
Norme internationale



5983

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

Aliments des animaux — Détermination de la teneur en azote en vue du calcul de la teneur en protéines brutes

Animal feeding stuffs — Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content

Première édition — 1979-12-27

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 5983:1979](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8fde0683-7cb1-46e1-80f5-9d1bb222c61c/iso-5983-1979>

CDU 636.085/.087 : 543.846

Réf. n° : ISO 5983-1979 (F)

Descripteurs : nutrition animale, produit animal, analyse chimique, dosage, azote, protéine, méthode de Kjeldahl.

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 5983 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, et a été soumise aux comités membres en novembre 1977.

Les comités membres des pays suivants l'ont approuvée :

Afrique du Sud, Rép. d'	Inde	Portugal
Australie	Iran	Roumanie
Bulgarie	Irlande	Royaume-Uni
Canada	Israël	Tchécoslovaquie
Égypte, Rép. arabe d'	Mexique	Thaïlande
Espagne	Nouvelle-Zélande	Turquie
Ethiopie	Pays-Bas	URSS
France	Philippines	USA
Hongrie	Pologne	Yougoslavie

Aucun comité membre ne l'a désapprouvée.

Aliments des animaux – Détermination de la teneur en azote en vue du calcul de la teneur en protéines brutes

1 OBJET

La présente Norme internationale spécifie une méthode de détermination de la teneur en azote des aliments des animaux selon la méthode de Kjeldahl, et une méthode de calcul de la teneur en protéines brutes.

Pour les directives générales en vue de l'application de la méthode de Kjeldahl, voir ISO 1871.

2 DOMAINE D'APPLICATION

La méthode ne permet pas de distinguer entre azote protéique et azote non protéique. Lorsqu'il est important de déterminer la teneur en azote non protéique, des méthodes appropriées doivent être utilisées.

Dans certains cas, la récupération de la totalité de l'azote des nitrates et nitrites n'est pas possible par cette méthode.

3 RÉFÉRENCE

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

4 PRINCIPE

Minéralisation de la matière organique par l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur, alcalinisation des produits de la réaction, distillation et titrage de l'ammoniac libéré. Calcul de la teneur en azote et multiplication du résultat par le facteur conventionnel 6,25 afin d'obtenir la teneur en protéines brutes.

5 RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique reconnue. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau de pureté au moins équivalente.

Tous les réactifs [à l'exception des étalons (5.6)] doivent être pratiquement exempts de composés azotés.

5.1 Sulfate de potassium.

5.2 Catalyseur :

AVERTISSEMENT – L'attention est attirée sur les risques de toxicité des composés du mercure. Toutes les précautions

nécessaires pour leur manipulation doivent être prises. Les solutions contenant du mercure ne doivent pas être jetées directement dans les conduits mais mises de côté en vue d'un traitement ultérieur.

5.2.1 Mercure; ou

5.2.2 Oxyde de mercure(II) (HgO); ou

5.2.3 Oxyde de cuivre(II) (CuO); ou

5.2.4 Sulfate de cuivre(II) pentahydraté (CuSO₄.5H₂O).

5.3 Acide sulfurique, ρ_{20} 1,84 g/ml.

5.4 Paraffine.

5.5 Saccharose.

5.6 Étalons :

5.6.1 Acétanilide [point de fusion : 114 °C; teneur en azote (N) : 10,37 % (m/m)].

5.6.2 Tryptophane [point de fusion : 282 °C; teneur en azote (N) : 13,37 % (m/m)].

5.7 Hydroxyde de sodium, solution à 33 % (m/m).

5.8 Réactif pour la précipitation du mercure :

5.8.1 Thiosulfate de sodium, solution préparée en dissolvant 80 g de thiosulfate de sodium pentahydraté (Na₂S₂O₃.5H₂O) dans 1 000 ml d'eau; ou

5.8.2 Hypophosphite de sodium ou de potassium.

5.9 Liquide de récupération :

5.9.1 Acide sulfurique, solution titrée 0,1 N ou 0,25 N; ou

5.9.2 Acide borique, solution à 40 g/l.

5.10 Solution de titrage :

5.10.1 Hydroxyde de sodium, solution titrée 0,1 N ou 0,25 N; ou

5.10.2 Acide sulfurique, solution titrée 0,1 N ou 0,25 N.

5.11 Indicateur mixte.

Dissoudre 2 g de rouge de méthyle et 1 g de bleu de méthylène dans 1 000 ml d'éthanol à 95 % (V/V).

5.12 Papier de tournesol.

5.13 Régularisateur d'ébullition : pierre ponce en grains, ou billes en verre de 5 à 7 mm de diamètre, ou morceaux de carborundum lavés à l'acide chlorhydrique et calcinés.

6 APPAREILLAGE

Matériel courant de laboratoire non spécifié par ailleurs, et notamment :

6.1 Balance analytique.

6.2 Appareillage pour la minéralisation, la distillation et le titrage.

7 ÉCHANTILLON

Conserver l'échantillon de façon à éviter toute modification ou toute détérioration de sa composition.

8 MODE OPÉRATOIRE

8.1 Prise d'essai

Peser, à 1 mg près, une masse de l'échantillon pour essai choisie en fonction de la teneur présumée en azote, de façon que la prise d'essai contienne entre 0,005 et 0,08 g d'azote et, de préférence, plus de 0,02 g. La masse de la prise d'essai doit être comprise entre 0,5 et 2,0 g (de préférence 1,0 g).

NOTE — Lorsque l'hétérogénéité de l'échantillon rend nécessaire le prélèvement d'une quantité supérieure à celle qui est prescrite, la quantité présumée d'azote pouvant alors dépasser 0,08 g, augmenter proportionnellement la quantité d'acide sulfurique dans la fiole de réception (voir 8.2.2), si l'on utilise l'acide sulfurique comme liquide de récupération.

8.2 Détermination

AVERTISSEMENT — Les opérations suivantes doivent être effectuées sous une hotte bien ventilée.

8.2.1 Minéralisation de la matière organique

Introduire quantitativement la prise d'essai dans un ballon à minéralisation de Kjeldahl ayant une capacité convenable (en général 800 ml).

Ajouter du sulfate de potassium (5.1); si l'on utilise le mercure ou l'oxyde de mercure(II) comme catalyseur, une quantité de 10 g de sulfate de potassium est suffisante; avec l'oxyde de cuivre(II) ou le sulfate de cuivre(II) pentahydraté comme catalyseur, il est nécessaire de prendre 15 g de sulfate de potassium.

Ajouter une quantité appropriée de catalyseur : 0,65 g (1 goutte) du mercure (5.2.1) ou 0,7 g de l'oxyde de mercure(II) (5.2.2) peut être utilisé pour tous les produits; 0,3 g de l'oxyde de cuivre(II) (5.2.3) ou 0,9 à 1,2 g du

sulfate de cuivre(II) pentahydraté (5.2.4) peut également être utilisé, mais il est alors nécessaire, pour récupérer tout l'azote, d'adopter une durée plus longue pour la minéralisation.

NOTE — Le mercure est préférable comme catalyseur dans le cas de fortes teneurs en protéines.

Ajouter 25 ml de l'acide sulfurique (5.3) pour le premier gramme de matière sèche de la prise d'essai et 6 à 12 ml pour chaque gramme supplémentaire de matière sèche (la minéralisation de l'amidon et des corps gras nécessite respectivement environ 6 et 12 ml). Mélanger soigneusement de façon à assurer un mouillage complet de la prise d'essai.

Chauffer le ballon tout d'abord doucement pour éviter que de la mousse monte dans le col du ballon ou s'échappe du ballon.

NOTE — Il peut être utile d'ajouter un agent antimoussant tel que de la paraffine (5.4).

Chauffer avec modération, en agitant de temps en temps par tournoiement, jusqu'à carbonisation de la masse et disparition de la mousse; chauffer ensuite plus fort jusqu'à ébullition régulière du liquide. Le chauffage est correct si l'acide bouillant se condense au niveau du milieu du col du ballon de Kjeldahl. Éviter la surchauffe des parois du ballon qui ne sont pas au contact du liquide. Dans le cas où l'on utilise une flamme nue, cette surchauffe est évitée en posant le ballon sur une plaque d'amiante munie d'un orifice de diamètre légèrement inférieur à celui du ballon au niveau du liquide.

Pendant la durée de chauffage, disposer le ballon sur un support tel que son axe soit incliné de 30 à 45° par rapport à la verticale.

Lorsque la solution est devenue limpide, poursuivre le chauffage durant 1 h dans le cas de l'utilisation d'un catalyseur au mercure, et durant 2 h dans le cas de l'utilisation d'un catalyseur au cuivre.

Laisser refroidir. Si le résidu froid se solidifie, recommencer la détermination avec une plus grande quantité d'acide sulfurique que celle spécifiée précédemment.

8.2.2 Distillation de l'ammoniac

Ajouter, avec précaution, 250 à 350 ml d'eau pour dissoudre complètement les sulfates, mélanger par tournoiement et laisser refroidir.

Ajouter un régularisateur d'ébullition (5.13).

Introduire, à l'aide d'une pipette, dans la fiole de réception de l'appareil à distillation, 25 ml de la solution d'acide sulfurique 0,1 N ou 0,25 N (5.9.1), selon la teneur présumée en azote de la prise d'essai (voir la note en 8.1), et ajouter 100 à 150 ml d'eau et quelques gouttes de l'indicateur mixte (5.11).

Plonger l'extrémité du réfrigérant sur une profondeur d'au moins 1 cm dans le liquide de la fiole de réception.

Introduire lentement, dans le ballon à minéralisation le

long de la paroi, 100 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (5.7).

NOTE — Si une plus grande quantité de l'acide sulfurique (5.3) que celle spécifiée est utilisée (voir 8.2.1, dernier alinéa), la quantité de solution d'hydroxyde de sodium doit être augmentée proportionnellement.

Si l'on a utilisé un catalyseur à base de mercure, la solution d'hydroxyde de sodium doit être mélangée avec 25 ml de la solution de thiosulfate de sodium (5.8.1) avant d'être introduite dans le ballon.

NOTE — S'il est ajouté séparément, le thiosulfate peut réagir avec l'acide dans le ballon et produire du sulfure d'hydrogène, ce qui donnerait des résultats incorrects. On peut utiliser l'hypophosphite (5.8.2) à la place du thiosulfate; dans ce cas, il n'y a aucun risque de production de sulfure d'hydrogène; l'addition de 1 g d'hypophosphite solide, après la dilution avec l'eau et avant l'addition d'alcali, est suffisante pour la précipitation de 1 g de mercure.

Relier immédiatement le ballon à l'appareil à distillation.

Chauffer le ballon de façon à recueillir 150 ml de distillat en 30 min. Après ce laps de temps, vérifier la neutralité du distillat qui s'écoule de l'extrémité du réfrigérant au moyen de papier de tournesol (5.12). Si la réaction est alcaline, poursuivre la distillation.

Retirer le réfrigérant du liquide juste avant la fin de la distillation, afin d'éviter le siphonnage.

Si, pendant la distillation, le contenu de la fiole de réception devient alcalin, recommencer la détermination en modifiant le mode opératoire de façon appropriée.

Une variante consiste à recueillir le distillat dans 100 à 250 ml de la solution d'acide borique (5.9.2).

8.2.3 Titration

Si l'on utilise l'acide sulfurique comme liquide de récupération, titrer, dans la fiole de réception, l'excès d'acide sulfurique avec la solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N ou 0,25 N (5.10.1) selon le cas, jusqu'à changement de coloration du violet au vert.

Si l'on utilise la solution d'acide borique comme liquide de récupération, titrer l'ammoniac avec la solution d'acide sulfurique 0,1 N ou 0,25 N (5.10.2) selon le cas, jusqu'à changement de coloration du vert au violet. Le titrage simultané de l'ammoniac pendant la distillation est recommandé, car il facilite la vérification de la fin de la distillation. Le point final est indiqué par le changement de coloration de l'indicateur mixte (5.11).

Si le titrage simultané n'est pas possible, le titrage doit être effectué aussi rapidement que possible une fois la distillation terminée, en s'assurant que la température du distillat ne dépasse pas 25 °C. Dans ces conditions, on évite les pertes d'ammoniac.

8.3 Nombre de déterminations

Effectuer deux déterminations sur le même échantillon pour essai.

8.4 Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc en utilisant environ 1 g du saccharose (5.5) comme prise d'essai.

8.5 Essai de contrôle

Effectuer un essai de contrôle en déterminant la teneur en azote de l'acétanilide (5.6.1) ou du tryptophane (5.6.2), et en ajoutant 1 g du saccharose (5.5).

Le choix de la substance pour l'essai de contrôle doit être en relation avec la facilité de minéralisation de l'échantillon à analyser. L'acétanilide est facilement minéralisée, tandis que la minéralisation du tryptophane est plus difficile. Le tryptophane doit être séché avant utilisation.

9 EXPRESSION DES RÉSULTATS

9.1 Calcul de la teneur en azote

9.1.1 Mode de calcul et formules

9.1.1.1 DISTILLAT RECUEILLI DANS L'ACIDE SULFURIQUE

Si les quantités d'acide sulfurique, utilisées pour récupérer l'ammoniac dans le cas de l'essai à blanc (8.4) et dans le cas de la détermination (8.2), sont égales, la teneur en azote, exprimée en pourcentage en masse du produit, est égale à

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

Une variante consiste à recueillir le distillat dans 100 à 250 ml de la solution d'acide borique (5.9.2).

où

V_0 est le volume, en millilitres, de la solution d'hydroxyde de sodium (5.10.1), utilisé pour l'essai à blanc;

V_1 est le volume, en millilitres, de la solution d'hydroxyde de sodium (5.10.1), utilisé pour la détermination;

T est la normalité de la solution d'hydroxyde de sodium (5.10.1) utilisée pour les titrages;

m est la masse, en grammes, de la prise d'essai.

9.1.1.2 DISTILLAT RECUEILLI DANS L'ACIDE BORIQUE

La teneur en azote, exprimée en pourcentage en masse du produit, est égale à

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

$$= \frac{1,4 (V_1 - V_0) \times T}{m}$$

où

V_0 est le volume, en millilitres, de la solution d'acide sulfurique (5.10.2), utilisé pour l'essai à blanc;

V_1 est le volume, en millilitres, de la solution d'acide sulfurique (5.10.2), utilisé pour la détermination;

T est la normalité de la solution d'acide sulfurique (5.10.2) utilisée pour les titrages;

m est la masse, en grammes, de la prise d'essai.

9.1.1.3 RÉSULTAT

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations si les conditions de répétabilité (voir 9.1.2) sont remplies. Exprimer le résultat à 0,01 % (m/m) près.

9.1.2 Répétabilité

La différence entre les résultats de deux déterminations, effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre par le même analyste, ne doit pas dépasser

0,03 (en valeur absolue) pour des teneurs en azote inférieures à 3 % (m/m);

1 % (en valeur relative) de la valeur moyenne pour des teneurs en azote de 3 à 6 % (m/m);

0,06 (en valeur absolue) pour des teneurs en azote supérieures à 6 % (m/m).

9.2 Calcul de la teneur en protéines brutes

Calculer la teneur en protéines brutes du produit en multipliant par le facteur 6,25 la teneur en azote.

Exprimer le résultat à 0,1 % (m/m) près.

10 PROCÈS-VERBAL D'ESSAI

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et le résultat obtenu, exprimé en azote ou en protéines brutes. Il doit, en outre, mentionner le facteur de conversion utilisé (c'est-à-dire 6,25) si le résultat est exprimé en protéines brutes, et indiquer tous les détails opératoires non prévus dans la présente Norme internationale, ou facultatifs, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur le résultat.

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

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 5983:1979](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8fde0683-7cb1-46e1-80f5-9d1bb222c61c/iso-5983-1979)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8fde0683-7cb1-46e1-80f5-9d1bb222c61c/iso-5983-1979>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 5983:1979

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8fde0683-7cb1-46e1-80f5-9d1bb222c61c/iso-5983-1979>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 5983:1979

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8fde0683-7cb1-46e1-80f5-9d1bb222c61c/iso-5983-1979>