

**ISO**

34

ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION

**RECOMMANDATION ISO  
R 937**

VIANDES ET PRODUITS À BASE DE VIANDE  
DOSAGE DE L'AZOTE

— 1<sup>ère</sup> ÉDITION —  
Janvier 1969

**REPRODUCTION INTERDITE**

Le droit de reproduction des Recommandations ISO et des Normes ISO est la propriété des Comités Membres de l'ISO. En conséquence, dans chaque pays, la reproduction de ces documents ne peut être autorisée que par l'organisation nationale de normalisation de ce pays, membre de l'ISO.

Seules les normes nationales sont valables dans leurs pays respectifs.

Imprimé en Suisse

Ce document est également édité en anglais et en russe. Il peut être obtenu auprès des organisations nationales de normalisation.

## HISTORIQUE

La Recommandation ISO/R 937, *Viandes et produits à base de viande – Dosage de l'azote*, a été élaborée par le Comité Technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, dont le Secrétariat est assuré par le Magyar Szabványügyi Hivatal (MSZH).

Les travaux relatifs à cette question furent entrepris par le Comité Technique et aboutirent, en 1966, à l'adoption d'un Projet de Recommandation ISO.

En avril 1967, ce Projet de Recommandation ISO (N° 1233) fut soumis à l'enquête de tous les Comités Membres de l'ISO. Il fut approuvé, sous réserve de quelques modifications d'ordre rédactionnel, par les Comités Membres suivants :

Afrique du Sud, Rép. d'	Hongrie	R.A.U.
Allemagne	Inde	Roumanie
Australie	Iran	Royaume-Uni
Bulgarie	Irlande	Tchécoslovaquie
Colombie	Israël	Thaïlande
Corée, Rép. de	Norvège	Turquie
France	Pologne	U.R.S.S.
Grèce	Portugal	Yougoslavie

Deux Comités Membres se déclarèrent opposés à l'approbation du Projet :

Nouvelle-Zélande  
Pays-Bas

Le Projet de Recommandation ISO fut alors soumis par correspondance au Conseil de l'ISO qui décida, en janvier 1969, de l'accepter comme RECOMMANDATION ISO.

## VIANDES ET PRODUITS À BASE DE VIANDE

## DOSAGE DE L'AZOTE

## 1. OBJET

La présente Recommandation ISO décrit une méthode de référence pour le dosage de l'azote dans les viandes et les produits à base de viande\*.

## 2. DÉFINITION

On entend par *teneur en azote*, la quantité d'azote correspondant à l'ammoniac produit et dosé dans les conditions décrites.

## 3. PRINCIPE

Attaque du produit par l'acide sulfurique concentré qui transforme l'azote organique en ions ammonium, en présence du sulfate de cuivre (II) comme catalyseur. Addition d'un alcali, distillation de l'ammoniac libéré dans un excès de solution d'acide borique, titrage de l'ammoniac combiné avec l'acide borique par l'acide chlorhydrique et calcul, à partir de l'ammoniac produit, de la teneur en azote de l'échantillon.

## 4. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

L'eau doit être de l'eau distillée ou de l'eau de pureté au moins équivalente.

4.1 *Sulfate de cuivre* (II), ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ).

4.2 *Sulfate de potassium*, ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ), anhydre.

4.3 *Acide sulfurique*,  $\rho_{20} = 1,84$  g/ml.

4.4 *Solution d'hydroxyde de sodium*, exempte de carbonate, contenant environ 33 g d'hydroxyde de sodium (NaOH) pour 100 g de solution. Préparer en dissolvant 500 g d'hydroxyde de sodium (NaOH) dans 1000 ml d'eau.

4.5 *Solution d'acide borique*. Dissoudre 40 g d'acide borique ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) dans l'eau et diluer à 1000 ml.

4.6 *Acide chlorhydrique*. Solution titrée 0,1 N, la normalité étant notée avec quatre décimales.

\* Voir aussi la Recommandation ISO/R . . . , *Produits agricoles alimentaires — Directives générales pour le dosage de l'azote par la méthode de Kjeldahl* (actuellement à l'état d'avant-projet).

- 4.7 *Solution d'indicateur.* Mélange de rouge de méthyle et de bleu de méthylène \*, préparé par dissolution de 2 g de rouge de méthyle et de 1 g de bleu de méthylène dans 1000 ml d'éthanol à 95 % (v/v).

Le changement de couleur de la solution d'indicateur a lieu pour un pH de 5,4. Conserver la solution d'indicateur dans une bouteille foncée dans un endroit sombre et frais.

- 4.8 *Régularisateurs d'ébullition.*

4.8.1 *Pour l'attaque.* Billes en verre, carbure de silicium ou éclats de porcelaine dure.

4.8.2 *Pour la distillation.* Carbure de silicium ou morceaux de pierre ponce récemment incinérés.

## 5. APPAREILLAGE

Matériel courant de laboratoire et notamment :

- 5.1 *Hachoir à viande*, de type de laboratoire, muni d'une plaque dont les trous ont un diamètre n'excédant pas 4 mm.
- 5.2 *Papier sulfurisé*, d'environ 9 cm × 6 cm.
- 5.3 *Burette* de 50 ml, classe A selon la Recommandation ISO/R 385, *Burettes*.
- 5.4 *Matras de Kjeldahl*, de 800 ml de capacité maximale, muni, si nécessaire, d'un bouchon piriforme en verre s'adaptant librement au sommet du col.
- 5.5 *Appareil de distillation* par la vapeur, ou appareil de distillation ordinaire.
- 5.6 *Dispositif de chauffage*, sur lequel le matras de Kjeldahl peut être chauffé en position inclinée de telle manière que la source de chaleur n'atteigne que la partie de la paroi du matras située au-dessous du niveau du liquide. Par exemple, une plaque d'amiante pourvue d'un trou circulaire convient dans le cas d'un chauffage par le gaz, afin que seule la partie inférieure de la fiole soit exposée à la flamme libre.
- 5.7 *Dispositif d'aspiration*, pour les vapeurs d'acide libérées pendant l'attaque.
- 5.8 *Balance analytique.*

## 6. ÉCHANTILLON

- 6.1 Opérer à partir d'un échantillon représentatif d'au moins 200 g, (voir la Recommandation ISO/R . . . \*\*, *Viande et dérivés – Echantillonnage*).
- 6.2 Conserver l'échantillon de façon à éviter sa détérioration et tout changement dans sa composition. Les agents de conservation, s'il y en a, ne doivent pas contenir de composants azotés en quantités mesurables.

\* Communément nommé indicateur de *Tashiro*.

\*\* En préparation.

## 7. MODE OPÉRATOIRE

### 7.1 Préparation de l'échantillon

Rendre l'échantillon homogène par au moins deux broyages dans le hachoir (5.1) et mélanger. Le disposer dans un flacon étanche, rempli complètement, et le conserver de façon à éviter sa détérioration et tout changement dans sa composition. Analyser l'échantillon aussi vite que possible, mais toujours dans les 24 heures.

### 7.2 Prise d'essai

Placer quelques fragments de régularisateur d'ébullition (4.8) dans le matras de Kjeldahl (5.4), puis ajouter environ 15 g de sulfate de potassium anhydre (4.2) et 0,5 g de sulfate de cuivre (II) (4.1).

Peser, à 0,001 g près, environ 2 g de l'échantillon préparé (ou 1,5 g dans le cas d'un échantillon très gras), sur un morceau de papier sulfurisé (5.2).

Introduire le papier et la prise d'essai dans le matras de Kjeldahl.

### 7.3 Détermination

Ajouter, dans le matras de Kjeldahl, 25 ml d'acide sulfurique (4.3). Mélanger doucement la solution par rotation. Le cas échéant, un bouchon piriforme en verre peut être introduit dans le col du matras, l'extrémité effilée étant dirigée vers le bas.

Placer le matras en position inclinée (inclinaison d'environ 40° par rapport à la verticale) sur le dispositif de chauffage (5.6). Le chauffer d'abord doucement, jusqu'à ce que la formation de mousse cesse et que le contenu se soit complètement liquéfié. Puis attaquer en chauffant vigoureusement et en faisant tourner périodiquement le matras, jusqu'à ce que le liquide soit complètement limpide et de teinte claire bleu-vert; maintenir le liquide en ébullition pendant encore 1 heure 30 minutes.

La totalité de l'attaque doit s'effectuer en un minimum de 2 heures. Prendre soin qu'aucun liquide condensé ne coule sur la paroi extérieure du matras. Éviter que trop d'acide sulfurique ne s'échappe par suite d'une surchauffe pendant l'attaque, ceci entraînant une perte d'azote.

Refroidir à environ 40 °C et ajouter prudemment environ 50 ml d'eau. Mélanger et laisser refroidir.

Verser 50 ml de la solution d'acide borique (4.5) dans une fiole conique d'environ 500 ml de capacité au moyen d'une éprouvette graduée, ajouter quatre gouttes de la solution d'indicateur (4.7), mélanger et placer la fiole sous le réfrigérant de l'appareil de distillation (5.5) de telle sorte que l'extrémité de l'allonge plonge dans le liquide.

Opérer sur le contenu du matras de Kjeldahl selon l'une des deux techniques suivantes :

- a) *En cas de distillation par la vapeur.* Transvaser le contenu du matras de Kjeldahl dans l'appareil de distillation et rincer le matras avec environ 50 ml d'eau. Ajouter 100 ml de solution d'hydroxyde de sodium (4.4) au moyen d'une éprouvette graduée, en les versant avec soin le long du col incliné du matras, afin que les deux couches ne se mélangent pas dans le matras. Relier immédiatement le matras à la tête à distiller de l'appareil de distillation. Chauffer le liquide alcalin en le faisant traverser par la vapeur jusqu'à ébullition et maintenir celle-ci pendant 20 minutes. Chauffer d'abord lentement afin de réduire la formation de mousse. Le volume de distillat recueilli doit être au moins de 150 ml.

- b) *En cas de distillation ordinaire.* Diluer avec précaution le contenu du matras de Kjeldahl avec 300 ml d'eau et agiter par rotation. Transvaser, si nécessaire, dans une fiole d'un litre. Après environ 15 minutes, ajouter 100 ml de solution d'hydroxyde de sodium (4.4) au moyen d'une éprouvette graduée, en les versant avec soin le long du col incliné du matras, afin que les deux couches ne se mélangent pas dans le matras. Relier immédiatement le matras à la tête à distiller de l'appareil de distillation.

Distiller au moins 150 ml du liquide, même si le mélange présente des soubresauts irréguliers. Continuer la distillation jusqu'à ce que le mélange commence à présenter des soubresauts ou jusqu'à obtention de 250 ml de distillat. S'assurer que le distillat est effectivement refroidi et éviter que la solution d'acide borique ne s'échauffe.

Dans les deux cas, juste avant la fin de la distillation, abaisser la fiole conique afin que l'extrémité de l'allonge soit au-dessus du niveau du liquide. Rincer l'extrémité de l'allonge au-dessus du liquide (à l'intérieur et à l'extérieur) avec un peu d'eau. Vérifier que la distillation de l'ammoniac est achevée, au moyen d'un papier de tournesol rouge, humecté avec de l'eau distillée; sa couleur ne doit pas être modifiée par le liquide provenant du réfrigérant. Arrêter le chauffage. Si la distillation se révèle être incomplète, effectuer une nouvelle détermination en se conformant soigneusement aux indications.

Titre le contenu de la fiole conique avec la solution d'acide chlorhydrique (4.6). Noter le nombre de millilitres de solution d'acide chlorhydrique nécessaire, en l'estimant à 0,02 ml près.

Effectuer deux déterminations sur le même échantillon préparé.

#### 7.4 Essai à blanc

Effectuer toujours un essai à blanc (en double) lorsque de nouveaux lots de réactifs ou des solutions fraîchement préparées sont utilisés. Il est recommandé d'effectuer périodiquement un essai à blanc pour les réactifs et les solutions qui ont déjà été utilisés depuis quelque temps.

Effectuer cet essai à blanc selon le paragraphe 7.3, en prenant uniquement le papier sulfurisé (5.2).

#### 7.5 Remarque

Il est également possible d'effectuer le dosage sur une partie aliquote du contenu du matras de Kjeldahl. Dans ces conditions, des modifications appropriées doivent être apportées à l'appareillage et au mode opératoire (quantités et titre des réactifs, temps de distillation, volume de liquide distillé).

Ces modifications doivent être mentionnées dans le procès-verbal.

## 8. EXPRESSION DES RÉSULTATS

### 8.1 Mode de calcul et formule

Le pourcentage, en masse, d'azote de l'échantillon est égal à

$$0,0014 \times (V_1 - V_0) \times \frac{100}{M}$$

où

$V_0$  est le volume, en millilitres, de solution d'acide chlorhydrique 0,1 N utilisé pour l'essai à blanc,

$V_1$  est le volume, en millilitres, de solution d'acide chlorhydrique 0,1 N utilisé pour la prise d'essai,

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

NOTE. – Si la solution titrée utilisée n'a pas exactement le titre indiqué au paragraphe 4.6, un facteur de correction approprié doit être utilisé pour le calcul des résultats.

Prendre, comme résultat, la moyenne arithmétique des deux déterminations si les conditions de répétabilité sont remplies. Donner la teneur en azote en pour cent, en masse, à 0,01 g près d'azote pour 100 g d'échantillon.

## 8.2 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 excéder 0,10 g d'azote pour 100 g d'échantillon.

## 9. REMARQUES

9.1 La détermination doit être effectuée dans une pièce exempte de vapeur d'ammoniac.

9.2 L'azote provenant de composés organiques non protéiques sera incluse dans la détermination, et ainsi des résultats inexacts de teneur en protéines seront obtenus si la teneur en protéines est calculée à partir de la teneur en azote.

Si, outre le résultat en azote, on veut exprimer le résultat en protéines, il faut indiquer le coefficient utilisé.

## 10. PROCÈS-VERBAL D'ESSAI

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et le résultat obtenu en azote. Si le résultat en protéine est aussi donné, il doit être accompagné du coefficient utilisé. Il doit, en outre, mentionner tous les détails opératoires non prévus dans cette Recommandation ISO ou facultatifs (notamment si le dosage a été effectué sur une partie aliquote, voir paragraphe 7.5) 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.