètement mouillée. Afin d'éviter la surchauffe, ajouter des régulateurs d'ébullition (par exemple billes en verre) avant de placer l'ampoule piriforme (voir 6.1) sur le col du ballon, et mettre celui-ci en position inclinée sur le support de l'appareil d'attaque (6.2).

Chauffer progressivement jusqu'à ébullition douce du liquide dans le ballon. Poursuivre le chauffage durant 1 h après que le liquide sera devenu limpide. Dans le cas d'un appareil d'attaque chauffé au gaz, veiller à ce que la flamme ne dépasse pas la partie du ballon remplie de liquide, cela afin d'éviter des pertes d'azote.

### 7.4 Distillation

Laisser refroidir, et rincer l'ampoule piriforme et le col du ballon avec quelques millilitres d'eau en laissant les liquides de rinçage couler dans le ballon. Ajouter, avec précaution, de 50 à 150 ml d'eau (selon l'appareil utilisé) en agitant le contenu du ballon. Adapter le ballon à l'appareil de distillation ou d'entraînement par la vapeur (6.3), préalablement rendu exempt d'ammoniac par ébullition.

Ajuster l'extrémité inférieure du réfrigérant de façon qu'il plonge le plus bas possible sous la surface liquide, dans la fiole jaugée (6.5) contenant 25 ml de la solution d'acide sulfurique (5.5). Alcaliniser le liquide de minéralisation en ajoutant lentement, par l'intermédiaire de l'ampoule à

1) Dans le cas du sirop de glucose, enlever la couche superficielle (environ 5 mm) avant de mélanger.

décarter graduée (voir 6.3) placée sur le col du ballon, 120 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (5.2), et en s'assurant que le col de l'ampoule est toujours rempli de solution d'hydroxyde de sodium. Bien mélanger, puis ouvrir le robinet d'eau du réfrigérant et mettre le chauffage en marche; l'entraînement de l'ammoniac commence alors.

Pendant la distillation, veiller à ce que la production de vapeur soit maintenue à un débit constant. La distillation est complète lorsque environ 150 ml de liquide ont été distillés en 20 à 30 min.

Arrêter le chauffage et abaisser la fiole. Laisser le réfrigérant s'égoutter durant quelques minutes dans la fiole, et rincer l'extrémité du réfrigérant avec de l'eau en recueillant les liquides de rinçage dans la fiole. Compléter au trait repère avec de l'eau et mélanger.

### 7.5 Préparation de la courbe d'étalonnage

Préparer une série appropriée de solutions étalons ayant au moins cinq concentrations différentes et connues en un sel d'ammonium (5.4). Dans une série de fioles coniques de 100 ml (6.4), introduire, à l'aide d'une pipette (6.6), 50 ml de chacune de ces solutions étalons et, dans une autre fiole conique de 100 ml (6.4), 50 ml d'eau. La dernière solution correspond à la concentration zéro en sel d'ammonium de la courbe d'étalonnage.

Ajouter, à l'aide d'une pipette (6.6), 1,0 ml du réactif de Nessler (5.6) au contenu de chaque fiole et mélanger.

Laisser reposer durant 10 min et mesurer l'absorbance de chacune de ces solutions au moyen du spectrophotomètre (6.7) réglé à la longueur d'onde de 430 nm.

Tracer la courbe d'étalonnage donnant l'absorbance en fonction du nombre de microgrammes d'azote.

### NOTES

1 Entre 0 et 240 µg d'azote pour 50 ml de solution (soit 0 à environ 5 000 µg d'azote pour 1 000 ml), la courbe d'étalonnage est une ligne droite.

2 Chaque point de la courbe d'étalonnage doit être la moyenne arithmétique de deux déterminations.

### 7.6 Spectrophotométrie

À l'aide d'une pipette appropriée (6.6), prélever un volume,  $V$ , du distillat obtenu en 7.4, renfermant au maximum 175 µg d'azote (en général entre 25 et 50 ml, selon la teneur présumée en azote du produit), et l'introduire dans une fiole conique de 100 ml (6.4). Amener éventuellement le volume à 50 ml avec de l'eau distillée. Ajouter, à l'aide d'une pipette (6.6), 1,0 ml du réactif de Nessler (5.6) et mélanger. Laisser reposer durant 10 min et mesurer l'absorbance de la solution au moyen du spectrophotomètre (6.7) réglé à la longueur d'onde de 430 nm.

### 7.7 Nombre de déterminations

Effectuer deux déterminations sur le même échantillon pour essai (7.1).

### 7.8 Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc uniquement sur les réactifs, en suivant le mode opératoire spécifié en 7.4 et 7.6, et en utilisant 50 ml de distillat. Si la prise d'essai a été pesée dans un support responsable d'un apport d'azote (voir 7.2), exécuter l'essai à blanc en utilisant un support identique et en effectuant, en outre, les opérations spécifiées en 7.3.

### 7.9 Essais témoins

Procéder aux essais témoins spécifiés dans l'ISO 1871.

## 8 EXPRESSION DES RÉSULTATS

La teneur en azote de l'échantillon est donnée, en pourcentage en masse, par la formule

$$\left( m_1 \times \frac{200}{V} - m_2 \times \frac{200}{50} \right) \times \frac{1}{10^6} \times \frac{100}{m_0} \\ = \left( \frac{m_1}{V} - \frac{m_2}{50} \right) \times \frac{1}{50 m_0}$$

où  $m_0$  est la masse, en grammes, de la prise d'essai (7.2);

$m_1$  est la masse, en microgrammes, d'azote présent dans la partie aliquote  $V$ , lue sur la courbe d'étalonnage;

$m_2$  est la masse, en microgrammes, d'azote obtenu dans l'essai à blanc sur 50 ml de distillat, lue sur la courbe d'étalonnage;

$V$  est le volume, en millilitres, de la partie aliquote du distillat prélevée en 7.6.

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations.

## 9 PROCÈS-VERBAL D'ESSAI

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée, le parcours optique de la cuve et les résultats obtenus. Il doit, en outre, mentionner tous les détails opératoires non prévus dans la présente Norme internationale, ou facultatifs, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur les résultats.

Le procès-verbal d'essai doit donner tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

Page blanche

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 5378:1978

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/435c13aa-776f-4796-8ff-0e6aeb2d336b/iso-5378-1978>

Page blanche

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 5378:1978

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/435c13aa-776f-4796-8ff-0e6acb2d336b/iso-5378-1978>

Page blanche

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 5378:1978

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/435c13aa-776f-4796-81f0e6aeb2d336b/iso-5378-1978>