

---

---

**Aliments des animaux — Dosage de  
l'azote et calcul de la teneur en protéines  
brutes —**

**Partie 1:  
Méthode Kjeldahl**

*Animal feeding stuffs — Determination of nitrogen content and  
calculation of crude protein content —  
Part 1: Kjeldahl method*

[ISO 5983-1:2005](https://standards.iso.org/iso/5983-1:2005)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/93796a4c-9f81-4dcc-8b7a-2f00fd835d30/iso-5983-1-2005>



**PDF – Exonération de responsabilité**

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 5983-1:2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/93796a4c-9f81-4dcc-8b7a-2f00fd835d30/iso-5983-1-2005)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/93796a4c-9f81-4dcc-8b7a-2f00fd835d30/iso-5983-1-2005>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2005

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'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office  
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20  
Tel. + 41 22 749 01 11  
Fax + 41 22 749 09 47  
E-mail [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Version française parue en 2008

Publié en Suisse

## Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
1 <b>Domaine d'application</b> .....	1
2 <b>Références normatives</b> .....	1
3 <b>Principe</b> .....	1
4 <b>Réactifs et matériaux</b> .....	1
5 <b>Appareillage</b> .....	2
6 <b>Échantillonnage</b> .....	2
7 <b>Préparation de l'échantillon d'essai</b> .....	3
8 <b>Mode opératoire</b> .....	3
9 <b>Calcul et expression des résultats</b> .....	5
10 <b>Fidélité</b> .....	6
11 <b>Rapport d'essai</b> .....	7
<b>Annexe A</b> (informative) <b>Résultats d'essai interlaboratoires</b> .....	8
<b>Bibliographie</b> .....	10

iTech STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

ISO 5983-1:2005  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/93796a4c-9f81-4dcc-8b7a-2f00fd835d30/iso-5983-1-2005>

## 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 Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. 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.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 5983-1 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 10, *Aliments des animaux*.

Cette première édition de l'ISO 5983-1, conjointement à l'ISO 5983-2:2005, annule et remplace l'ISO 5983:1997, qui a fait l'objet d'une révision technique.

L'ISO 5983 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Aliments des animaux — Dosage de l'azote et calcul de la teneur en protéines brutes*:

- *Partie 1: Méthode Kjeldahl*
- *Partie 2: Méthode de digestion en bloc et distillation à la vapeur*

# Aliments des animaux — Dosage de l'azote et calcul de la teneur en protéines brutes —

## Partie 1: Méthode Kjeldahl

### 1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 5983 spécifie une méthode de dosage de l'azote dans les aliments pour animaux par la méthode de Kjeldahl, ainsi qu'une méthode pour le calcul de la teneur en protéines brutes.

Cette méthode ne mesure pas les formes oxydées de l'azote ou les composés azotés hétérocycliques.

Cette méthode ne fait pas la différence entre l'azote protéique et l'azote non protéique. S'il est nécessaire de déterminer la teneur en azote non protéique, il convient d'employer une méthode appropriée.

iTeh STANDARD PREVIEW

### 2 Références normatives (standards.iteh.ai)

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris tous ses amendements).

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

### 3 Principe

La matière organique est digérée par de l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur. Le produit de réaction est alcalinisé, puis l'ammoniac libéré est distillé et titré. La teneur en azote est calculée et le résultat est multiplié par le facteur conventionnel pour obtenir la teneur en protéines brutes.

### 4 Réactifs et matériaux

Sauf spécification contraire, n'utiliser que des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déminéralisée ou de pureté équivalente.

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

#### 4.1 Sulfate de potassium.

#### 4.2 Catalyseur, soit 4.2.1, soit 4.2.2.

##### 4.2.1 Oxyde de cuivre(II) (CuO).

##### 4.2.2 Sulfate de cuivre(II) pentahydraté (CuSO<sub>4</sub>, 5H<sub>2</sub>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 Cire de paraffine.**

**4.5 Saccharose.**

**4.6 Matériaux étalons**, soit 4.6.1, soit 4.6.2.

**4.6.1 Acétanilide**, ayant un point de fusion à  $114 \text{ }^\circ\text{C}$ ; teneur en azote (N):  $103,6 \text{ g/kg}$ .

**4.6.2 Tryptophane**, ayant un point de fusion à  $282 \text{ }^\circ\text{C}$ ; teneur en azote (N):  $137,2 \text{ g/kg}$ .

Sécher avant emploi.

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

**4.8 Liquide de collecte**, soit 4.8.1, soit 4.8.2.

**4.8.1 Acide sulfurique**, solution étalon volumétrique,  $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,05 \text{ mol/l}$  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 Solutions pour titrage.**

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

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

La molarité des solutions étalon volumétriques doit être connue jusqu'à la quatrième décimale.

**4.10 Indicateur mixte**, point neutre pour  $\text{pH} 4,4$  à  $5,8$ .

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

**4.11 Papier indicateur de pH.**

**4.12 Régulateurs d'ébullition**, tels que des cailloux de pierre ponce ou des billes de verre d'un diamètre de 5 mm à 7 mm, ou des morceaux de carborundum, lavés par de l'acide chlorhydrique et de l'eau distillée et calcinés.

## 5 Appareillage

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

**5.1 Balance analytique.**

**5.2 Matériel de digestion, distillation et titrage.**

## 6 Échantillonnage

Il convient que le laboratoire ait reçu un échantillon représentatif. Il convient que ce dernier n'ait pas été endommagé ou modifié au cours du transport ou du stockage.

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente partie de l'ISO 5893. Une méthode d'échantillonnage recommandée est donnée dans l'ISO 6497.

Entreposer l'échantillon afin d'éviter toute détérioration et modification dans sa composition.

## 7 Préparation de l'échantillon d'essai

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

## 8 Mode opératoire

**ATTENTION — Les opérations décrites en 8.3.1 et en 8.3.2 doivent être effectuées sous une hotte aspirante ou dans une armoire ventilée résistante à l'acide sulfurique.**

### 8.1 Généralités

Pour les consignes générales relatives à l'application de la méthode Kjeldahl, voir l'ISO 1871.

### 8.2 Prise d'essai

Peser, à 1 mg près, une masse d'échantillon d'essai choisie en fonction de la teneur en azote attendue, de sorte que la prise d'essai contienne entre 0,005 g et 0,2 g d'azote et, de préférence, plus de 0,02 g.

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

### 8.3 Dosage

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/93796a4c-9f81-4dcc-8b7a-2f00fd835d30/iso-5983-1-2005>

#### 8.3.1 Digestion de la matière organique

Transférer la prise d'essai quantitativement dans un flacon de digestion Kjeldahl de taille adaptée (généralement 800 ml).

Ajouter 15 g de sulfate de potassium (4.1).

Ajouter une quantité appropriée de catalyseur comme suit: 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).

Ajouter 25 ml d'acide sulfurique (4.3) pour le premier gramme de matière sèche de la prise d'essai et de 6 ml à 12 ml pour chaque gramme supplémentaire de matière sèche. Mélanger soigneusement, en veillant à une humidification complète de la prise d'essai.

Maintenir le flacon de sorte que son axe soit entre 30° et 45° par rapport à la verticale. Garder le flacon dans cette position tout au long du chauffage.

Commencer par un chauffage modéré afin d'éviter la montée de mousse dans le col et sa perte.

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

Chauffer modérément, remuer de temps à autre, jusqu'à ce que la masse ait été carbonisée et que la mousse ait disparu. Puis chauffer plus intensément jusqu'à ce que le liquide bouille régulièrement.

NOTE 2 Le chauffage est adéquat si l'acide en ébullition se condense vers le milieu du col du flacon Kjeldahl.

Éviter la surchauffe des parois du ballon qui ne sont pas en contact avec du liquide.

NOTE 3 En cas d'utilisation d'une flamme nue, une telle surchauffe peut être évitée en plaçant le flacon sur une plaque d'un matériau résistant à la chaleur avec un orifice d'un diamètre légèrement inférieur à celui du ballon au niveau du liquide.

Une fois le liquide clair et d'une légère couleur vert-bleu, chauffer pendant encore 2 h.

Laisser refroidir. Si la digestion commence à se solidifier, ajouter un peu d'eau et agiter.

### 8.3.2 Distillation de l'ammoniac

**8.3.2.1** Ajouter précautionneusement de 250 ml à 350 ml d'eau afin de dissoudre complètement les sulfates. Si nécessaire, faciliter la dissolution par un chauffage du flacon dans de l'eau chaude. Agiter et laisser refroidir.

Ajouter quelques régulateurs d'ébullition (4.12).

Pour certains échantillons particuliers, les sulfates peuvent ne pas se dissoudre totalement dans l'eau ajoutée. Dans ce cas, il est recommandé de répéter la digestion avec une plus petite quantité de sulfate de potassium (4.1).

**8.3.2.2** Pipetter, dans le flacon de collecte de l'appareillage de distillation, 25 ml d'acide sulfurique (4.8.1), en choisissant la concentration en fonction de la teneur en azote attendue dans la prise d'essai. Ajouter de 100 ml à 150 ml d'eau. Ajouter quelques gouttes de l'indicateur mixte (4.10). Procéder conformément à 8.3.2.4.

**8.3.2.3** Autrement, transférer dans le flacon de collecte 100 ml à 250 ml d'acide borique (4.8.2). Ajouter quelques gouttes de l'indicateur mixte (4.10).

Le titrage simultané de l'ammoniac (voir 8.3.3.3) au cours de la distillation est recommandé car il facilite la vérification de la fin de la distillation.

**8.3.2.4** Immerger l'extrémité du condenseur dans le liquide contenu dans le flacon de collecte, jusqu'à une profondeur d'au moins 1 cm.

Verser lentement 100 ml de solution d'hydroxyde de sodium (4.7) sur les parois du flacon de digestion.

Connecter immédiatement le flacon à l'appareil de distillation.

Chauffer le flacon de sorte qu'environ 150 ml de distillat soient récoltés en 30 min. À la fin de cette période, contrôler le pH du distillat à l'extrémité du condenseur au moyen de papier indicateur de pH (4.11). Si la réaction est alcaline, continuer la distillation.

**IMPORTANT — Afin d'éviter un reflux, lever le condenseur du liquide juste avant la fin de la distillation.**

Si, au cours de la distillation avec de l'acide sulfurique comme liquide de collecte, le contenu du flacon de collecte devient alcalin, recommencer la détermination en apportant les ajustements nécessaires.

### 8.3.3 Titrage

**8.3.3.1** Un titrage avec indication automatique du point de virage au moyen d'un pH-mètre est recommandé. Autrement, le point de virage est indiqué par le changement de couleur de l'indicateur mixte (4.10) ajouté en 8.3.2.

**8.3.3.2** Si le liquide de collecte est de l'acide sulfurique, titrer, dans le flacon de collecte, l'excès d'acide sulfurique avec une solution d'hydroxyde de sodium (4.9.1),  $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$  ou  $c(\text{NaOH}) = 0,25 \text{ mol/l}$  selon le cas, jusqu'au point de virage indiqué par le pH-mètre ou jusqu'à ce que la couleur passe du violet au vert.



**8.3.3.3** Si le liquide de collecte est de l'acide borique, titrer l'ammoniac avec de l'acide sulfurique (4.9.2),  $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,05 \text{ mol/l}$  ou  $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,125 \text{ mol/l}$  selon le cas, jusqu'au point de virage indiqué par le pH-mètre ou jusqu'à ce que la couleur passe du vert au violet.

Si un titrage simultané n'est pas possible (voir 8.3.2.3), il convient qu'il soit effectué dès que possible après la fin de la distillation, en veillant à ce que la température du distillat ne dépasse pas 25 °C. Dans ces conditions, la perte d'ammoniac est évitée.

#### 8.4 Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc en utilisant environ 1 g de saccharose (4.5) à la place de la prise d'essai.

#### 8.5 Contre-essai

Effectuer un contre-essai en déterminant la teneur en azote de l'acétanilide (4.6.1) ou du tryptophane (4.6.2) après ajout d'1 g de saccharose (4.5).

Il convient que le choix de la substance pour le contre-essai soit lié à la digestibilité des échantillons à analyser. L'acétanilide est facilement digérée, tandis que la digestion du tryptophane est plus difficile.

La récupération de l'azote de l'acétanilide ou du tryptophane doit être d'au moins 99,5 % pour l'acétanilide et 99,0 % pour le tryptophane.

## 9 Calcul et expression des résultats

### 9.1 Calcul de la teneur en azote

#### 9.1.1 Distillat collecté dans de l'acide sulfurique

À condition que les volumes d'acide sulfurique employés pour récolter l'ammoniac pour le dosage (voir 8.3) et pour l'essai à blanc (voir 8.4) soient égaux, calculer la teneur en azote,  $w_{n1}$ , en grammes par kilogrammes d'échantillon pour essai, à l'aide de l'équation suivante:

$$w_{n1} = \frac{(V_0 - V_1) \times c_1 \times M}{m}$$

où

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

$V_1$  est le volume, en millilitres, de la solution d'hydroxyde de sodium (4.9.1) nécessaire pour le dosage;

$c_1$  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 de l'azote, en grammes par mole ( $M = 14 \text{ g/mol}$ );

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

Donner le résultat à 1 g/kg près.