
NORME INTERNATIONALE



1871

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

Produits agricoles alimentaires — Directives générales pour le dosage de l'azote selon la méthode de Kjeldahl

Agricultural food products — General directions for the determination of nitrogen by the Kjeldahl method

iTeh STANDARD PREVIEW

Première édition — 1975-12-15

(standards.iteh.ai)

[ISO 1871:1975](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3b232693-d020-4635-8a56-22d5e047aecd/iso-1871-1975)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3b232693-d020-4635-8a56-22d5e047aecd/iso-1871-1975>

CDU 633/639 : 543.846

Réf. no : ISO 1871-1975 (F)

Descripteurs : produit agricole, analyse chimique, dosage, azote, méthode de Kjeldahl.

AVANT-PROPOS

L'ISO (Organisation Internationale de Normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (Comités Membres ISO). L'élaboration de Normes Internationales est confiée aux Comités Techniques 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.

Avant 1972, les résultats des travaux des Comités Techniques étaient publiés comme Recommandations ISO; maintenant, ces documents sont en cours de transformation en Normes Internationales. Compte tenu de cette procédure, le Comité Technique ISO/TC 34 a examiné la Recommandation ISO/R 1871 et est d'avis qu'elle peut, du point de vue technique, être transformée en Norme Internationale. La présente Norme Internationale remplace donc la Recommandation ISO/R 1871-1971 à laquelle elle est techniquement identique.

ISO 1871:1975
<https://standards.iso.org/standards/catalog/standards/sist/3b232693-d020-4635-8a56-22d5e047aecd/iso-1871-1975>

La Recommandation ISO/R 1871 avait été approuvée par les Comités Membres des pays suivants :

Afrique du Sud, Rép. d'	Grèce	Portugal
Australie	Hongrie	Roumanie
Autriche	Inde	Royaume-Uni
Brésil	Israël	Suède
Danemark	Nouvelle-Zélande	Tchécoslovaquie
Égypte, Rép. arabe d'	Pays-Bas	Turquie
Finlande	Pérou	U.R.S.S.
France	Pologne	

Aucun Comité Membre n'avait désapprouvé la Recommandation.

Le Comité Membre du pays suivant a désapprouvé la transformation de la Recommandation ISO/R 1871 en Norme Internationale :

Royaume-Uni

Produits agricoles alimentaires – Directives générales pour le dosage de l'azote selon la méthode de Kjeldahl

0 INTRODUCTION

0.1 L'analyse des produits d'origine animale ou végétale, notamment celle des denrées alimentaires, comporte souvent le dosage de l'azote selon la méthode de Kjeldahl.

Il paraît donc utile, afin de rendre comparables les résultats, de préconiser, pour ce dosage, un mode opératoire unique.

Or, l'expérience montre que

a) selon les produits et les opérateurs des divers pays, des modes opératoires différents sont suivis;

b) ces divers modes opératoires, lorsqu'ils sont correctement appliqués, donnent des résultats très voisins.

0.2 En tout état de cause, la dispersion des résultats du dosage de l'azote, due à la variété des modes opératoires, paraît généralement moins importante que la dispersion des résultats attribuable à l'hétérogénéité des produits examinés. En outre, le fait de choisir, pour chaque type de produit à analyser, un mode opératoire particulier, a pour conséquence

a) de satisfaire, sans doute, les spécialistes qui, analysant toujours le même produit, ont choisi le mode opératoire auquel ils sont habitués et qui leur convient;

b) de contraindre les laboratoires analysant divers types de produits, et désireux de respecter les Normes Internationales, à multiplier les modes opératoires, ce qui les oblige à disposer d'une collection d'appareils et de réactifs, et à entraîner le personnel à leur utilisation, ce qui est contraire à l'esprit de la normalisation.

En outre, lors de l'analyse de produits composés, dont chacun des divers composants devrait, en principe, être analysé selon un mode opératoire particulier, il est nécessaire de faire le choix d'une méthode qui ne sera pas forcément celle qui a été retenue pour chacun des composants du produit. Cela ne peut que nuire à l'application des Normes Internationales;

c) d'aboutir, le plus souvent, à ce que les laboratoires analysant divers types de produits se trouvent dans l'incapacité de respecter exactement les modes opératoires spécifiés, faute de disposer de tous les types d'appareils et réactifs correspondant à ces divers modes opératoires.

Ils sont donc amenés, soit à utiliser leur mode opératoire habituel (qui ne peut correspondre à la diversité des spécifications), soit à imaginer un compromis entre leur propre mode opératoire et celui qui a été spécifié, et à déroger, par conséquent, aux Normes Internationales.

0.3 Il résulte de ces considérations que la méthode de Kjeldahl peut être normalisée dans son principe, mais il est possible d'admettre que divers appareils ou modes opératoires sont équivalents, s'ils aboutissent à des résultats équivalents.

Il a, par suite, été estimé préférable

a) de définir les directives générales nécessaires pour l'application correcte de la méthode de Kjeldahl au dosage de l'azote dans les produits agricoles alimentaires; c'est l'objet de la présente Norme Internationale;

b) de laisser à des Normes Internationales propres à certains produits le soin de décrire des modes opératoires détaillés, conformes aux dispositions des directives générales, et susceptibles de constituer des fiches de travail dans les laboratoires.

Il existe des produits contenant des composés azotés dont l'azote n'est pas dosable selon la méthode de Kjeldahl; il s'agit de cas particuliers non compatibles avec les directives générales, et d'autres méthodes appropriées doivent, pour ces produits, faire l'objet de Normes Internationales particulières.

1 OBJET

La présente Norme Internationale donne des directives générales concernant les appareils et les modes opératoires utilisés pour le dosage de l'azote selon la méthode de Kjeldahl, dans les produits agricoles alimentaires. Les diverses variantes du mode opératoire doivent répondre à ces directives, afin d'aboutir à des résultats équivalents.

2 DOMAINE D'APPLICATION

La présente Norme Internationale est applicable aux produits contenant uniquement des composés azotés directement dosables selon la méthode de Kjeldahl. Les produits contenant, par exemple, des nitrites ou des nitrates en quantité importante nécessitent un traitement spécial, bien que la présente Norme Internationale puisse être appliquée aux produits à base de viande, en raison de leur faible teneur résiduelle en nitrites et nitrates.

3 PRINCIPE

Minéralisation par l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur, alcalinisation des produits de la réaction, distillation de l'ammoniac libéré et titrage.

4 PRISE D'ESSAI

La plupart des échantillons de produits dérivés des animaux ou des végétaux (aliments en particulier) ne pouvant pas être obtenus dans un état de parfaite homogénéité lors de leur préparation en laboratoire, il est recommandé d'adopter des macrométhodes.

La prise d'essai, variable en quantité selon la teneur présumée en azote dosable selon la méthode de Kjeldahl, doit être représentative de l'échantillon et doit renfermer entre 0,005 et 0,2 g d'azote et, de préférence, plus de 0,02 g.

Toutefois, dans le cas des produits insuffisamment homogènes, la prise d'essai doit être importante (supérieure à 1 g), et, si la teneur en azote est élevée, le dosage sera poursuivi sur une partie aliquote du liquide de minéralisation.

La prise d'essai doit être pesée ou mesurée avec une précision au moins égale à 0,1 %.

La prise d'essai peut être effectuée, notamment lorsqu'il s'agit d'un liquide visqueux ou d'un produit pâteux, dans un petit godet en verre que l'on laisse dans le matras, ou dans une feuille d'aluminium, de papier ou de matière plastique, n'apportant aucune surcharge d'azote ou dont la teneur en azote est connue.

5 MINÉRALISATION

5.1 Acide sulfurique

L'acide sulfurique utilisé doit être pratiquement exempt de composés azotés (voir 8.2).

Si l'on utilise de l'acide de masse volumique $\rho_{20} = 1,83$ à 1,84 g/ml, il y a lieu de prévoir 12 ml au moins d'acide pour une prise d'essai renfermant 1 g au plus de matière sèche et 6 à 12 ml par gramme de matière sèche supplémentaire.

Cette disposition n'a qu'une valeur indicative et doit être aménagée pour chaque type de produit considéré. Éviter tout excès inutile.

5.2 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 sodium ou, de préférence, du sulfate de potassium; elles sont introduites en quantité suffisante pour élever la température d'ébullition à une valeur comprise entre 360 et 380 °C environ à la fin de la minéralisation.

Souvent, ces substances sont mélangées à l'avance avec le catalyseur approprié; on obtient alors un réactif dit «catalyseur composé».

L'accord sur le choix d'un catalyseur s'est révélé particulièrement difficile. Diverses formules peuvent être indiquées dans les Normes Internationales particulières.

Tous les catalyseurs efficaces et satisfaisant aux essais à blanc et aux essais de contrôle sont admis.

Lorsque l'échantillon est pulvérulent, il est souvent avantageux de mélanger la prise d'essai avec le catalyseur, à sec, dans le matras de Kjeldahl, avant d'y introduire l'acide sulfurique.

5.3 Chauffage

Le début du chauffage est une phase délicate de la méthode de Kjeldahl; souvent, il se produit de la mousse qui risque d'envahir le col du matras ou même de s'en échapper. Une attention particulière doit être apportée à cet instant de la manipulation et un chauffage modéré doit être réalisé au début de l'opération. Il est parfois recommandé d'ajouter un agent antimousse (paraffine ou substances diverses modifiant la tension superficielle). Il est alors indispensable de s'assurer que ces substances n'apportent aucune surcharge d'azote.

Si la source de chaleur dégage un intense rayonnement infrarouge, on observe souvent que les substances (par exemple glucides) qui ont généralement tendance à provoquer de la mousse, forment alors des amas charbonneux, plus longs à se dissoudre par la suite, mais qui le font sans mousser fortement. Il peut aussi y avoir intérêt, dans certains cas, à différer le chauffage, par exemple, de 1 nuit.

Il est difficile de donner une description générale des sources de chauffage appropriées, au gaz ou à l'électricité. L'intensité du chauffage peut être quelque peu précisée en indiquant le temps nécessaire pour porter, de 20 °C à la température de l'ébullition, un volume donné d'eau placée dans un matras semblable à celui utilisé pour l'essai. Dans la pratique, le chauffage est suffisant si l'acide bouillant se condense vers le milieu du col du matras de Kjeldahl de type habituel, par exemple de capacité 300 ml. Dans tous les cas, il est essentiel d'éviter la surchauffe des parois du matras non mouillées de liquide; ce résultat est obtenu, par exemple, en posant le matras sur une plaque d'amiante munie d'un orifice de diamètre légèrement inférieur à celui de la surface libre du liquide dans le matras.

Pendant la durée du chauffage, il est recommandé de disposer le matras sur un support tel que son axe soit incliné de 30 à 45° par rapport à la verticale.

De nombreuses techniques prescrivent d'agiter le matras de temps à autre pendant la durée de minéralisation. On peut souvent éviter cette sujétion en introduisant, dans le matras, une bille de verre ayant, par exemple, un diamètre de 5 à 7 mm.

Le fait que le liquide, après s'être éclairci, ne change plus de teinte, n'indique pas nécessairement que la minéralisation soit achevée; l'azote de certains composés résistants comme la lysine, le tryptophane ou la tyrosine, n'est minéralisé que par un chauffage prolongé de 30 à 90 minutes après que la limpidité a été obtenue. Un chauffage complémentaire de 30 à 40 min est généralement suffisant. Pour un même produit et avec une prise d'essai de même masse, la durée du chauffage dépend à la fois de la source de chaleur dont on dispose et du catalyseur choisi.

Les caractéristiques optimales du chauffage sont celles qui permettent d'obtenir les résultats de dosage d'azote les plus élevés, après avoir éliminé toutes les causes d'erreur.

Pendant le chauffage, l'orifice du matras peut être partiellement obstrué, par exemple, à l'aide d'une boule pédiculée, ou bien engagé dans un dispositif d'absorption ou d'aspiration des vapeurs. Un tel dispositif ne doit comporter aucun risque de rétention de liquide acide projeté, ni de contamination par les résidus d'une opération antérieure.

Dans tous les cas, il est recommandé, pendant le refroidissement, de prendre les dispositions nécessaires pour protéger le contenu du matras des vapeurs ammoniacales accidentellement présentes dans le laboratoire.

En résumé, utiliser un appareil électrique ou à gaz, ne provoquant pas la surchauffe des parois du matras non mouillées de liquide et capable d'assurer une ébullition suffisante pour que l'acide se condense vers le milieu du col du matras de Kjeldahl de type habituel; poursuivre le chauffage 30 min au moins après que le liquide s'est éclairci et ne change plus de teinte.

5.4 Précipitation du mercure

Si le catalyseur utilisé renferme du mercure, celui-ci doit être précipité avant de procéder à la distillation de l'ammoniac.

L'hypophosphite de sodium ou de potassium constitue le meilleur réactif pour précipiter le mercure. Ce réactif doit être introduit à l'état sec, après la dilution et avant l'alcalinisation du milieu.

Dans la pratique, 1 g d'hypophosphite de sodium ou de potassium suffit pour précipiter jusqu'à 1 g de mercure.

NOTE — La précipitation du mercure par des sulfures ou des thiosulfates alcalins expose au risque de dégagement de sulfure d'hydrogène ou de dioxyde de soufre dans l'atmosphère de l'appareil, si, au cours du mélange, ces réactifs se trouvent temporairement en contact avec une zone acide du milieu. Ces gaz acides, dans le cas où ils passeraient directement dans le distillat, neutraliseraient ultérieurement une partie de l'ammoniac, provoquant alors une erreur par défaut.

6 DISTILLATION DE L'AMMONIAC

6.1 Appareillage

6.1.1 Les divers modes opératoires actuellement connus

décrivent une grande variété d'appareils de distillation. On peut distinguer les types d'appareils suivants :

- les appareils effectuant la distillation sans transvasement de la solution sulfurique contenue dans le matras d'attaque;
- les appareils nécessitant le transvasement de la solution acide soit en totalité, soit par prélèvement d'une partie aliquote.

6.1.2 L'appareil peut réaliser la distillation de l'ammoniac selon divers procédés, à savoir :

- par distillation simple, après dilution avec de l'eau;
- par entraînement à la vapeur d'eau, avec éventuellement isolation thermique ou chauffage auxiliaire du récipient renfermant la solution à distiller;
- par entraînement à la vapeur d'eau surchauffée, qui ne nécessite pas de chauffage auxiliaire.

6.1.3 Chaque appareil doit comporter un dispositif de condensation de la vapeur d'eau et de collecte des vapeurs ammoniacales.

Les divers types d'appareils sont admissibles, s'ils satisfont aux essais témoins décrits en 8.3.

Ces appareils doivent présenter les caractéristiques suivantes :

- éviter toute perte d'ammoniac, soit par volatilisation dans l'atmosphère au moment de l'alcalinisation, soit par fuite pendant la distillation;
- assurer la distillation complète de l'ammoniac;
- éviter toute surcharge alcaline accidentelle du distillat, par suite d'un entraînement de la solution d'hydroxyde de sodium, dont les brouillards doivent être retenus par un piège efficace.

6.2 Alcalinisation

Quel que soit l'appareil utilisé, il faut diluer la liqueur acide avec de l'eau, puis l'alcaliniser par addition d'une quantité suffisante de solution d'hydroxyde de sodium.

Si l'acide sulfurique utilisé a une masse volumique $\rho_{20} = 1,83$ à $1,84$ g/ml, et si l'on alcalinise au moyen d'une solution d'hydroxyde de sodium (exempte de carbonate) de masse volumique $\rho_{20} = 1,33$ g/ml (30 % (m/m) environ), il faut ajouter 3,5 ml au moins de solution d'hydroxyde de sodium par millilitre d'acide sulfurique restant après la minéralisation dans le matras ou dans la partie aliquote prélevée pour la distillation, ou 2 ml de solution d'hydroxyde de sodium par gramme d'acide. Si cette quantité d'acide sulfurique restant dans le matras est difficile à apprécier, prendre une quantité d'hydroxyde de sodium correspondant à la quantité totale d'acide sulfurique.

Par exemple, pour 12 ml d'acide sulfurique, ajouter 45 à 50 ml de solution d'hydroxyde de sodium.

Cette addition doit être faite avec précaution, car on observe un fort échauffement du milieu, et l'on peut redouter des pertes d'ammoniac avec certains appareils, ou même la rupture de l'appareil avec projection de liquide caustique chaud.

6.3 Distillation

Effectuer la distillation dans les conditions d'utilisation de l'appareil considéré.

S'assurer que la distillation de l'ammoniac est complète et ne comporte pas de surcharge par entraînement de liquide alcalin. C'est pourquoi le titrage simultané est recommandé. (Voir 7.1.)

Divers modes opératoires conseillent cependant l'utilisation de différents critères de fin de distillation, par exemple : soit le volume du distillat recueilli, soit le volume de résidu non distillé, soit la durée de l'opération. Ces critères sont sans rapport direct avec l'opération essentielle, c'est-à-dire la distillation quantitative de l'ammoniac. Ils ne peuvent être retenus que si des essais probants ont montré que cette distillation était totale dans les conditions indiquées. Il est toujours préférable de vérifier, à chaque essai, la fin de la distillation.

7 TITRAGE

7.1 Mode de titrage

7.1.1 Titrage simultané

Le titrage simultané de l'ammoniac pendant la distillation est recommandé, car il facilite la vérification de la fin de la distillation.

Il peut être réalisé en titrant l'ammoniac dans le distillat au fur et à mesure de son entraînement soit dans l'eau distillée, soit, de préférence, dans une solution d'acide borique.

Dans ce dernier cas, il suffit d'utiliser 10 à 25 ml d'une solution aqueuse d'acide borique à 4 % environ.

Ce titrage simultané permet d'observer si un entraînement de solution d'hydroxyde de sodium se produit; auquel cas, le titrage cesse d'être significatif. Si cela se produit, le résultat est défectueux et l'analyse doit être répétée.

Un essai à blanc, effectué en distillant un mélange d'eau et d'hydroxyde de sodium, peut confirmer l'existence de cet entraînement.

L'échauffement de ce liquide par un distillat mal refroidi doit être évité; la température ne doit pas dépasser 25 °C.

7.1.2 Titrage après distillation

Le titrage après distillation peut être effectué soit directement dans l'acide borique, soit en retour.

Le titrage en retour est effectué en recueillant l'ammoniac dans une solution titrée d'un acide fort, dont l'excès est dosé ultérieurement. S'assurer, par ailleurs, que la distillation soit complète dans les conditions de l'essai.

En effet, les erreurs évoquées précédemment (distillation incomplète de l'ammoniac et entraînement vésiculaire d'hydroxyde de sodium), qui sont de sens contraires, peuvent se compenser sensiblement et passer alors inaperçues.

Le titre de la solution acide utilisée doit être au minimum de 0,02 N et au maximum de 0,2 N. Ce titre doit être choisi de manière à employer, de préférence, un volume de liqueur titrée compris entre 5 et 50 ml.

7.2 Indicateur de titrage

Divers indicateurs colorés ont été proposés. Le rouge de méthyle est l'un des plus répandus, le vert de bromocrésol est également recommandable. L'indicateur connu sous le nom de «Tashiro», c'est-à-dire une solution de rouge de méthyle additionnée de bleu de méthylène, convient également, à condition que la proportion de colorant bleu soit ajustée de manière à obtenir une teinte gris neutre au pH 5,5.

Tout indicateur, ou tout dispositif électrométrique donnant des résultats satisfaisants aux essais témoins, est admissible.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

8 ESSAIS

ISO 8.1: Généralités

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3b232693-d020-4635-8a56-22d5e047aedc/iso-1871-1975>

Les balances, les masses marquées et la verrerie graduée sont supposées être exactes. Le titre des liqueurs utilisées est supposé être exactement connu.

Procéder en premier lieu à l'essai à blanc : contrôle des réactifs.

Procéder ensuite aux essais témoins : contrôle de l'appareillage et du mode opératoire.

Un essai à blanc et au moins un essai de contrôle doivent être inclus dans chaque série de dosages.

L'essai à blanc doit être effectué à chaque renouvellement d'un réactif.

8.2 Essai à blanc

L'essai à blanc comporte toutes les séquences du mode opératoire, et il est effectué en remplaçant la prise d'essai par une quantité équivalente d'une substance organique exempte d'azote (par exemple saccharose), mais susceptible de provoquer la réduction de dérivés nitriques ou nitreux éventuellement présents dans les réactifs. Il doit donner un résultat pratiquement nul (erreur de l'ordre de 1 goutte de la liqueur titrée choisie).

Dans le cas contraire, il y a lieu d'apporter la correction correspondante si l'erreur est faible ou, de préférence, de fractionner l'essai pour déceler quel réactif apporte une surcharge d'azote, ou bien si l'appareil provoque un entraînement d'hydroxyde de sodium. Remédier à la défectuosité constatée.

8.3 Essais témoins

8.3.1 Essai de l'appareil de distillation

Introduire dans l'appareil une quantité connue d'un sel d'ammonium, par exemple 10 ml d'une solution de sulfate d'ammonium 0,1 N. Alcaliniser, distiller et titrer.

Un résultat déficitaire est attribuable à une distillation incomplète ou à une fuite de l'appareil.

8.3.2 Essai d'ensemble, sans substance organique

Introduire le sel d'ammonium dans le matras et poursuivre le dosage selon le mode opératoire spécifié, minéralisation comprise.

Un résultat déficitaire, non attribuable à la distillation, aurait pour origine une perte s'étant produite pendant les

opérations antérieures (projection, volatilisation de composés azotés, etc.).

8.3.3 Essai avec minéralisation

Doser l'azote d'un composé organique connu, difficile à attaquer, par exemple du tryptophane, mélangé ou non avec des substances exemptes d'azote.

Un résultat déficitaire, non attribuable aux causes précédentes (voir 8.3.1 et 8.3.2) aurait pour origine une minéralisation insuffisante (par exemple, par défaut de chauffage) ou l'emploi d'un catalyseur inadéquat.

9 EXPRESSION DES RÉSULTATS

Les résultats doivent toujours être exprimés en azote (N). Si l'expression en protéines est également requise, le coefficient utilisé doit toujours être mentionné.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 1871:1975

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3b232693-d020-4635-8a56-22d5e047aedc/iso-1871-1975>

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 1871:1975

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/3b232693-d020-4635-8a56-22d5e047aedc/iso-1871-1975>