
**Aliments des animaux — Détermination de
la teneur en azote et calcul de la teneur en
protéines brutes — Méthode Kjeldahl**

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

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 5983:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/94705b98-78d1-4f1a-bd66-4833969dddef/iso-5983-1997)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/94705b98-78d1-4f1a-bd66-4833969dddef/iso-5983-1997>



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 en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 5983 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 10, *Aliments des animaux*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 5983:1979), dont le mode opératoire a fait l'objet d'une révision technique afin d'exclure l'usage du mercure comme catalyseur.

Les annexes A et B de la présente Norme internationale sont données uniquement à titre d'information.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 5983:1997
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/94705b98-78d1-4f1a-bd66-4833969dddef/iso-5983-1997>

© ISO 1997

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'éditeur.

Organisation internationale de normalisation
Case postale 56 • CH-1211 Genève 20 • Suisse
Internet iso@iso.ch

Version française tirée en 1998

Imprimé en Suisse

Aliments des animaux — Détermination de la teneur en azote et calcul de la teneur en protéines brutes — Méthode Kjeldahl

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode pour la 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.

La méthode ne fait pas la distinction entre azote protéique et azote non protéique. S'il importe de déterminer la teneur en azote non protéique, il convient d'appliquer une méthode appropriée.

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

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

2 Référence normative

La norme suivante contient des dispositions qui, par suite de la référence qui en est faite, constituent des dispositions valables pour la présente Norme internationale. Au moment de la publication, l'édition indiquée était en vigueur. Toute norme est sujette à révision et les parties prenantes des accords fondés sur la présente Norme internationale sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer l'édition la plus récente de la norme indiquée ci-après. Les membres de la CEI et de l'ISO possèdent le registre des Normes internationales en vigueur à un moment donné.

ISO 6498:1983, *Aliments des animaux — Préparation des échantillons pour essai*.

3 Principe

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

4 Réactifs et matériaux

Sauf indication différente, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue, et de l'eau distillée ou de l'eau déminéralisée ou de pureté équivalente.

Les réactifs [à l'exception des matériaux étalons (4.6)] doivent être pratiquement exempts de composés azotés.

4.1 Sulfate de potassium.

4.2 Catalyseur, 4.2.1 ou 4.2.2.

4.2.1 Oxyde de cuivre(II) (CuO).

4.2.2 Sulfate de cuivre(II) pentahydraté ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).

4.3 Acide sulfurique, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 18 \text{ mol/l}$, $\rho_{20}(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1,84 \text{ g/ml}$.

4.4 Paraffine.

4.5 Saccharose.

4.6 Matériaux étalons, 4.6.1 ou 4.6.2.

4.6.1 Acétanilide, point de fusion à 114 °C ; teneur en azote (N) de $103,6 \text{ g/kg}$.

4.6.2 Tryptophane, point de fusion à 282 °C ; teneur en azote (N) de $137,2 \text{ g/kg}$.

Sécher le tryptophane avant utilisation.

4.7 Solution d'hydroxyde de sodium, $w(\text{NaOH}) = 33 \% (m/m)$.

4.8 Liquide de récupération, 4.8.1 ou 4.8.2.

4.8.1 Acide sulfurique, solution titrée, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,05 \text{ mol/l}$ ou $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,125 \text{ mol/l}$.

4.8.2 Acide borique, $\rho(\text{H}_3\text{BO}_3) = 40 \text{ g/l}$.

4.9 Solution de titrage, 4.9.1 ou 4.9.2.

4.9.1 Hydroxyde de sodium, solution titrée, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$ ou $c(\text{NaOH}) = 0,25 \text{ mol/l}$.

4.9.2 Acide sulfurique, solution titrée, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,05 \text{ mol/l}$ ou $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,125 \text{ mol/l}$.

4.10 Indicateur mixte, point neutre pour un pH compris entre 4,4 et 5,8.

Dissoudre 2 g de rouge de méthyle et 1 g de bleu de méthylène dans 1 000 ml d'éthanol $w(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 95 \% (V/V)$.

4.11 Papier de tournesol.

4.12 Régularisateurs d'ébullition: pierre ponce en grains, ou billes en verre de 5 mm à 7 mm de diamètre, ou morceaux de carborundum lavés à l'acide chlorhydrique et à l'eau distillée puis réduits en poussière.

5 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et, en particulier, ce qui suit.

5.1 Balance analytique.

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

6 Échantillonnage

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale. Une méthode d'échantillonnage recommandée est donnée dans l'ISO 6497 [5].

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif, non endommagé ou modifié lors du transport et de l'entreposage.

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

7 Préparation de l'échantillon pour essai

Préparer l'échantillon pour essai conformément à l'ISO 6498.

8 Mode opératoire

NOTE Pour des indications générales sur l'application de la méthode de Kjeldahl, voir l'ISO 1871 [1].

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 g et 0,2 g d'azote et, de préférence, plus de 0,02 g.

NOTE Il convient que la masse de la prise d'essai d'échantillons homogènes séchés à l'air se situe entre 0,5 g et 2,0 g. Il convient que la masse de la prise d'essai d'échantillons humides et/ou non homogènes soit comprise entre 2,5 g et 5,0 g.

8.2 Détermination

AVERTISSEMENT — Il convient d'effectuer les opérations suivantes sous une hotte bien ventilée ou dans une hotte fermée résistant à l'acide sulfurique.

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 15 g de sulfate de potassium (4.1).

Ajouter une quantité appropriée de catalyseur de la manière suivante: 0,3 g d'oxyde de cuivre(II) (4.2.1) ou 0,9 g à 1,2 g de sulfate de cuivre(II) pentahydraté (4.2.2). [ISO 5983:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/94705b98-78d1-4f1a-bd66-88291c182929/iso-5983-1997)

Ajouter 25 ml d'acide sulfurique (4.3) pour le premier gramme de matière sèche de la prise d'essai et 6 ml à 12 ml pour chaque gramme supplémentaire de matière sèche. Mélanger soigneusement de manière à assurer un mouillage complet de la prise d'essai.

Placer le ballon sur un support de manière à incliner son axe dans un angle compris entre 30° et 45° par rapport à la verticale. Maintenir le ballon dans cette position pendant la durée du chauffage.

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

NOTE 1 Il peut être utile d'ajouter un agent antimoussant tel que de la paraffine (4.4).

NOTE 2 Un bloc de destruction constitue un appareil de minéralisation convenant pour assurer le chauffage régulier du mélange.

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.

NOTE 3 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.

NOTE 4 En cas d'utilisation d'une flamme nue, une telle surchauffe peut être évitée en posant le ballon sur une plaque en matériau résistant à la chaleur et munie d'un orifice de diamètre légèrement inférieur à celui du ballon au niveau du liquide.

Lorsque la solution est devenue limpide, avec une légère coloration bleu-vert, chauffer pendant 2 h.

Laisser refroidir. Si le résidu commence à se solidifier, ajouter un peu d'eau et mélanger par tournoiement.

8.2.2 Distillation de l'ammoniac

8.2.2.1 Ajouter, avec précaution, 250 ml à 350 ml d'eau pour dissoudre complètement les sulfates. Si nécessaire, faciliter la dissolution en chauffant le ballon dans de l'eau chaude. Mélanger par tournoiement et laisser refroidir.

Ajouter quelques régulateurs d'ébullition (4.12).

NOTE Dans le cas de certains échantillons spécifiques, les sulfates peuvent ne pas se dissoudre complètement dans l'eau. Dans ce cas, il est recommandé de répéter la minéralisation en utilisant une masse réduite de sulfate de potassium (4.1).

8.2.2.2 À l'aide d'une pipette, introduire dans la fiole de réception de l'appareil à distillation 25 ml d'acide sulfurique (4.8.1) en choisissant la concentration selon la teneur présumée en azote de la prise d'essai. Ajouter 100 ml à 150 ml d'eau. Ajouter quelques gouttes de l'indicateur mixte (4.10). Procéder ensuite conformément à 8.2.2.4.

8.2.2.3 En alternative, introduire dans la fiole de réception 100 ml à 250 ml d'acide borique (4.8.2). Ajouter quelques gouttes de l'indicateur mixte (4.10).

NOTE Le titrage simultané de l'ammoniac (8.2.3.2) pendant la distillation est recommandé car il facilite la vérification de la fin de la distillation.

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

Introduire lentement 100 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (4.7) dans le ballon à minéralisation, le long de la paroi.

Relier immédiatement le ballon à l'appareil à distillation.

Chauffer le ballon de façon à recueillir environ 150 ml de distillat en 30 min. Ce laps de temps écoulé, vérifier la neutralité du distillat qui s'écoule de l'extrémité du réfrigérant au moyen de papier de tournesol (4.11). Si la réaction est alcaline, poursuivre la distillation.

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

Si, pendant la distillation utilisant de l'acide sulfurique comme liquide de récupération, le contenu de la fiole de réception devient alcalin, recommencer la détermination en modifiant le mode opératoire de façon appropriée.

8.2.3 Titrage

NOTE Un titrage avec indication automatique du point final à l'aide d'un pH-mètre est recommandé. Sinon, le point final est indiqué par le changement de coloration de l'indicateur mixte (4.10) ajouté en 8.2.2.

8.2.3.1 Si de l'acide sulfurique est utilisé comme liquide de réception, titrer, dans la fiole de réception, l'excès d'acide sulfurique avec la solution d'hydroxyde de sodium (4.9.1), de dilution appropriée [$c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$ ou $c(\text{NaOH}) = 0,25 \text{ mol/l}$], jusqu'à indication du point final par le pH-mètre ou jusqu'au changement de coloration du violet au vert.

8.2.3.2 Si de l'acide borique est utilisé comme liquide de réception, titrer l'ammoniac avec l'acide sulfurique (4.9.2), de dilution appropriée [$c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,05 \text{ mol/l}$ ou $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,125 \text{ mol/l}$], jusqu'à indication du point final par le pH-mètre ou jusqu'au changement de coloration du vert au violet.

Si le titrage simultané n'est pas possible (voir la note de 8.2.2.3), il convient d'effectuer le titrage 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 Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc en remplaçant la prise d'essai par 1 g de saccharose (4.5).

8.4 Essai de contrôle

Effectuer un essai de contrôle en déterminant la teneur en azote de l'acétanilide (4.6.1) ou du tryptophane (4.6.2) après avoir ajouté 1 g de saccharose (4.5).

Il convient que le choix de la substance pour l'essai de contrôle soit en relation avec la facilité de minéralisation des échantillons à analyser. L'acétanilide est facilement minéralisée, tandis que la minéralisation du tryptophane est plus difficile.

Il convient que la récupération de l'azote de l'acétanilide ou du tryptophane soit d'au moins 99,5 % pour l'acétanilide et d'au moins 99,0 % pour le tryptophane.

Il convient que la différence maximale entre des déterminations effectuées simultanément ne dépasse pas 3 g par kilogramme de teneur en matière sèche.

9 Expression des résultats

9.1 Calcul de la teneur en azote

9.1.1 Distillat recueilli dans l'acide sulfurique

Si les volumes d'acide sulfurique utilisés pour récupérer l'ammoniac dans le cas de la détermination (8.2) et dans le cas de l'essai à blanc (8.3) sont égaux, calculer la teneur en azote de l'échantillon pour essai selon l'équation:

$$w_{N1} = \frac{(V_0 - V_1) \times c_1 \times M}{m}$$

où

w_{N1} est la teneur en azote, en grammes par kilogramme, de l'échantillon pour essai;

V_0 est le volume, en millilitres, de la solution d'hydroxyde de sodium (4.9.1), utilisé pour l'essai à blanc;

V_1 est le volume, en millilitres, de la solution d'hydroxyde de sodium (4.9.1), utilisé pour la détermination;

c_1 est la concentration, en moles par litre, de la solution d'hydroxyde de sodium (4.9.1), utilisée pour les titrages;

M est la masse molaire, en grammes par mole, de l'azote ($M = 14$ g/mol);

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

Exprimer le résultat à 0,01 g/kg près.

9.1.2 Distillat recueilli dans l'acide borique

Calculer la teneur en azote de l'échantillon pour essai selon l'équation:

$$w_{N2} = \frac{2(V_3 - V_2) \times c_2 \times M}{m}$$

où

w_{N2} est la teneur en azote, en grammes par kilogramme, de l'échantillon pour essai;

V_2 est le volume, en millilitres, d'acide sulfurique (4.9.2), utilisé pour l'essai à blanc;

V_3 est le volume, en millilitres, d'acide sulfurique (4.9.2), utilisé pour la détermination;

M est la masse molaire, en grammes par mole, de l'azote ($M = 14$ g/mol);

c_2 est la concentration, en moles par litre, de la solution d'acide sulfurique (4.9.2), utilisée pour les titrages;

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

Exprimer le résultat à 0,01 g/kg près.

9.2 Calcul de la teneur en protéines brutes

Calculer la teneur en protéines brutes de l'échantillon pour essai selon l'équation:

$$w_p = 6,25w_N$$

où

w_p est la teneur en protéines brutes, en grammes par kilogramme, de l'échantillon pour essai;

w_N est la teneur en azote, en grammes par kilogramme, de l'échantillon pour essai (w_{N1} ou w_{N2}).

Exprimer le résultat à 1 g/kg près.

10 Fidélité

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

10.1 Essai interlaboratoires

Les détails d'un essai interlaboratoires relatif à la fidélité de la méthode sont résumés dans l'annexe A. Les valeurs dérivées de cet essai peuvent ne pas s'appliquer aux plages de concentrations ou matrices autres que celles données.

10.2 Répétabilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels indépendants, obtenus à l'aide de la même méthode sur un matériau identique soumis à l'essai dans le même laboratoire par le même opérateur utilisant le même appareillage dans un court intervalle de temps n'excédera que dans 5 % des cas au plus la limite (r) de répétabilité dérivée de l'équation suivante:

$$r = 2,28 \text{ g/kg} + 0,0147 \bar{w}_p$$

où

r est la limite de répétabilité, en grammes par kilogramme;

\bar{w}_p est la moyenne de deux résultats d'essai individuels pour la teneur en protéines brutes, en grammes par kilogramme.

10.3 Reproductibilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels, obtenus à l'aide de la même méthode sur un matériau identique soumis à l'essai dans des laboratoires différents, par des opérateurs différents utilisant des appareillages différents n'excédera que dans 5 % des cas au plus la limite (R) de reproductibilité dérivée de l'équation suivante:

$$R = 12,8 \text{ g/kg} + 0,0361 \bar{w}_p$$

où

R est la limite de reproductibilité, en grammes par kilogramme;

\bar{w}_p est la moyenne de deux résultats d'essais individuels pour la teneur en protéines brutes, en grammes par kilogramme.

11 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit indiquer:

- tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon;
- la méthode d'échantillonnage utilisée, si elle est connue;
- la méthode d'essai utilisée, avec référence à la présente Norme internationale;
- tous les détails opératoires non prévus dans la présente Norme internationale, ou considérés comme facultatifs, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur le(s) résultat(s) d'essai;
- le(s) résultat(s) d'essai obtenu(s), en indiquant, soit la teneur en azote, soit la teneur en protéine et le facteur de conversion utilisé (6,25);
- si la répétabilité a été vérifiée, le résultat final cité qui a été obtenu.

iteh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 5983:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/94705b98-78d1-4f1a-bd66-4833969dddef/iso-5983-1997)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/94705b98-78d1-4f1a-bd66-4833969dddef/iso-5983-1997>