

---

---

**Produits alimentaires et aliments des  
animaux — Lignes directrices générales  
pour le dosage de l'azote selon la  
méthode de Kjeldahl**

*Food and feed products — General guidelines for the determination of  
nitrogen by the Kjeldahl method*

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

[ISO 1871:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/30a9936d-6958-40fb-ac4c-98225761e80a/iso-1871-2009)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/30a9936d-6958-40fb-ac4c-98225761e80a/iso-1871-2009>



**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 1871:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/30a9936d-6958-40fb-ac4c-98225761e80a/iso-1871-2009)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/30a9936d-6958-40fb-ac4c-98225761e80a/iso-1871-2009>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2009

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)

Publié en Suisse

## 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 1871 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 1871:1975), qui a fait l'objet d'une révision technique.

[ISO 1871:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/30a9936d-6958-40fb-ac4c-98225761e80a/iso-1871-2009)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/30a9936d-6958-40fb-ac4c-98225761e80a/iso-1871-2009>

## Introduction

L'analyse des produits d'origine animale ou végétale, notamment ceux utilisés dans des denrées alimentaires et aliments des animaux, comporte souvent le dosage de l'azote selon la méthode de Kjeldahl.

Cette méthode peut être normalisée en principe car il est possible d'admettre que divers appareils ou modes opératoires sont équivalents s'ils aboutissent à des résultats équivalents.

Le présent document a pour but de décrire les différentes étapes de la méthode, les points critiques associés et les objectifs minimaux à atteindre pour une bonne application de la méthode.

*Le présent document fournit des lignes directrices générales; il n'est pas destiné à remplacer les Normes internationales qui sont en cours d'utilisation.*

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

[ISO 1871:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/30a9936d-6958-40fb-ac4c-98225761e80a/iso-1871-2009)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/30a9936d-6958-40fb-ac4c-98225761e80a/iso-1871-2009>

# Produits alimentaires et aliments des animaux — Lignes directrices générales pour le dosage de l'azote selon la méthode de Kjeldahl

**AVERTISSEMENT** — L'utilisation de la présente Norme internationale peut impliquer l'utilisation de produits et la mise en œuvre de modes opératoires et d'appareillages à caractère dangereux. La présente Norme internationale n'a pas pour but d'aborder tous les problèmes de sécurité liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur d'établir, avant de l'utiliser, des pratiques d'hygiène et de sécurité appropriées et de déterminer l'applicabilité des restrictions réglementaires.

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale fournit des lignes directrices générales pour le dosage de l'azote selon la méthode de Kjeldahl. Elle est applicable aux produits alimentaires et aux aliments des animaux contenant des composés azotés directement dosables selon la méthode de Kjeldahl.

NOTE L'azote issu des nitrates et des nitrites n'est pas pris en compte par ce principe de dosage.

## 2 Principe

Minéralisation d'une prise d'essai par l'acide sulfurique concentré en présence de catalyseurs pour convertir l'azote organique présent en sulfate d'ammonium. Addition d'hydroxyde de sodium en excès au minéralisat refroidi pour libérer de l'ammoniac. Distillation de l'ammoniac libéré dans une solution d'acide borique en excès puis titrage par une solution titrée d'acide sulfurique ou chlorhydrique. Calcul de la teneur en azote à partir de la quantité d'ammoniac produite.

NOTE Dans la suite du texte, le terme azote désigne l'azote organique.

## 3 Réactifs

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue, *sauf spécification contraire*, et de l'eau distillée ou déminéralisée ou de l'eau de pureté équivalente.

**3.1 Acide sulfurique**, pratiquement exempt de composés azotés et de masse volumique  $\rho_{20} = 1,83$  g/ml à 1,84 g/ml.

**3.2 Catalyseurs** (voir 5.2.1).

**3.3 Solution d'acide borique** (10 g/l à 40 g/l suivant l'appareillage utilisé). Si un point final de titrage colorimétrique est utilisé, la solution d'acide borique doit contenir un indicateur (le pH ou la couleur de cette solution de mélange doit être ajusté avant son utilisation).

**3.4 Solution titrée d'acide chlorhydrique** (0,02 mol/l à 0,50 mol/l) ou **d'acide sulfurique** (0,01 mol/l à 0,25 mol/l). Le titre de la solution,  $c_t$ , doit être connu au minimum à 0,001 mol/l près.

**3.5 Indicateurs colorés**, dont le domaine de virage est situé entre pH 4 et pH 5.

NOTE Divers indicateurs colorés sont disponibles. Le plus utilisé est une association de rouge de méthyle et de vert de bromocrésol. Il existe des solutions d'acide borique prêtes à l'emploi contenant le mélange d'indicateurs.

**3.6 Peroxyde d'hydrogène** ( $H_2O_2$ ), de fraction massique de 30 % minimum.

**3.7 Solution d'hydroxyde de sodium**, de fraction massique de 30 % minimum.

**3.8 Antimousses.**

EXEMPLE Silicone, huile de paraffine.

**3.9 Sulfate d'ammonium** ou **chlorure d'ammonium** (pureté minimale 99,9 %).

Immédiatement avant l'emploi, sécher le sulfate d'ammonium ou le chlorure d'ammonium à  $104\text{ °C} \pm 4\text{ °C}$  pendant au moins 2 h. Laisser refroidir à température ambiante dans un dessiccateur.

NOTE L'utilisation de solutions de concentration connue est possible.

**3.10 Tryptophane** ou **acétanilide** ou **hydrochlorure de lysine** (pureté minimale 99 % en fraction massique).

Il convient de conserver ces réactifs à l'abri de l'humidité.

**AVERTISSEMENT — Ne pas sécher ces réactifs dans une étuve avant l'emploi.**

**3.11 Saccharose**, dont la teneur en azote est inférieure à 0,002 % (fraction massique).

**AVERTISSEMENT — Ne pas sécher le saccharose dans une étuve avant l'emploi.**

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/30a9936d-6958-40fb-ac4c-98225761e80a/iso-1871-2009>

## 4 Appareillage et matériaux

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

**4.1 Balance analytique**, capable de peser à 0,001 g près.

**4.2 Systèmes de minéralisation, de distillation à la vapeur et de titrage.**

Ils permettent de réaliser les opérations décrites dans l'Article 5 et de satisfaire aux objectifs de performance décrits en 5.5.3 et 5.5.4.

**4.3 Régulateurs d'ébullition** (si nécessaire), par exemple pierre ponce en grain, billes en verre, oxyde d'aluminium (corindon) ou carbure de silicium.

**4.4 Papier** ou **support de pesée**, exempt de composés azotés et adaptés à la prise d'essai et à la nature du produit.

## 5 Mode opératoire

NOTE Suivant la nature de l'échantillon, une préparation préalable de la prise d'essai peut être nécessaire afin d'obtenir un échantillon homogène (broyage, homogénéisation, etc.).

### 5.1 Prise d'essai

La prise d'essai, d'une quantité variable selon la teneur présumée en azote dosable selon la méthode de Kjeldahl, doit être représentative de l'échantillon et renfermer entre 0,005 g et 0,2 g d'azote.

La prise d'essai peut être effectuée soit par pesée à l'aide de la balance analytique (4.1), pour obtenir une masse,  $m$ , en grammes, soit à l'aide d'une pipette, pour obtenir un volume,  $V_t$ , en millilitres.

La prise d'essai peut être introduite directement dans le tube ou à l'aide d'un support (4.4).

La quantité de la prise d'essai pourra être ajustée en fonction de la composition du produit soumis à essai et de la quantité d'acide sulfurique (voir 5.2.2).

### 5.2 Minéralisation

#### 5.2.1 Catalyseurs

Il y a lieu de distinguer les substances destinées à élever la température d'ébullition du liquide pendant la minéralisation et les catalyseurs proprement dits qui facilitent cette minéralisation. Les premières de ces substances sont généralement du sulfate de potassium ou, éventuellement, du sulfate de sodium. Elles sont introduites en quantité suffisante pour élever la température d'ébullition de l'acide à une valeur comprise entre 380 °C et 430 °C. Le catalyseur le plus fréquemment utilisé est le cuivre sous forme de sulfate de cuivre seul ou associé à de l'oxyde de titane.

L'addition facultative de peroxyde d'hydrogène (3.6), à raison de 3 ml à 5 ml par tube avant chauffage, permet d'accélérer la minéralisation, mais il convient que son utilisation soit faite avec les plus grandes précautions sous peine de pertes d'azote sous forme gazeuse. De plus, son addition dans les tubes provoque une réaction exothermique violente qui nécessite les précautions d'usage.

Il convient que la quantité de sulfate de potassium apportée par le catalyseur ne soit pas inférieure à 7 g.

Selon les secteurs d'activités, différentes compositions sont utilisées. Il convient de s'assurer qu'elles répondent aux exigences de l'essai à blanc (5.5.2) et des essais de contrôle (5.5.3 et 5.5.4).

L'utilisation de catalyseurs à base de sélénium nécessite des précautions quant à la manipulation par les opérateurs et la maîtrise des rejets.

NOTE On trouve dans le commerce des catalyseurs composés prêts à l'emploi (par exemple pastilles ou tablettes).

#### 5.2.2 Addition d'acide

Il est important d'utiliser un apport suffisant d'acide sulfurique pour assurer une minéralisation après:

- la consommation d'acide par la matière organique de l'échantillon, sachant que 1 g de matière grasse consomme 10 ml d'acide sulfurique, 1 g de protéine consomme 5 ml d'acide sulfurique, 1 g de glucide consomme 4 ml d'acide sulfurique;
- la consommation d'acide par les réactifs (sels);
- les pertes d'acides par évaporation.

Un apport de 20 ml à 25 ml d'acide (3.1) est généralement suffisant pour assurer une bonne minéralisation et conserver un excès d'acide en fin de réaction.

### 5.2.3 Chauffage

**AVERTISSEMENT — Il convient que les opérations suivantes soient effectuées sous une hotte bien ventilée.**

D'une manière générale, il convient de se référer aux instructions d'utilisation fournies par le fabricant du matériel utilisé. Il convient de s'assurer de l'homogénéité du système de minéralisation, par exemple en réalisant sa cartographie thermique ou de rendement de minéralisation (5.5.3).

Il convient de porter à ébullition les produits formant de la mousse par une montée en température progressive ou par palier. Il est également possible d'utiliser un antimousse (3.8) à raison de trois à quatre gouttes par tube.

Pour les produits secs, il est possible de placer les tubes directement dans un bloc préchauffé.

Les vapeurs acides doivent être éliminées par un système d'aspiration adapté aux matériels utilisés. Une aspiration excessive risque de provoquer une cristallisation et une perte d'azote (voir Annexe A).

Dans tous les cas, il convient de déterminer la température et la durée de minéralisation pour répondre aux exigences du contrôle de la minéralisation (5.5.3).

NOTE 1 Le maintien d'une température de 420 °C pendant 2 heures convient à de nombreuses matrices.

Il convient que le minéralisat obtenu soit limpide et exempt de particules noires.

Au terme de la minéralisation, laisser refroidir les tubes à l'abri de toute contamination. À ce stade, les prises d'essai peuvent être conservées et distillées ultérieurement.

NOTE 2 L'étape de dilution à l'eau telle que décrite en 5.3.1 peut être réalisée à ce stade afin d'éviter la cristallisation.

## 5.3 Distillation de l'ammoniac

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/30a9936d-6958-40fb-ac4c-98225761e80a/iso-1871-2009>

### 5.3.1 Alcalinisation

Diluer le minéralisat avec de l'eau, puis l'alcaliniser par addition d'au moins 3,5 ml de solution d'hydroxyde de sodium (3.7) par millilitre d'acide sulfurique (3.1) mis en œuvre pour la minéralisation.

NOTE Le volume de la solution d'hydroxyde de sodium (3.7) ajoutée peut être moindre si la fraction massique est supérieure à 30 %.

**AVERTISSEMENT — Il convient de procéder à l'addition de solution avec précaution, car on observe un fort échauffement du milieu.**

### 5.3.2 Distillation

Effectuer la distillation dans les conditions d'utilisation usuelles de l'appareil considéré. Recueillir le distillat dans la solution d'acide borique (3.3) qui doit contenir l'indicateur coloré (3.5). Ajuster le pH jusqu'à changement de couleur jusqu'à une couleur grise (vert de bromocrésol + rouge de méthyle) avant de débiter la distillation.

Plusieurs critères existent pour déterminer la fin de la distillation, par exemple un volume spécifique de distillat recueilli, un temps fixe de distillation, etc. S'assurer par la conformité aux essais de contrôle (5.5), que la distillation de l'ammoniac est complète et ne comporte pas de surcharge par entraînement de liquide alcalin.



## 5.4 Titrage

Le distillat obtenu est titré avec l'acide sulfurique (3.1) ou l'acide chlorhydrique (3.4) soit simultanément, soit après la distillation. Dans le cas d'un titrage en fin de distillation, il convient de l'effectuer le plus rapidement possible.

Il existe deux méthodes de détection du point final.

- *Par colorimétrie visuelle ou à l'aide d'un système de mesurage optique.* Le point final est atteint au virage de l'indicateur. Dans le cas d'une colorimétrie visuelle, il est important de titrer chaque essai en se référant aux conditions obtenues sur l'essai à blanc.
- *Par potentiométrie à l'aide d'un système permettant la mesure du pH.* Suivant le matériel ou les modes opératoires, le point final peut être soit un pH fixé (généralement pH 4,6 qui correspond au point d'inflexion de la courbe de titrage), soit le pH obtenu sur l'essai à blanc, soit le pH initial de la solution d'acide borique.

Dans les deux cas, il convient que la validité des opérations de titrage soit vérifiée par le contrôle décrit en 5.5.4.

Enregistrer les volumes de titrant obtenus:  $V_0$  pour l'essai à blanc et  $V_1$  pour les échantillons.

## 5.5 Essais de contrôle

### 5.5.1 Généralités

Il convient qu'un essai à blanc et au moins un essai de contrôle de distillation et un essai de contrôle de la minéralisation soient inclus dans chaque série de dosages de l'azote.

[ISO 1871:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/30a9936d-6958-40fb-ac4c-98225761e80a/iso-1871-2009)

### 5.5.2 Essai à blanc

Réaliser un essai à blanc en suivant le mode opératoire décrit ci-dessus, en remplaçant la prise d'essai liquide par le même volume d'eau et en ajoutant la quantité appropriée de saccharose (3.11).

NOTE Dans les essais de contrôle à blanc et de contrôle de la minéralisation, le saccharose est utilisé comme matière organique pour consommer pendant la minéralisation une quantité d'acide sulfurique équivalente à celle d'une prise d'essai.

### 5.5.3 Essai de contrôle de la minéralisation

Réaliser un essai de contrôle de la minéralisation en suivant le mode opératoire décrit ci-dessus, en remplaçant la prise d'essai par une quantité de tryptophane ou d'acétanilide ou d'hydrochlorure de lysine (3.10) égale à la quantité d'azote des échantillons et en ajoutant la quantité appropriée de saccharose (3.11).

Calculer le pourcentage en fraction massique de récupération de l'azote qui devrait être compris entre 98 % et 101 %.

### 5.5.4 Essais de contrôle de distillation-titrage

Réaliser un essai à blanc de distillation-titrage en suivant le mode opératoire décrit en 5.3, sans prise d'essai. Il convient de retrancher le volume obtenu à celui de l'essai de distillation-titrage.

Réaliser un essai de contrôle de distillation-titrage dans les mêmes conditions sur une prise d'essai de sel d'ammonium (3.9) correspondant à la quantité d'azote des échantillons.

Calculer le pourcentage en fraction massique de récupération de l'azote qui devrait être compris entre 99 % et 101 %.