
Norme internationale



6491

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

Aliments des animaux — Détermination de la teneur en phosphore total — Méthode spectrophotométrique

Animal feeding stuffs — Determination of total phosphorus content — Spectrophotometric method

Première édition — 1980-08-15

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 6491:1980](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/29fd2909-8f80-429c-85c9-f44d3ad36421/iso-6491-1980>

CDU 636.085/.087 : 543.42 : 546.18

Réf. n° : ISO 6491-1980 (F)

Descripteurs : alimentation animale, nutrition animale, analyse chimique, dosage, phosphore, méthode spectrophotométrique.

Prix basé sur 3 pages

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 6491 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, et a été soumise aux comités membres en février 1979.

Les comités membres des pays suivants l'ont approuvée :

<u>ISO 6491:1980</u>		
Afrique du Sud, Rép. d'	Ethiopie	Philippines
Australie	France	Pologne
Autriche	Hongrie	Portugal
Brésil	Inde	Roumanie
Canada	Israël	Royaume-Uni
Chili	Jamahiriya arabe libyenne	Tchécoslovaquie
Chypre	Kenya	Thaïlande
Corée, Rép. de	Malaisie	Turquie
Égypte, rép. arabe d'	Nouvelle-Zélande	Yougoslavie
Espagne	Pays-Bas	

Aucun comité membre ne l'a désapprouvée.

Aliments des animaux — Détermination de la teneur en phosphore total — Méthode spectrophotométrique

1 Objet

La présente Norme internationale spécifie une méthode spectrophotométrique de détermination de la teneur en phosphore total dans les aliments des animaux.

2 Domaine d'application

Cette méthode est applicable à tous les aliments des animaux.

Elle est particulièrement indiquée pour l'analyse des produits pauvres en phosphore. Dans certains cas (produits riches en phosphore), une méthode gravimétrique peut être appliquée.

3 Principe

Minéralisation d'une prise d'essai, soit par voie sèche et mise en solution dans l'acide (dans le cas des aliments organiques), soit par voie humide (dans le cas des composés minéraux et des aliments liquides).

Traitement de la solution par le réactif vanado-molybdique et mesurage de l'absorbance de la solution jaune ainsi obtenue, au spectrophotomètre, à 430 nm.

4 Réactifs

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

4.1 Carbonate de calcium.

4.2 Acide chlorhydrique, $c(\text{HCl}) \approx 6 \text{ mol/l}$.

4.3 Acide nitrique, $c(\text{HNO}_3) \approx 1 \text{ mol/l}$.

4.4 Acide nitrique, $\rho_{20} 1,38 \text{ g/ml}$.

4.5 Acide sulfurique, $\rho_{20} 1,84 \text{ g/ml}$.

4.6 Réactif vanado-molybdique.

Dans une fiole jaugée de 1 000 ml, mélanger 200 ml de la solution d'heptamolybdate d'ammonium (4.6.1), 200 ml de la solution de monovanadate d'ammonium (4.6.2) et 135 ml d'acide nitrique (4.4). Compléter au trait repère avec de l'eau.

4.6.1 Heptamolybdate d'ammonium, solution.

Dissoudre, dans de l'eau chaude, 100 g d'heptamolybdate d'ammonium tétrahydraté $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$. Ajouter 10 ml de solution d'hydroxyde d'ammonium ($\rho_{20} 0,91 \text{ g/ml}$) et compléter à 1 litre avec de l'eau.

4.6.2 Monovanadate d'ammonium, solution.

Dissoudre, dans 400 ml d'eau chaude, 2,35 g de monovanadate d'ammonium (NH_4VO_3).

Ajouter, lentement et en agitant continuellement, 20 ml d'acide nitrique dilué [7 ml d'acide nitrique (4.4) + 13 ml d'eau] et compléter à 1 litre avec de l'eau.

4.7 Phosphore, solution étalon contenant 1 mg de phosphore par millilitre.

Dans une fiole jaugée de 1 000 ml, dissoudre, dans de l'eau, 4,394 g de dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) préalablement séché à 103 °C. Compléter au trait repère avec de l'eau.

5 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et notamment :

5.1 Creusets à incinération, en quartz ou en porcelaine.

5.2 Four électrique à moufle, réglable à $550 \pm 20 \text{ °C}$.

5.3 Ballon de Kjeldahl, de 250 ml de capacité.

5.4 Fioles jaugées à un trait, de 500 ml et 1 000 ml de capacités.

5.5 Spectrophotomètre, équipé de cuves de 10 mm, permettant d'effectuer les mesurages à 430 nm.

5.6 Tubes à essais en verre, de 25 à 30 ml de capacité, munis de bouchons en verre rodés.

5.7 Bain de sable.

5.8 Bécher, de 250 ml de capacité.

5.9 Pipettes graduées.

5.10 Balance analytique.

6 Mode opératoire

6.1 Prise d'essai et préparation de la solution d'essai

Selon la nature de l'échantillon, prélever une prise d'essai et préparer la solution d'essai comme spécifié en 6.1.1 ou 6.1.2.

6.1.1 Minéralisation par voie sèche (dans le cas d'échantillons contenant des matières organiques et exempts de phosphates donnant, après minéralisation, des produits insolubles)

Peser, à 1 mg près, 2,5 g environ de l'échantillon pour essai¹⁾ dans un creuset à incinération (5.1).

Mélanger intimement la prise d'essai à 1 g du carbonate de calcium (4.1). Incinérer dans le four (5.2) réglé à 550 ± 20 °C jusqu'à l'obtention de cendres blanches ou grises (une petite quantité de carbone n'interfère pas).

Transférer les cendres dans le bécher de 250 ml (5.8).

Ajouter 20 ml d'eau et de l'acide chlorhydrique (4.2) jusqu'à cessation de l'effervescence.

Ajouter encore 10 ml d'acide chlorhydrique (4.2).

Placer le bécher sur le bain de sable (5.7) et évaporer jusqu'à siccité pour rendre la silice insoluble.

Laisser refroidir.

Ajouter au résidu 10 ml de l'acide nitrique (4.3) et faire bouillir durant 5 min sur le bain de sable, sans évaporer jusqu'à siccité.

Transvaser le liquide dans une fiole jaugée de 500 ml (5.4) en rinçant le bécher à plusieurs reprises à l'eau chaude.

Laisser refroidir, compléter au trait repère avec de l'eau, homogénéiser et filtrer.

6.1.2 Minéralisation par voie humide (dans le cas de composés minéraux et d'aliments liquides)

Peser, à 1 mg près, 1 g ou plus de l'échantillon pour essai¹⁾.

Introduire la prise d'essai dans le ballon de Kjeldahl (5.3), ajouter 20 ml d'acide sulfurique (4.5), agiter pour imprégner complètement la matière avec l'acide et éviter qu'elle n'adhère aux parois du ballon, chauffer et maintenir durant 10 min à ébullition.

Laisser refroidir légèrement, ajouter 2 ml d'acide nitrique (4.4), chauffer doucement, laisser refroidir légèrement, ajouter de nouveau un peu d'acide nitrique (4.4) et porter à ébullition.

Répéter ces opérations jusqu'à l'obtention d'une solution incolore.

Refroidir, ajouter un peu d'eau et transvaser le liquide dans une fiole jaugée de 500 ml (5.4) en rinçant le ballon de Kjeldahl à l'eau chaude.

Laisser refroidir, compléter au trait repère avec de l'eau, homogénéiser et filtrer.

6.2 Développement de la coloration et mesurage de l'absorbance

Diluer avec de l'eau une partie aliquote du filtrat obtenu comme spécifié en 6.1.1 ou 6.1.2 pour obtenir une concentration en phosphore atteignant au maximum 40 µg/ml.

Introduire, à l'aide d'une pipette (5.9), 10 ml de cette solution dans un tube à essais (5.6) et y ajouter, à l'aide d'une autre pipette, 10 ml du réactif vanado-molybdique (4.6).

Homogénéiser et laisser reposer au moins 10 min à 20 °C.

Verser une partie de la solution obtenue dans une cuve de mesure et mesurer l'absorbance au spectrophotomètre (5.5), à 430 nm, en utilisant comme liquide de référence une solution obtenue par addition de 10 ml du réactif vanado-molybdique (4.6) à 10 ml d'eau.

6.3 Nombre de déterminations

Effectuer deux déterminations sur des prises d'essai provenant du même échantillon pour essai.

6.4 Établissement de la courbe d'étalonnage

6.4.1 Préparer en se servant des pipettes graduées (5.9), à partir de la solution étalon de phosphore (4.7), des solutions contenant respectivement 5, 10, 20, 30 et 40 µg de phosphore par millilitre.

6.4.2 Introduire, à l'aide d'une pipette (5.9), 10 ml de chacune de ces solutions dans une série de cinq tubes à essais (5.6) et y ajouter, à l'aide d'une autre pipette, 10 ml du réactif vanado-molybdique (4.6).

Homogénéiser et laisser reposer au moins 10 min à 20 °C.

Mesurer l'absorbance comme spécifié en 6.2.

6.4.3 Tracer la courbe d'étalonnage en portant, en ordonnées, les valeurs de l'absorbance et, en abscisses, les concentrations correspondantes en phosphore, en microgrammes par millilitre, des solutions étalons de phosphore (6.4.1).

La courbe doit être linéaire pour les concentrations comprises entre 0 et 40 µg/ml.

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 6491:1980

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/296f32909-8880-429e-85e9-f44d3ad36421/iso-6491-1980>

1) L'échantillonnage et la préparation de l'échantillon des aliments des animaux feront l'objet de Normes internationales ultérieures.

6.5 Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc en parallèle avec la détermination, en utilisant le même mode opératoire et les mêmes quantités de tous les réactifs, mais en omettant la prise d'essai.

7 Expression des résultats

7.1 Mode de calcul et formule

La teneur en phosphore, exprimée en pourcentage en masse de produit tel quel, est égale à

$$\frac{X \times 500 \times F \times 100}{m \times 10^6} = \frac{X \times F}{20 \times m}$$

où

X est la teneur en phosphore, en microgrammes par millilitre, de la partie aliquote diluée de la solution d'essai, lue sur la courbe d'étalonnage (6.4.3);

m est la masse, en grammes, de la prise d'essai (6.1.1 ou 6.1.2);

F est l'inverse du facteur de dilution de la partie aliquote (voir 6.2).

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations (voir 6.3) si les conditions de répétabilité (voir 7.2) sont remplies.

Exprimer le résultat à

0,01 % (m/m) près pour des teneurs en phosphore inférieures à 3 % (m/m);

0,1 % (m/m) près pour des teneurs en phosphore supérieures ou égales à 3 % (m/m).

7.2 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

3 % (en valeur relative) de la valeur moyenne pour des teneurs en phosphore inférieures à 5 % (m/m);

0,15 (en valeur absolue) pour des teneurs en phosphore supérieures à 5 % (m/m).

8 Procès-verbal d'essai

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et le résultat obtenu. Il doit, en outre, mentionner tous les détails opératoires non prévus dans la présente Norme internationale, ou facultatifs, ainsi que les incidents 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.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/291d2909-8180-429c-85c9-f44d3ad36421/iso-6491-1980>