
**Aliments des animaux — Détermination de
la teneur en phosphore — Méthode
spectrométrique**

*Animal feeding stuffs — Determination of phosphorus content —
Spectrometric method*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 6491:1998](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4b8e2f3e-bb05-4abd-a533-d6f7039d997a/iso-6491-1998)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4b8e2f3e-bb05-4abd-a533-
d6f7039d997a/iso-6491-1998](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4b8e2f3e-bb05-4abd-a533-d6f7039d997a/iso-6491-1998)



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 6491 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 10, *Aliments des animaux*.

Cette deuxième édition de l'ISO 6491 annule et remplace la première édition (ISO 6491:1980), dont elle constitue une révision technique.

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

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 6491:1998](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4b8e2f3e-bb05-4abd-a533-d6f7039d997a/iso-6491-1998)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4b8e2f3e-bb05-4abd-a533-d6f7039d997a/iso-6491-1998>

© ISO 1998

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 1999
Imprimé en Suisse

Aliments des animaux — Détermination de la teneur en phosphore — Méthode spectrométrique

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode spectrométrique pour la détermination de la teneur en phosphore des aliments des animaux.

Cette méthode est applicable aux aliments des animaux dont la teneur en phosphore est inférieure à 50 g/kg. Elle convient tout spécialement à l'analyse des produits à faible teneur en phosphore. Pour les produits dont la teneur en phosphore est plus élevée, il est recommandé d'utiliser une méthode gravimétrique, en utilisant par exemple le phosphomolybdate de quinoléine.

2 Références normatives

Les normes suivantes contiennent 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, les éditions indiquées étaient 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 les éditions les plus récentes des normes indiquées ci-après. Les membres de la CEI et de l'ISO possèdent le registre des Normes internationales en vigueur à un moment donné.

[ISO 6491:1998](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4b8e2f3e-bb05-4abd-a533-150100000000/iso-6491-1998)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4b8e2f3e-bb05-4abd-a533-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4b8e2f3e-bb05-4abd-a533-150100000000/iso-3696-1987)

ISO 3696:1987, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*.

ISO 6498:1998, *Aliments des animaux — Préparation des échantillons pour essai*.

3 Principe

Une prise d'essai de l'échantillon est soit incinérée en présence de chaux et chauffée avec un acide (cas des aliments des animaux organiques), soit oxydée par voie humide avec un mélange d'acides sulfurique et nitrique (cas des composants minéraux et des aliments pour animaux liquides).

Une portion aliquote de la solution acide est mélangée avec le réactif au molybdovanadate et l'absorbance de la solution jaune obtenue est mesurée à une longueur d'onde de 430 nm.

4 Réactifs

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

4.1 Eau, de qualité d'au moins de grade 3, conformément à l'ISO 3696.

4.2 Carbonate de calcium.

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

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

4.5 Acide nitrique, $c(\text{HNO}_3) = 14 \text{ mol/l}$, $\rho(\text{HNO}_3) \approx 1,40 \text{ g/ml}$.

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

4.7 Solution d'heptamolybdate d'ammonium.

Dissoudre 100 g d'heptamolybdate d'ammonium tétrahydraté $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ dans de l'eau chaude. Ajouter 10 ml d'ammoniaque $[c(\text{NH}_4\text{OH}) = 14 \text{ mol/l}$, $\rho(\text{NH}_4\text{OH}) = 0,91 \text{ g/ml}]$, et diluer avec de l'eau jusqu'à obtention d'un volume de 1 litre.

4.8 Solution de monovanadate d'ammonium.

Dissoudre 2,35 g de monovanadate d'ammonium (NH_4VO_3) dans 400 ml d'eau chaude. En mélangeant régulièrement, ajouter peu à peu 7 ml d'acide nitrique (4.5) et diluer avec de l'eau jusqu'à obtention d'un volume de 1 litre.

4.9 Réactif au molybdovanadate.

Dans une fiole jaugée de 1 litre, mélanger 200 ml de solution d'heptamolybdate d'ammonium (4.7), 200 ml de solution de monovanadate d'ammonium (4.8) et 135 ml d'acide nitrique (4.5). Ajuster au trait avec de l'eau. Filtrer s'il y a présence de particules insolubles.

4.10 Solution de référence.

Diluer 10 ml de réactif au molybdovanadate (4.9) avec 10 ml d'eau.

4.11 Solution étalon de phosphore, $\rho(\text{P}) = 1 \text{ mg/ml}$.

Dans une fiole jaugée de 1 litre, dissoudre dans de l'eau 4,394 g d'hydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) préalablement séché à 103 °C pendant 1 h. Ajuster au trait avec de l'eau.

5 Appareillage

ISO 6491:1998
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4b8e2f3e-bb05-4abd-a533-d6f7039d997a/iso-6491-1998>

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

5.1 Creusets pour incinération, en silice ou en porcelaine.

5.2 Four électrique à moufle, pouvant être réglé à une température de $550 \text{ °C} \pm 20 \text{ °C}$.

5.3 Ballon de Kjeldahl, de 250 ml de capacité.

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

5.5 Spectromètre, muni de cuves de 10 mm de parcours optique et permettant un mesurage à une longueur d'onde de 430 nm.

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

5.7 Bain à sable.

5.8 Bécher, de 250 ml de capacité.

5.9 Pipettes graduées.

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 [4].

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

7 Préparation de l'échantillon pour essai

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

S'il est solide, moudre l'échantillon pour laboratoire (généralement 500 g) de manière qu'il passe entièrement au travers d'un tamis de 1 mm d'ouverture de mailles. Mélanger soigneusement.

8 Mode opératoire

8.1 Choix du mode opératoire

Si l'échantillon pour essai contient des substances organiques et s'il est exempt de phosphates donnant des produits insolubles à l'incinération, procéder comme indiqué en 8.2.

Si l'échantillon pour essai concerne un composant minéral ou un aliment des animaux liquide, procéder comme indiqué en 8.3.

8.2 Incinération à sec

Peser, à 1 mg près, environ 2,5 g d'échantillon pour essai préparé dans un creuset (5.1).

Mélanger soigneusement la prise d'essai avec 1 g de carbonate de calcium (4.2). Incinérer dans le four (5.2) à une température de 550 °C jusqu'à obtention de cendres blanches ou grises (la présence d'une petite quantité de carbone est sans influence).

Transvaser les cendres dans un bécher de 250 ml (5.8) avec de 20 ml à 50 ml d'eau. Ajouter de l'acide chlorhydrique (4.3) jusqu'à ce que l'effervescence cesse. Ajouter 10 ml supplémentaires d'acide chlorhydrique (4.3).

Placer le bécher sur le bain de sable (5.7) et faire évaporer jusqu'à siccité, de sorte que la silice devienne insoluble. Laisser refroidir.

Ajouter 10 ml d'acide nitrique (4.4) au résidu et porter à l'ébullition sur le bain de sable pendant 5 min, sans évaporer jusqu'à sec.

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

Laisser refroidir, ajuster au trait avec de l'eau, mélanger et filtrer.

Procéder ensuite selon 8.4.

8.3 Oxydation par voie humide

Peser, à 1 mg près, 1 g ou plus d'échantillon pour essai préparé.

Placer la prise d'essai dans un ballon de Kjeldahl (5.3). Ajouter 20 ml d'acide sulfurique (4.6). Agiter afin que la substance soit complètement imprégnée d'acide et qu'elle n'adhère pas à la paroi du ballon. Chauffer et maintenir au point d'ébullition pendant 10 min.

Laisser refroidir légèrement, ajouter 2 ml d'acide nitrique (4.5), chauffer doucement, puis laisser légèrement refroidir. Ajouter un peu plus d'acide nitrique (4.5) et ramener au point d'ébullition.

Répéter cette opération jusqu'à l'obtention d'une solution incolore.

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

Laisser refroidir, ajuster au trait avec de l'eau, mélanger et filtrer.

8.4 Développement de la coloration et mesurage de l'absorbance

Diluer une portion aliquote du filtrat obtenu (8.2 ou 8.3) avec de l'eau afin d'obtenir une teneur en phosphore ne dépassant pas 40 µg/ml.

À l'aide d'une pipette (5.9), transvaser 10 ml de cette solution dans un tube à essais (5.6). À l'aide d'une autre pipette, ajouter 10 ml de réactif au molybdovanadate (4.9).

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

Transvaser une partie de la solution obtenue dans une cuve de mesurage et mesurer l'absorbance dans le spectromètre (5.5) à la longueur d'onde de 430 nm par rapport à la solution de référence (4.10).

8.5 Tracé de la courbe d'étalonnage

8.5.1 En utilisant la solution étalon de phosphore (4.11) et à l'aide de pipettes graduées (5.9), préparer des solutions ayant une teneur en phosphore respective de 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml, 30 µg/ml et 40 µg/ml.

8.5.2 À l'aide de pipettes (5.9), transvaser 10 ml de chacune de ces solutions dans une série de cinq tubes à essais (5.6) et ajouter dans chacun d'entre eux 10 ml de réactif au molybdovanadate (4.7) à l'aide d'une autre pipette.

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

Mesurer l'absorbance de chaque solution comme spécifié en 8.4.

8.5.3 Tracer la courbe d'étalonnage en plaçant les différentes absorbances par rapport aux teneurs en phosphore correspondantes, en microgrammes par millilitre, des solutions étalons (8.5.1).

Pour les teneurs en phosphore comprises entre 0 µg/ml et 40 µg/ml, le tracé doit être linéaire.

8.6 Essai à blanc

Parallèlement à la détermination, effectuer un essai à blanc en utilisant le même mode opératoire et les mêmes quantités de réactifs, mais sans la prise d'essai.

9 Expression des résultats

Calculer la teneur en phosphore de l'échantillon pour essai, w_P , exprimée en grammes par kilogramme, à l'aide de l'équation suivante:

$$w_P = \frac{50 \cdot f_1 \cdot f_2 \cdot w_{PC} \cdot V}{m}$$

où

f_1 est le facteur de dilution réciproque pour la portion aliquote (voir 8.4);

f_2 est le facteur de correction des unités, en grammes par milligramme ($f_2 = 10^{-3}$ g/mg);

w_{PC} est la teneur en phosphore, en microgrammes par millilitre, de la portion aliquote diluée de la solution d'essai, lue sur la courbe d'étalonnage (8.5.3);

V est le volume, en millilitres, de chacune des solutions d'étalonnage prélevées en 8.5.2 ($V = 10$ ml);

m est la masse, en grammes, de la prise d'essai (8.2 ou 8.3).

Exprimer le résultat à 0,1 g/kg près.

10 Fidélité

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 1 g/kg que dans 5 % des cas au plus.

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 7 g/kg que dans 5 % des cas au plus.

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 la référence à la présente Norme internationale;
- tous les détails opératoires non prévus dans la présente Norme internationale, ou considérés comme facultatifs, ainsi que les détails sur tout incident susceptible d'avoir influé sur le(s) résultat(s) d'essai;
- le(s) résultat(s) d'essai obtenu(s), ou,
- si la répétabilité a été vérifiée, le résultat final cité qui a été obtenu.

Annexe A (informative)

Résultats de l'essai interlaboratoires

Un essai interlaboratoires a été réalisé par l'ISO/TC 34/SC 10, *Aliments des animaux*, en 1987 et effectué conformément à l'ISO 5725:1986 [1]¹⁾. L'analyse statistique finale a été réalisée conformément à l'ISO 5725-2:1994 [3]. Vingt-quatre laboratoires ont participé à cet essai qui portait sur des échantillons de farine de poisson, d'aliment à base de gluten de maïs, de levure, d'aliment préhomogénéisé, d'aliment homogénéisé concentré (2 types) et d'aliment homogénéisé fini.

Tableau A.1 — Résultats statistiques de l'essai interlaboratoires

| Paramètre | Échantillon ¹⁾ | | | | | | |
|--|---------------------------|------|------|-----------------|-------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 ²⁾ | 5 | 6 | 7 |
| Nombre de laboratoires retenus après élimination des valeurs aberrantes | 24 | 24 | 24 | 24 | 24 | 24 | 24 |
| Teneur moyenne en phosphore, g/kg ³⁾ | 28 | 5,4 | 9,2 | 80,1 | 27,4 | 22,5 | 11,4 |
| Écart-type de répétabilité, s_r , g/kg | 0,40 | 0,32 | 0,11 | 1,48 | 0,75 | 0,30 | 0,24 |
| Coefficient de variation de répétabilité, % | 1,4 | 5,9 | 1,2 | 1,9 | 2,7 | 1,3 | 2,1 |
| Limite de répétabilité, r ($r = 2,8 s_r$), g/kg | 1,12 | 0,90 | 0,31 | 4,14 | 2,10 | 0,84 | 0,67 |
| Écart-type de reproductibilité, s_R , g/kg | 2,6 | 3,0 | 1,9 | 14,5 | 4,1 | 2,0 | 1,4 |
| Coefficient de variation de reproductibilité, % | 9,4 | 55,3 | 21,1 | 18,1 | 14,9 | 8,7 | 12,3 |
| Limite de reproductibilité, R ($R = 2,8 s_R$), g/kg | 7,28 | 8,40 | 5,32 | 40,60 | 11,48 | 5,60 | 3,92 |
| 1) Échantillon 1: farine de poisson; Échantillon 2: aliment à base de gluten de maïs; Échantillon 3: levure; Échantillon 4: aliment préhomogénéisé; Échantillon 5: aliment homogénéisé concentré; Échantillon 6: aliment homogénéisé concentré; Échantillon 7: aliment homogénéisé fini. 2) Teneur en phosphore en dehors du domaine d'application de cette méthode; résultats non inclus dans les données de fidélité figurant à l'article 10. 3) Résultats donnés sur sec. | | | | | | | |

¹⁾ L'ISO 5725:1986 (à présent annulée) a été utilisée pour obtenir les valeurs de fidélité.

Annexe B (informative)

Bibliographie

- [1] ISO 5725:1986, *Fidélité des méthodes d'essai — Détermination de la répétabilité et de la reproductibilité d'une méthode d'essai normalisée par essais interlaboratoires.*
- [2] ISO 5725-1:1994, *Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure — Partie 1: Principes généraux et définitions.*
- [3] ISO 5725-2:1994, *Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure — Partie 2: Méthode de base pour la détermination de la répétabilité et de la reproductibilité d'une méthode de mesure normalisée.*
- [4] ISO 6497:—²⁾, *Aliments des animaux — Échantillonnage.*

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 6491:1998](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4b8e2f3e-bb05-4abd-a533-d6f7039d997a/iso-6491-1998)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4b8e2f3e-bb05-4abd-a533-d6f7039d997a/iso-6491-1998>

²⁾ À publier.