

**PREMIÈRE DIRECTIVE DE LA COMMISSION****du 15 juin 1971****portant fixation de méthodes d'analyse communautaire pour le contrôle officiel des aliments des animaux**

(71/250/CEE)

LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté économique européenne,

vu la directive du Conseil, du 20 juillet 1970, concernant l'introduction de modes de prélèvement d'échantillons et de méthodes d'analyse communautaires pour le contrôle officiel des aliments des animaux <sup>(1)</sup>, et notamment son article 2,

considérant que la directive susvisée prévoit que les contrôles officiels des aliments des animaux, pour constater si les conditions prescrites en vertu des dispositions législatives, réglementaires et administratives concernant la qualité et la composition des aliments des animaux, sont respectées et sont effectuées selon des modes de prélèvement d'échantillons et des méthodes d'analyse communautaires ;

considérant qu'il convient d'établir le plus rapidement possible toutes les méthodes d'analyse nécessaires, et que la fixation des méthodes de dosage de l'acide cyanhydrique, du calcium, des carbonates, des cendres brutes, des cendres insolubles dans HCl, du chlore des chlorures, de l'essence de moutarde, du lactose, du potassium, du sodium, des sucres, de la théobromine et de l'urée, la détermination des alcaloïdes des lupins ainsi que l'activité uréasique des produits de soja constituent une première étape ;

considérant que les mesures prévues dans la présente directive sont conformes à l'avis du Comité permanent des aliments des animaux,

A ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DIRECTIVE :

*Article premier*

Les États membres prescrivent que les analyses pour les contrôles officiels des aliments des animaux en ce qui concerne leurs teneurs en acide cyanhydrique, calcium, carbonates, cendres brutes, cendres insolubles dans HCl, chlore des chlorures, essence de moutarde, lactose, potassium, sodium, sucres, théobromine et urée, la détermination des alcaloïdes des lupins ainsi que l'activité uréasique des produits de soja sont effectuées selon les méthodes décrites à l'annexe de la présente directive.

*Article 2*

Les États membres mettent en vigueur, le 1<sup>er</sup> juillet 1972 au plus tard, les dispositions législatives, réglementaires ou administratives nécessaires pour se conformer aux dispositions de la présente directive. Ils en informent immédiatement la Commission.

*Article 3*

Les États membres sont destinataires de la présente directive.

Fait à Bruxelles, le 15 juin 1971.

*Par la Commission*

*Le président*

Franco M. MALFATTI

---

<sup>(1)</sup> JO n° L 170 du 3. 8. 1970, p. 2.

## ANNEXE

## MÉTHODES D'ANALYSE DES COMPOSANTS DES ALIMENTS DES ANIMAUX

## 1. INTRODUCTION

Les méthodes d'analyse des composants des aliments des animaux sont applicables, en général, à tous les aliments simples et composés. Toutefois, certains aliments requièrent, en raison de particularités inhérentes à leur composition, des modalités analytiques qui leur sont propres. Ces cas sont prévus en « observations » dans la description des méthodes.

Lorsque deux ou plusieurs méthodes sont indiquées pour la détermination d'un même composant d'un aliment, le choix de la méthode à appliquer est, sauf indication contraire, laissé au laboratoire de contrôle; toutefois, la méthode utilisée doit être indiquée sur le bulletin d'analyse.

**Préparation de l'échantillon à analyser**

L'analyse chimique doit *nécessairement* se faire sur un *échantillon homogène*. Par contre, certaines déterminations macroscopiques ou microscopiques ainsi que la détermination de l'humidité doivent pouvoir être faites sur l'échantillon dans l'état où il parvient au laboratoire. Pour tenir compte de cette double exigence, *on partage l'échantillon en deux parties. L'une d'elles est taillée en l'état; l'autre est préparée comme suit en vue de l'analyse chimique.*

Diviser l'échantillon soit à l'aide d'un appareil mécanique, soit à la main, après en avoir mélangé soigneusement la totalité sur une surface propre et sèche. Dans ce dernier cas, il est indiqué d'appliquer la méthode des quartiers qui consiste à effectuer successivement des prélèvements dans deux secteurs opposés. Pour terminer, prélever en vue de l'analyse une portion de 100 g environ et broyer, si nécessaire, pour faire passer la totalité par un tamis à mailles rondes de 1 mm de diamètre. Introduire immédiatement cet échantillon dans un récipient sec muni d'une fermeture étanche à l'air et obturer.

Si l'échantillon est très humide, il est nécessaire de procéder à une prédessiccation, afin de ramener la teneur en humidité à une valeur comprise entre 8 et 12 pour cent. A cet effet, dessécher l'échantillon à une température appropriée durant un temps suffisant.

**Réactifs et appareillage**

Dans la description des méthodes d'analyse, seuls les instruments ou appareils spéciaux ou requérant des normes particulières sont indiqués. Il est apparu superflu de mentionner tous les appareils ou ustensiles faisant partie de l'instrumentation courante des laboratoires de contrôle. Par ailleurs, lorsqu'il est fait mention *d'eau* pour les dilutions ou les lavages, il s'agit toujours *d'eau distillée*. De même, lorsqu'il est fait mention d'une *solution*, sans autre indication, d'un réactif, il s'agit d'une *solution dans l'eau distillée*.

**Expression des résultats**

Le résultat mentionné sur le bulletin d'analyse est la valeur moyenne obtenue à partir de deux déterminations au moins. Sauf dispositions particulières, il est exprimé en pour cent de l'échantillon original, tel qu'il est parvenu au laboratoire. Le résultat ne doit pas comporter plus de chiffres significatifs que ne le permet la précision de la méthode d'analyse.

## 2. DOSAGE DE L'ACIDE CYANHYDRIQUE

### 1. Objet et domaine d'application

La méthode permet de déterminer la teneur en acide cyanhydrique libre et combiné sous forme de glucosides des aliments des animaux et, notamment, des produits de graines de lin, de farine de manioc et de certaines espèces de haricots.

### 2. Principe

L'échantillon est mis en suspension dans l'eau. L'acide cyanhydrique est libéré sous l'action de ferments, entraîné par distillation à la vapeur d'eau et recueilli dans un volume déterminé de solution de nitrate d'argent acidifiée. Le cyanure d'argent est séparé par filtration et l'excès de nitrate d'argent est titré par une solution de thiocyanate d'ammonium.

### 3. Réactifs

- 3.1. Suspension d'amandes douces : broyer 20 amandes douces mondées dans 100 ml d'eau à 37 à 40 °C. Vérifier l'absence d'acide cyanhydrique sur 10 ml de la suspension, à l'aide d'un papier micro-sodé ou en effectuant un essai à blanc comme indiqué en 5 dernier paragraphe.
- 3.2. Solution à 10 pour cent (p/v) d'acétate de sodium, neutre à la phénolphthaléine.
- 3.3. Émulsion d'antimousse (silicone, par ex.).
- 3.4. Acide nitrique, d : 1,40.
- 3.5. Solution de nitrate d'argent : 0,02 N.
- 3.6. Solution de thiocyanate d'ammonium : 0,02 N.
- 3.7. Solution saturée de sulfate d'ammonium ferrique.
- 3.8. Ammoniaque, d : 0,958.

### 4. Appareillage

- 4.1. Étuve munie d'un thermostat réglé à 38 °C.
- 4.2. Appareil de distillation par entraînement à la vapeur d'eau muni d'un réfrigérant avec rallonge courbée.
- 4.3. Ballons à fond plat de 1 000 ml, à bouchon rodé.
- 4.4. Bain d'huile.
- 4.5. Burette graduée à 1/20 ml.

### 5. Mode opératoire

Peser, à 5 mg près, 20 g de l'échantillon, les introduire dans un ballon de 1 l à fond plat et ajouter 50 ml d'eau et 10 ml de suspension d'amandes douces (3.1). Boucher le ballon et le maintenir pendant seize heures dans l'étuve à 38 °C. Refroidir ensuite à la température ambiante et ajouter 80 ml d'eau, 10 ml de solution d'acétate de sodium (3.2) et une goutte d'émulsion antimousse (3.3).

Relier le ballon à l'appareil de distillation à la vapeur et le placer dans un bain d'huile préalablement portée à une température légèrement supérieure à 100 °C. Distiller 200 à 300 ml de liquide en faisant passer dans le ballon un puissant courant de vapeur et en chauffant doucement le bain d'huile. Recueillir le distillat dans un erlenmeyer placé à l'abri de la lumière et contenant 50 ml exactement de solution de nitrate d'argent 0,02 N (3.5) et 1 ml d'acide nitrique (3.4). Veiller à ce que la rallonge du réfrigérant plonge dans la solution de nitrate d'argent.

Transvaser le contenu de l'erlenmeyer dans un ballon jaugé de 500 ml, compléter au volume avec de l'eau, agiter et filtrer. Prélever 250 ml du filtrat, ajouter 1 ml environ de solution de sulfate d'ammonium ferrique (3.7) et titrer en retour l'excès de nitrate d'argent par la solution de thiocyanate d'ammonium 0,02 N (3.6) débitée de la burette graduée à 1/20 ml.

Effectuer éventuellement un essai à blanc en appliquant le même mode opératoire à 10 ml de suspension d'amandes douces (3.1), en l'absence d'échantillon à analyser.

**6. Calcul des résultats**

Si l'essai à blanc indique une consommation de solution de nitrate d'argent 0,02 N, soustraire cette valeur du volume consommé par le distillat de l'échantillon.

1 ml de  $\text{AgNO}_3$  0,02 N correspond à 0,54 mg de HCN. Exprimer le résultat en pour cent de l'échantillon.

**7. Observation**

Si l'échantillon contient une quantité importante de sulfures (haricots, par ex.), il se forme un précipité noir de sulfure d'argent qui est filtré avec le dépôt de cyanure d'argent. La formation de ce précipité entraîne une perte de solution de nitrate d'argent 0,02 N dont le volume doit être retranché du volume pris en considération pour le calcul de la teneur en HCN. A cet effet, procéder comme indiqué ci-après.

Traiter le dépôt retenu sur le filtre par 50 ml d'ammoniaque (3.8) pour dissoudre le cyanure d'argent. Laver le résidu par de l'ammoniaque diluée et procéder à la détermination de sa teneur en argent. Convertir la valeur obtenue en ml de solution de nitrate d'argent 0,02 N.

La teneur en HCN de l'échantillon peut également être déterminée par titration du filtrat ammoniacal acidifié par l'acide nitrique.

---

**3. DOSAGE DU CALCIUM****1. Objet et domaine d'application**

La méthode permet de déterminer la teneur en calcium total des aliments des animaux.

**2. Principe**

L'échantillon est incinéré, les cendres sont traitées par l'acide chlorhydrique et le calcium est précipité sous forme d'oxalate de calcium. Après dissolution du précipité dans l'acide sulfurique, l'acide oxalique formé est titré par une solution de permanganate de potassium.

**3. Réactifs**

- 3.1. Acide chlorhydrique p.a., d : 1,14
- 3.2. Acide nitrique p.a., d : 1,40
- 3.3. Acide sulfurique p.a., d : 1,13
- 3.4. Ammoniaque p.a., d : 0,98
- 3.5. Solution saturée à froid d'oxalate d'ammonium p.a.
- 3.6. Solution à 30 pour cent (p/v) d'acide citrique p.a.
- 3.7. Solution à 5 pour cent (p/v) de chlorure d'ammonium p.a.
- 3.8. Solution à 0,04 pour cent (p/v) de vert de bromocrésol
- 3.9. Solution de permanganate de potassium 0,1 N

**4. Appareillage**

- 4.1. Four à moufle électrique, à circulation d'air et thermostat
- 4.2. Creusets à incinération en platine, quartz ou porcelaine
- 4.3. Creusets filtrants en verre, porosité  $G_4$

### 5. Mode opératoire

Peser, à 1 mg près, 5 g environ de l'échantillon (ou plus si nécessaire), les calciner à 550 °C et transvaser les cendres dans un bécher de 250 ml. Ajouter 40 ml d'acide chlorhydrique (3.1), 60 ml d'eau et quelques gouttes d'acide nitrique (3.2). Porter à ébullition et maintenir celle-ci pendant trente minutes. Refroidir, transvaser la solution dans un ballon jaugé de 250 ml. Rincer, compléter le volume jusqu'au trait de jauge avec de l'eau, homogénéiser et filtrer.

Prélever à la pipette, selon la teneur présumée en calcium, une quantité aliquote contenant de 10 à 40 mg de calcium et l'introduire dans un bécher de 250 ml. Ajouter 1 ml de solution d'acide citrique (3.6) et 5 ml de solution de chlorure d'ammonium (3.7). Compléter le volume à 100 ml environ avec de l'eau. Porter à ébullition, ajouter 8 à 10 gouttes de solution de vert de bromocrésol (3.8) et 30 ml de solution chaude d'oxalate d'ammonium (3.5). Si un précipité apparaît, dissoudre celui-ci par addition de quelques gouttes d'acide chlorhydrique (3.1).

Neutraliser ensuite très lentement par l'ammoniaque (3.4), en agitant constamment, jusqu'à obtention d'un pH de l'ordre de 4,4 à 4,6 (virage de l'indicateur). Placer le bécher dans un bain d'eau bouillante, maintenir durant trente minutes pour laisser déposer le précipité formé. Retirer le bécher du bain d'eau. Laisser reposer durant une heure et filtrer dans un creuset filtrant G<sub>4</sub>.

Laver le bécher et le creuset à l'eau jusqu'à élimination de l'excès d'oxalate d'ammonium (l'absence de chlorure dans les eaux de lavage indique que le lavage a été suffisant).

Dissoudre le précipité sur le filtre par 50 ml d'acide sulfurique (3.3) chaud. Rincer le creuset à l'eau chaude et amener le filtrat à 100 ml environ. Amener la température à 70-80 °C et titrer goutte à goutte par la solution de permanganate de potassium (3.9) jusqu'à obtention d'une coloration rose persistant pendant 1 minute.

### 6. Calcul des résultats

1 ml de permanganate de potassium 0,1 N correspond à 2,004 mg de calcium. Exprimer le résultat obtenu en pour cent de l'échantillon.

### 7. Observations

7.1. Pour les très faibles teneurs en calcium, procéder comme indiqué ci-après. Filtrer le précipité d'oxalate de calcium sur un papier filtre sans cendres. Après lavage, sécher le filtre et le calciner à 550 °C dans un creuset en platine. Reprendre le résidu par quelques gouttes d'acide sulfurique (3.3), évaporer à sec, calciner à nouveau à 550 °C et peser. Si p représente le poids de sulfate de calcium obtenu, la teneur en calcium de la quantité aliquote prélevée =  $p \times 0,2944$ .

7.2. Si l'échantillon est constitué uniquement de matières minérales, procéder à la dissolution par l'acide chlorhydrique sans incinération préalable. Pour les produits tels que les phosphates aluminocalciques, difficiles à dissoudre dans les acides, procéder comme suit à une fusion alcaline avant la dissolution. Mélanger intimement dans un creuset de platine la prise d'essai avec environ 5 fois son poids d'un mélange, en parties égales, de carbonate de potassium et de carbonate de sodium. Chauffer avec précaution jusqu'à fusion complète du mélange. Après refroidissement, dissoudre par l'acide chlorhydrique.

7.3. Si la teneur en magnésium de l'échantillon est élevée, procéder à une seconde précipitation de l'oxalate de calcium.

## 4. DOSAGE DES CARBONATES

1. **Objet et domaine d'application**

La méthode permet de doser les carbonates, conventionnellement exprimés en carbonate de calcium, dans la plupart des aliments des animaux. Dans certains cas cependant (carbonate de fer, par exemple), il faut utiliser une méthode particulière.

2. **Principe**

Les carbonates sont décomposés par l'acide chlorhydrique ; le gaz carbonique libéré est recueilli dans un tube gradué et son volume est comparé à celui dégagé, dans les mêmes conditions, par une quantité connue de carbonate de calcium p.a.

3. **Réactifs**

3.1. Acide chlorhydrique, d : 1,10.

3.2. Carbonate de calcium p.a.

3.3. Acide sulfurique 0,1 N environ, coloré par du rouge de méthyle.

4. **Appareillage**

Appareil selon Scheibler-Dietrich (v. schéma) ou appareil équivalent.

5. **Mode opératoire**

Selon la teneur en carbonates de l'échantillon, peser une prise d'essai comme indiqué ci-après :

0,5 g pour les produits contenant de 50 à 100 pour cent de carbonates, exprimés en carbonate de calcium ;

1 g pour les produits contenant de 10 à 50 pour cent de carbonates, exprimés en carbonate de calcium ;

2 g à 3 g pour les autres produits.

Introduire la prise d'essai dans le flacon spécial (4) de l'appareil, muni d'un petit tube en matière incassable contenant 10 ml d'acide chlorhydrique (3.1), et raccorder le flacon à l'appareil. Tourner le robinet à trois voies (5) de façon que le tube (1) communique avec l'extérieur. A l'aide du tube mobile (2), qui est rempli d'acide sulfurique coloré (3.3) et relié au tube gradué (1), amener le niveau du liquide à la graduation zéro. Tourner le robinet (5), de façon à faire communiquer les tubes (1) et (2), et vérifier le niveau zéro.

Laisser couler lentement l'acide chlorhydrique (3.1) sur la prise d'essai en inclinant le flacon (4). Égaliser la pression en abaissant le tube (2). Agiter le flacon (4) jusqu'à cessation complète du dégagement de gaz carbonique.

Rétablir la pression en ramenant le liquide au même niveau dans les tubes (1) et (2). Faire la lecture après *quelques minutes*, lorsque le volume gazeux est devenu constant.

Effectuer dans les mêmes conditions un essai de comparaison sur 0,5 g de carbonate de calcium (3.2).

6. **Calcul des résultats**

La teneur en g de carbonates, exprimés en carbonate de calcium, pour cent d'échantillon est donnée par le rapport :

$$\frac{V \times 100}{T \times 2 P}$$

dans lequel :

V = ml de CO<sub>2</sub> dégagés par la prise d'essai.

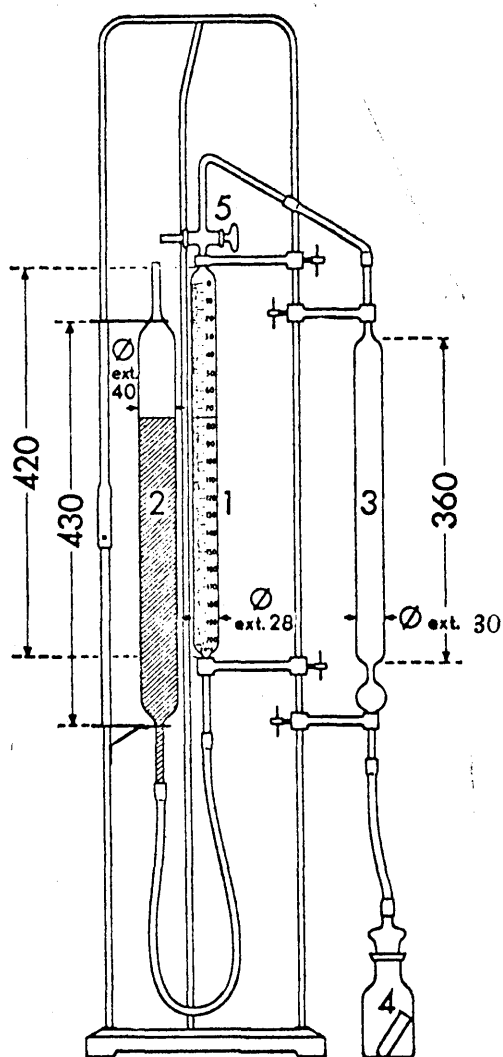
T = ml de CO<sub>2</sub> dégagés par 0,5 g de CaCO<sub>3</sub> p.a.

P = poids de la prise d'essai en g.

## 7. Observations

- 7.1. Lorsque la prise d'essai est supérieure à 2 g, introduire préalablement 15 ml d'eau distillée dans le flacon (4) et mélanger avant de commencer l'essai. Employer le même volume d'eau pour l'essai de comparaison.
- 7.2. Si l'on utilise un appareil d'un volume différent de celui de Scheibler-Dietrich, il faut y adapter la prise d'essai de l'échantillon et de la substance de comparaison ainsi que le calcul des résultats.

### APPAREIL D'APRÈS SCHEIBLER-DIETRICH POUR DOSAGE DU CO<sub>2</sub>



Échelle : 1/8

(Mesures en mm)

## 5. DOSAGE DES CENDRES BRUTES

### 1. Objet et domaine d'application

La méthode permet de déterminer la teneur en cendres brutes des aliments des animaux.

### 2. Principe

L'échantillon est incinéré à 550 °C ; le résidu est pesé.

### 3. Réactifs

Solution à 20 pour cent (p/v) de nitrate d'ammonium.

### 4. Appareillage

4.1. Plaque chauffante.

4.2. Four à moufle électrique, avec thermostat.

4.3. Creusets à incinération en platine ou en alliage de platine et or (10 pour cent Pt, 90 pour cent Au), rectangulaires (60 × 40 × 25 mm) ou ronds (diamètre : 60 à 75 mm, hauteur : 20 à 25 mm).

### 5. Mode opératoire

Peser, à 1 mg près, 5 g environ de l'échantillon (2,5 g pour les produits ayant tendance à gonfler) dans un creuset à incinération préalablement calciné et taré. Placer le creuset sur la plaque chauffante et chauffer progressivement jusqu'à carbonisation de la matière. Introduire le creuset dans le four à moufle réglé à 550 °C ± 5 °C. Maintenir à cette température jusqu'à obtention de cendres blanches, gris clair ou rougeâtres, apparemment dépourvues de particules charbonneuses. Placer le creuset dans un dessiccateur, laisser refroidir et peser immédiatement.

### 6. Calcul des résultats

Calculer le poids du résidu en déduisant la tare.

Exprimer le résultat en pour cent de l'échantillon.

### 7. Observations

7.1. Les cendres des *matières difficiles à incinérer* doivent être soumises à une première incinération de trois heures au moins, refroidies et additionnées de quelques gouttes d'une solution à 20 pour cent de nitrate d'ammonium (prudemment, pour éviter la dispersion ou le collage des cendres). Poursuivre la calcination après dessiccation à l'étuve.

Répéter éventuellement l'opération jusqu'à incinération complète.

7.2. Pour les matières qui résistent au traitement indiqué en 7.1, opérer comme suit. Après une incinération de trois heures, reprendre les cendres par de l'eau chaude et filtrer sur un petit filtre sans cendres. Incinérer le filtre et son contenu dans le creuset initial. Amener le filtrat dans le creuset refroidi, évaporer à sec, incinérer et peser.

7.3. Dans le cas des *huiles et des graisses*, peser avec exactitude une prise d'essai de l'ordre de 25 g dans un creuset de capacité appropriée. Carboniser en enflammant la matière au moyen d'une mèche de papier filtre sans cendres. Après combustion, humecter par le minimum nécessaire d'eau. Sécher et incinérer comme indiqué en 5.



## 6. DOSAGE DES CENDRES INSOLUBLES DANS L'ACIDE CHLORHYDRIQUE

### 1. Objet et domaine d'application

La méthode permet de déterminer la teneur en matières minérales insolubles dans l'acide chlorhydrique des aliments des animaux. Deux procédés sont prévus en fonction de la nature de l'échantillon.

- 1.1. *Procédé A* : applicable aux aliments organiques simples et à la plupart des aliments composés ;
- 1.2. *Procédé B* : applicable aux composés et mélanges minéraux ainsi qu'aux aliments composés dont la teneur en insoluble chlorhydrique, déterminée selon le procédé A, est supérieure à 1 pour cent.

### 2. Principe

- 2.1. *Procédé A* : l'échantillon est incinéré, les cendres sont traitées à ébullition par l'acide chlorhydrique et le résidu insoluble est filtré et pesé.
- 2.2. *Procédé B* : l'échantillon est traité par l'acide chlorhydrique. La solution est filtrée, le résidu est incinéré et les cendres obtenues sont traitées comme dans le procédé A.

### 3. Réactifs

- 3.1. Acide chlorhydrique 3 N.
- 3.2. Solution à 20 pour cent (p/v) d'acide trichloracétique.
- 3.3. Solution à 1 pour cent (p/v) d'acide trichloracétique.

### 4. Appareillage

- 4.1. Plaque chauffante.
- 4.2. Four à moufle électrique, avec thermostat.
- 4.3. Creusets à incinération en platine ou en alliage de platine et or (10 pour cent Pt, 90 pour cent Au), rectangulaires (60 × 40 × 25 mm) ou ronds (diamètre : 60 à 75 mm, hauteur : 20 à 25 mm).

### 5. Mode opératoire

#### 5.1. *Procédé A*

Incinérer la prise d'essai selon le mode opératoire décrit pour le dosage des cendres brutes. On peut également utiliser les cendres obtenues lors de ce dosage.

Introduire les cendres dans un bécher de 250 à 400 ml à l'aide de 75 ml d'acide chlorhydrique 3 N (3.1). Porter prudemment le liquide à ébullition douce et maintenir celle-ci pendant quinze minutes. Filtrer la solution chaude sur un papier filtre sans cendres et laver le résidu avec de l'eau chaude jusqu'à disparition de réaction acide. Sécher le filtre contenant le résidu et incinérer dans un creuset taré à une température de 550 °C au moins et de 700 °C au plus. Refroidir en dessiccateur et peser.

#### 5.2. *Procédé B*

Peser, à 1 mg près, 5 g de l'échantillon et les introduire dans un bécher de 250 à 400 ml. Ajouter successivement 25 ml d'eau et 25 ml d'acide chlorhydrique 3 N (3.1), mélanger et attendre la fin de l'effervescence. Ajouter encore 50 ml d'acide chlorhydrique 3 N (3.1). Attendre la fin d'un éventuel dégagement gazeux, placer ensuite le bécher dans un bain d'eau bouillante et l'y maintenir pendant trente minutes ou plus, si nécessaire, afin d'hydrolyser complètement l'amidon éventuellement présent.

Filtrer à chaud sur filtre sans cendres et laver le filtre à l'aide de 50 ml d'eau chaude (v. observation 7). Placer le filtre contenant le résidu dans un creuset à incinération, sécher et incinérer à une température de 550 °C au moins et 700 °C au plus. Introduire ensuite les cendres dans un bécher de 250 à 400 ml à l'aide de 75 ml d'acide chlorhydrique 3 N (3.1) ; poursuivre comme indiqué en 5.1, deuxième alinéa.

#### 6. Calcul des résultats

Calculer le poids du résidu en déduisant la tare. Exprimer le résultat en pour cent de l'échantillon.

#### 7. Observation

Si la filtration s'avère difficile, recommencer le dosage en remplaçant les 50 ml d'acide chlorhydrique 3 N par 50 ml d'acide trichloracétique à 20 pour cent (3.2) et en lavant le filtre à l'aide d'une solution chaude d'acide trichloracétique à 1 pour cent (3.3).

### 7. DOSAGE DU CHLORE DES CHLORURES

#### 1. Objet et domaine d'application

La méthode permet de doser le chlore des chlorures solubles dans l'eau, conventionnellement exprimé en chlorure de sodium. Elle est applicable à tous les aliments des animaux.

#### 2. Principe

Les chlorures sont mis en solution dans l'eau. Si le produit contient des matières organiques, on procède à une défécation. La solution est légèrement acidifiée par l'acide nitrique et les chlorures sont précipités sous forme de chlorure d'argent à l'aide d'une solution de nitrate d'argent. L'excès de nitrate d'argent est titré par une solution de thiocyanate d'ammonium, selon la méthode de Volhard.

#### 3. Réactifs

- 3.1. Solution de thiocyanate d'ammonium 0,1 N.
- 3.2. Solution de nitrate d'argent 0,1 N.
- 3.3. Solution saturée de sulfate d'ammonium ferrique.
- 3.4. Acide nitrique, d : 1,38
- 3.5. Éther diéthylique p.a.
- 3.6. Acétone p.a.
- 3.7. Solution de Carrez I : dissoudre dans l'eau 24 g d'acétate de zinc,  $Zn (CH_3COO)_2 \cdot 2 H_2O$  et 3 g d'acide acétique glacial. Compléter à 100 ml avec de l'eau.
- 3.8. Solution de Carrez II : dissoudre dans l'eau 10,6 g de ferrocyanure de potassium  $K_4 [Fe (CN)_6] \cdot 3 H_2O$ . Compléter à 100 ml avec de l'eau.
- 3.9. Charbon actif p.a., exempt de chlorures et n'en adsorbant pas.

#### 4. Appareillage

Mélangeur (culbuteur) : environ 35 à 40 retournements par minute.

#### 5. Mode opératoire

##### 5.1. Préparation de la solution

Selon la nature de l'échantillon, préparer une solution comme indiqué en 5.1.1, 5.1.2 ou 5.1.3.

Effectuer, en parallèle, un essai à blanc exempt d'échantillon à analyser.

**5.1.1. Échantillons exempts de matière organique**

Peser, à 1 mg près, une prise d'essai (pas plus de 10 g), ne contenant pas plus de 3 g de chlore sous forme de chlorures et l'introduire dans un flacon jaugé de 500 ml avec 400 ml d'eau à 20 °C environ. Mélanger durant trente minutes dans le culbuteur, compléter au volume, homogénéiser et filtrer.

**5.1.2. Échantillons contenant des matières organiques, à l'exception des produits mentionnés en 5.1.3**

Peser, à 1 mg près, 5 g environ de l'échantillon et les introduire avec 1 g de charbon actif dans un flacon jaugé de 500 ml. Ajouter 400 ml d'eau à 20 °C environ et 5 ml de solution de Carrez I (3.7), agiter et ajouter ensuite 5 ml de solution de Carrez II (3.8). Mélanger durant trente minutes dans le culbuteur, compléter au volume, homogénéiser et filtrer.

**5.1.3. Aliments cuits, tourteaux et farine de lin, produits riches en farine de lin et aux autres produits riches en mucilages ou en substances colloïdales (par ex. amidon dextriné)**

Préparer la solution comme indiqué en 5.1.2 mais ne pas filtrer. Décantier (si nécessaire, centrifuger), prélever 100 ml du liquide surnageant et les introduire dans un ballon jaugé de 200 ml. Mélanger avec de l'acétone (3.6) et compléter au volume avec ce solvant, homogénéiser et filtrer.

**5.2. Titration**

Introduire à la pipette dans un erlenmeyer 25 à 100 ml du filtrat (selon la teneur présumée en chlore) obtenu en 5.1.1, 5.1.2 ou 5.1.3. La portion aliquote ne doit pas contenir plus de 150 mg de chlore (Cl). Diluer, si nécessaire, à 50 ml au moins avec de l'eau, ajouter 5 ml d'acide nitrique (3.4), 20 ml de solution saturée de sulfate d'ammonium ferrique (3.3) et 2 gouttes de solution de thiocyanate d'ammonium (3.1) débitées à l'aide d'une burette remplie jusqu'au trait de jauge zéro. Débiter ensuite à l'aide d'une burette la solution de nitrate d'argent (3.2) de façon à obtenir un excès de 5 ml. Ajouter 5 ml d'éther diéthylique (3.5) et agiter fortement pour rassembler le précipité.

Titre l'excès de nitrate d'argent par la solution de thiocyanate d'ammonium (3.1) jusqu'à ce que le virage au rouge-brun persiste pendant une minute.

**6. Calcul des résultats**

La quantité de chlore (p) exprimée en chlorure de sodium, présente dans le volume de filtrat prélevé pour la titration, est donnée par la formule suivante :

$$p = 5,845 (V_1 - V_2) \text{ mg}$$

dans laquelle :  $V_1$  = ml de solution de nitrate d'argent 0,1 N ajoutés

$V_2$  = ml de solution de thiocyanate d'ammonium 0,1 N utilisés lors de la titration.

Si l'essai à blanc indique une consommation de solution de nitrate d'argent 0,1 N, retrancher cette valeur du volume ( $V_1 - V_2$ ).

Exprimer le résultat en pour cent de l'échantillon.

**7. Observations**

7.1. La titration peut également se faire par potentiométrie ;

7.2. Pour les produits très riches en matières grasses, procéder à un dégraissage préalable par l'éther diéthylique ou l'éther de pétrole ;

7.3. Pour les farines de poisson, la titration peut être effectuée par la méthode de Mohr.

## 8. DOSAGE DE L'ESSENCE DE MOUTARDE

### 1. Objet et domaine d'application

La méthode permet de déterminer la teneur en essence de moutarde entraînable par la vapeur d'eau, exprimée en isothiocyanate d'allyle, des tourteaux des espèces *Brassica* et *Sinapis* et des aliments composés qui en contiennent.

### 2. Principe

L'échantillon est mis en suspension dans l'eau. Les essences de moutarde sont libérées sous l'action de ferments, entraînées par distillation en présence d'éthanol et recueillies dans l'ammoniaque diluée. La solution est traitée à chaud par un volume déterminé de solution de nitrate d'argent, refroidie et filtrée. L'excès de nitrate d'argent est titré par une solution de thiocyanate d'ammonium.

### 3. Réactifs

- 3.1. Moutarde blanche (*Sinapis alba*).
- 3.2. Éthanol, 95 à 96 pour cent (v/v).
- 3.3. Émulsion d'antimousse (silicone, par ex.).
- 3.4. Ammoniaque, d : 0,958.
- 3.5. Solution de nitrate d'argent 0,1 N.
- 3.6. Solution de thiocyanate d'ammonium 0,1 N.
- 3.7. Acide nitrique, d : 1,40.
- 3.8. Solution saturée de sulfate d'ammonium ferrique.

### 4. Appareillage

- 4.1. Ballons de 500 ml, à fond plat et bouchon rodé.
- 4.2. Appareil à distiller muni d'un réfrigérant et d'un dispositif permettant d'éviter l'entraînement de gouttelettes.

### 5. Mode opératoire

Peser, à 1 mg près, 10 g de l'échantillon, les introduire dans un ballon de 500 ml à fond plat et ajouter 2 g de moutarde blanche finement broyée (source de ferment) (3.1) et 200 ml d'eau à 20 °C. Boucher le ballon et le maintenir pendant deux heures environ à 20 °C en agitant fréquemment. Ajouter ensuite 40 ml d'éthanol (3.2) et une goutte d'émulsion antimousse (3.3). Distiller 150 ml environ et recueillir le distillat dans un ballon jaugé de 250 ml contenant 20 ml d'ammoniaque (3.4), en veillant à ce que l'extrémité du réfrigérant plonge dans le liquide. Ajouter à la solution ammoniacale 50 ml de solution de nitrate d'argent 0,1 N (3.5) (ou plus si nécessaire), surmonter le ballon jaugé d'un petit entonnoir et chauffer le mélange pendant une heure sur un bain d'eau bouillante. Laisser refroidir, compléter au volume avec de l'eau, agiter et filtrer. Prélever 100 ml du filtrat limpide, ajouter 5 ml d'acide nitrique (3.7) et 5 ml environ de solution de sulfate d'ammonium ferrique (3.8). Titrer en retour l'excès de nitrate d'argent par la solution de thiocyanate d'ammonium 0,1 N (3.6).

Effectuer *un essai à blanc* en appliquant le même mode opératoire à 2 g de moutarde blanche finement broyée, en l'absence d'échantillon à analyser.

### 6. Calcul des résultats

Soustraire le volume de solution de nitrate d'argent 0,1 N consommé dans l'essai à blanc de celui consommé par la solution de l'échantillon. La valeur obtenue donne le nombre de ml de solution de nitrate d'argent 0,1 N consommés par l'essence de moutarde de la prise d'échantillon. 1 ml de  $\text{AgNO}_3$  0,1 N correspond à 4,956 mg d'isothiocyanate d'allyle. Exprimer le résultat en pour cent de l'échantillon.

## 9. DOSAGE DU LACTOSE

### 1. Objet et domaine d'application

La méthode permet de déterminer la teneur en lactose des aliments qui en contiennent plus de 0,5 pour cent.

### 2. Principe

Les sucres sont dissous dans l'eau. La solution est soumise à la fermentation par la levure *Saccharomyces cerevisiae* qui laisse le lactose intact. Après défécation et filtration, la teneur en lactose du filtrat est déterminée par la méthode Luff-Schoorl.

### 3. Réactifs

3.1. Suspension de *Saccharomyces cerevisiae* : Mettre en suspension 25 g de levure fraîche dans 100 ml d'eau. La suspension se conserve une semaine au maximum en réfrigérateur.

3.2. Solution de Carrez I :

Dissoudre dans l'eau 24 g d'acétate de zinc  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2 H_2O$  et 3 g d'acide acétique glacial. Compléter à 100 ml avec de l'eau.

3.3. Solution de Carrez II : Dissoudre dans l'eau 10,6 g de ferrocyanure de potassium  $K_4[Fe(CN_6)] \cdot 3 H_2O$ . Compléter à 100 ml avec de l'eau.

3.4. Réactif selon Luff-Schoorl :

Verser, tout en agitant prudemment, la solution d'acide citrique (3.4.2) dans la solution de carbonate de sodium (3.4.3). Ajouter ensuite la solution de sulfate de cuivre (3.4.1) et compléter à 1 l avec de l'eau. Laisser reposer une nuit et filtrer. Contrôler la normalité du réactif ainsi obtenu (Cu 0,1 N ;  $Na_2CO_3$  2 N). Le pH de la solution doit être de 9,4 environ.

3.4.1. Solution de sulfate de cuivre : Dissoudre 25 g de sulfate de cuivre p.a.  $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$ , exempt de fer, dans 100 ml d'eau.

3.4.2. Solution d'acide citrique :

Dissoudre 50 g d'acide citrique p.a.  $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$  dans 50 ml d'eau.

3.4.3. Solution de carbonate de sodium : Dissoudre 143,8 g de carbonate de sodium anhydre p.a. dans 300 ml environ d'eau chaude. Laisser refroidir.

3.5. Granulés de pierre ponce bouillis dans l'acide chlorhydrique, lavés à l'eau et séchés.

3.6. Solution à 30 pour cent (p/v) d'iodure de potassium.

3.7. Acide sulfurique 6 N.

3.8. Solution de thiosulfate de sodium 0,1 N.

3.9. Solution d'amidon : Ajouter un mélange de 5 g d'amidon soluble dans 30 ml d'eau à 1 l d'eau bouillante. Faire bouillir durant trois minutes, laisser refroidir, ajouter éventuellement 10 mg d'iodure mercurique comme agent conservateur.

### 4. Appareillage

Bain d'eau muni d'un thermostat, réglé de 38 à 40 °C.

### 5. Mode opératoire

Peser, à 1 mg près, 1 g de l'échantillon et introduire cette prise d'essai dans un ballon jaugé de 100 ml. Ajouter 25 à 30 ml d'eau. Placer le ballon pendant trente minutes dans un bain d'eau bouillante et refroidir ensuite à 35 °C environ. Ajouter 5 ml de suspension de levure (3.1) et homogénéiser. Laisser reposer le ballon durant deux heures dans un bain d'eau, à la température de 38 à 40 °C. Refroidir ensuite jusqu'à 20 °C environ.

Ajouter 2,5 ml de solution de Carrez I (3.2) et agiter pendant trente secondes ; ajouter ensuite 2,5 ml de solution de Carrez II (3.3) et agiter à nouveau pendant trente secondes. Compléter à 100 ml avec de l'eau, mélanger et filtrer. Prélever à la pipette une quantité de filtrat n'excédant pas 25 ml et contenant de préférence 40 à 80 mg de lactose et introduire celle-ci dans un erlenmeyer de 300 ml. Si nécessaire, compléter à 25 ml avec de l'eau.

Procéder de la même façon à *un essai à blanc* avec 5 ml de suspension de levure (3.1).

Déterminer comme suit la teneur en lactose selon Luff-Schoorl. Ajouter 25 ml exactement du réactif selon Luff-Schoorl (3.4) et deux granulés de pierre ponce (3.5). Chauffer, en agitant à la main, sur une flamme libre de hauteur moyenne et porter le liquide à ébullition en deux minutes environ. Placer immédiatement l'erlenmeyer sur une toile métallique pourvue d'un écran d'amiante muni d'un trou de 6 cm environ de diamètre, sous laquelle on a préalablement allumé une flamme. Celle-ci est réglée de façon que seul le fond de l'erlenmeyer soit chauffé. Adapter ensuite un réfrigérant à reflux sur l'erlenmeyer. A partir de ce moment, faire bouillir pendant dix minutes exactement. Refroidir immédiatement dans l'eau froide et après cinq minutes environ, titrer comme suit :

Ajouter 10 ml de solution d'iodure de potassium (3.6) et, immédiatement après et avec prudence (en raison du risque de formation d'une mousse abondante), 25 ml d'acide sulfurique 6 N (3.7). Titrer ensuite avec la solution de thiosulfate de sodium 0,1 N (3.8) jusqu'à apparition d'une coloration jaune terne, ajouter l'indicateur à l'amidon (3.9) et achever la titration.

Effectuer la même titration sur un mélange exactement mesuré de 25 ml de réactif selon Luff-Schoorl (3.4) et 25 ml d'eau, après avoir ajouté 10 ml de solution d'iodure de potassium (3.6) et 25 ml d'acide sulfurique 6 N (3.7), sans porter à ébullition.

#### 6. Calcul des résultats

Établir à l'aide de la table annexée la quantité de lactose en mg correspondant à la différence entre les résultats des deux titrations, exprimés en ml de thiosulfate de sodium, 0,1 N.

Exprimer le résultat en parts de lactose anhydre pour cent de l'échantillon.

#### 7. Observation

Pour les produits contenant plus de 40 pour cent de sucres fermentescibles, utiliser plus de 5 ml de suspension de levure (3.1).

Table des valeurs pour 25 ml de réactif selon Luff-Schoorl

ml de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1 N, deux minutes de chauffage, dix minutes d'ébullition

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N	Glucose, fructose, sucres invertis $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$		Lactose $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$		Maltose $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$		$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N
	ml	mg	différence	mg	différence	mg	
1	2,4	2,4	3,6	3,7	3,9	3,9	1
2	4,8	2,4	7,3	3,7	7,8	3,9	2
3	7,2	2,5	11,0	3,7	11,7	3,9	3
4	9,7	2,5	14,7	3,7	15,6	4,0	4
5	12,2	2,5	18,4	3,7	19,6	3,9	5
6	14,7	2,5	22,1	3,7	23,5	4,0	6
7	17,2	2,6	25,8	3,7	27,5	4,0	7
8	19,8	2,6	29,5	3,7	31,5	4,0	8
9	22,4	2,6	33,2	3,8	35,5	4,0	9
10	25,0	2,6	37,0	3,8	39,5	4,0	10
11	27,6	2,7	40,8	3,8	43,5	4,0	11
12	30,3	2,7	44,6	3,8	47,5	4,1	12
13	33,0	2,7	48,4	3,8	51,6	4,1	13
14	35,7	2,8	52,2	3,8	55,7	4,1	14
15	38,5	2,8	56,0	3,9	59,8	4,1	15
16	41,3	2,9	59,9	3,9	63,9	4,1	16
17	44,2	2,9	63,8	3,9	68,0	4,2	17
18	47,1	2,9	67,7	4,0	72,2	4,3	18
19	50,0	3,0	71,7	4,0	76,5	4,4	19
20	53,0	3,0	75,7	4,1	80,9	4,5	20
21	56,0	3,1	79,8	4,1	85,4	4,6	21
22	59,1	3,1	83,9	4,1	90,0	4,6	22
23	62,2	3,1	88,0		94,6		23

## 10. DOSAGE DU POTASSIUM

1. **Objet et domaine d'application**

La méthode permet de déterminer la teneur en potassium des aliments des animaux.

2. **Principe**

L'échantillon est incinéré et les cendres sont mises en solution dans l'acide chlorhydrique. La teneur en potassium de la solution est déterminée par photométrie de flamme en présence de chlorure de césium et de nitrate d'aluminium. L'addition de ces substances élimine, dans une large mesure, l'interférence d'éléments perturbateurs.

3. **Réactifs**

- 3.1. Acide chlorhydrique p.a., d : 1,12.
- 3.2. Chlorure de césium, p.a.
- 3.3. Nitrate d'aluminium  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ , chimiquement pur.
- 3.4. Chlorure de potassium p.a., anhydre.
- 3.5. Solution tampon : dissoudre dans l'eau 50 g de chlorure de césium (3.2) et 250 g de nitrate d'aluminium (3.3), compléter à 1 l avec de l'eau et homogénéiser. Conserver en flacons de matière plastique.
- 3.6. Solution étalon de potassium : dissoudre dans l'eau 1,907 g de chlorure de potassium (3.4), en ajoutant 5 ml d'acide chlorhydrique (3.1), compléter à 1 l avec de l'eau et homogénéiser. Conserver en flacons de matière plastique. 1 ml de cette solution contient 1,00 mg de potassium.

4. **Appareillage**

- 4.1. Creusets à incinération en platine, quartz ou porcelaine, éventuellement munis de couvercles.
- 4.2. Four à moufle électrique, avec thermostat.
- 4.3. Photomètre de flamme.

5. **Mode opératoire**5.1. *Analyse de l'échantillon*

Peser, en règle générale, 10 g de l'échantillon, à 10 mg près, dans un creuset à incinération et incinérer la substance à 450 °C durant trois heures. Après refroidissement, transvaser quantitativement le résidu d'incinération à l'aide de 250 à 300 ml d'eau, puis de 50 ml d'acide chlorhydrique (3.1) dans un ballon jaugé de 500 ml. Après cessation du dégagement éventuel de gaz carbonique, chauffer la solution et la maintenir durant deux heures à une température voisine de 90 °C, en agitant de temps en temps. Laisser refroidir à la température ambiante, porter au trait de jauge avec de l'eau, agiter et filtrer. Introduire dans un ballon jaugé de 100 ml une partie aliquote du filtrat contenant au maximum 1,0 mg de potassium, ajouter 10,0 ml de solution tampon (3.5), porter au trait de jauge avec de l'eau et homogénéiser. En présence de plus fortes teneurs en potassium, diluer la solution à analyser dans des proportions adéquates, avant l'addition de la solution tampon. Le tableau ci-après est donné à titre indicatif pour une prise d'essai de 10 g environ.

Teneur présumée de l'échantillon en potassium (% K)	Facteur de dilution	Partie aliquote en ml de la solution
jusqu'à 0,1	—	50
0,1 à 0,5	—	10
0,5 à 1,0	—	5
1,0 à 5,0	1 : 10	10
5,0 à 10,0	1 : 10	5
10,0 à 20,0	1 : 20	5

Effectuer la mesure par photométrie de flamme à la longueur d'onde de 768 nm.

Calculer le résultat à l'aide de la courbe d'étalonnage.

### 5.2. Courbe d'étalonnage

Introduire 10 ml exactement de la solution étalon (3.6) dans un ballon jaugé de 250 ml, porter au trait de jauge avec de l'eau et homogénéiser. Introduire dans des ballons jaugés de 100 ml exactement 5, 10, 15, 20 et 25 ml de cette solution, correspondant respectivement à des quantités de potassium de 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 et 1,0 mg. Compléter la série par un ballon témoin exempt de solution étalon. Ajouter dans chaque ballon 10,0 ml de solution tampon (3.5), porter au trait de jauge avec de l'eau et homogénéiser. Effectuer les mesures comme indiqué en 5.1. Le tracé de la courbe d'étalonnage est en général linéaire jusqu'à une concentration en potassium de 1 mg dans 100 ml de solution.

### 6. Calcul des résultats

Exprimer le résultat en pour cent de l'échantillon.

### 7. Observation

L'adjonction de solution tampon (3.5) pour éliminer l'interférence d'éléments perturbateurs n'est pas toujours nécessaire.

---

## 11. DOSAGE DU SODIUM

### 1. Objet et domaine d'application

La méthode permet de déterminer la teneur en sodium des aliments des animaux.

### 2. Principe

L'échantillon est incinéré et les cendres sont mises en solution dans l'acide chlorhydrique. La teneur en sodium de la solution est déterminée par photométrie de flamme en présence de chlorure de césium et de nitrate d'aluminium. L'addition de ces substances élimine, dans une large mesure, l'interférence d'éléments perturbateurs.

### 3. Réactifs

- 3.1. Acide chlorhydrique p.a., d : 1,12
- 3.2. Chlorure de césium, p.a.
- 3.3. Nitrate d'aluminium  $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ , chimiquement pur
- 3.4. Chlorure de sodium p.a., anhydre
- 3.5. Solution tampon : dissoudre dans l'eau 50 g de chlorure de césium (3.2) et 250 g de nitrate d'aluminium (3.3), compléter à 1 l avec de l'eau et homogénéiser. Conserver en flacons de matière plastique.
- 3.6. Solution étalon de sodium: dissoudre dans l'eau 2,542 g de chlorure de sodium (3.4) en ajoutant 5 ml d'acide chlorhydrique (3.1), compléter à 1 l avec de l'eau et homogénéiser. Conserver en flacons de matière plastique. 1 ml de cette solution contient 1,00 mg de sodium.

### 4. Appareillage

- 4.1. Creusets à incinération en platine, quartz ou porcelaine, éventuellement munis de couvercles.
- 4.2. Four à moufle électrique, avec thermostat.
- 4.3. Photomètre de flamme.

### 5. Mode opératoire

#### 5.1. Analyse de l'échantillon

Peser, en règle générale, 10 g de l'échantillon à 10 mg près dans un creuset à incinération et incinérer la substance à 450 °C durant trois heures. Éviter la surchauffe (inflammation). Après refroidissement, transvaser quantitativement le résidu d'incinération à l'aide de 250 à 300 ml d'eau, puis de 50 ml d'acide



chlorhydrique (3.1) dans un ballon jaugé de 500 ml. Après cessation du dégagement éventuel de gaz carbonique, chauffer la solution et la maintenir durant deux heures à une température voisine de 90 °C, en agitant de temps en temps. Laisser refroidir à la température ambiante, porter au trait de jauge avec de l'eau, agiter et filtrer. Introduire dans un ballon jaugé de 100 ml une partie aliquote du filtrat contenant au maximum 1,0 mg de sodium, ajouter 10,0 ml de solution tampon (3.5), porter au trait de jauge avec de l'eau et homogénéiser. En présence de plus fortes teneurs en sodium, diluer la solution à analyser dans des proportions adéquates, avant l'addition de la solution tampon. Le tableau ci-après est donné à titre indicatif pour une prise d'essai de 10 g environ.

Teneur présumée de l'échantillon en sodium (% Na)	Facteur de dilution	Partie aliquote en ml de la solution
jusqu'à 0,1	—	50
0,1 à 0,5	—	10
0,5 à 1,0	—	5
1,0 à 5,0	1 : 10	10
5,0 à 10,0	1 : 10	5
10,0 à 20,0	1 : 20	5

Effectuer la mesure par photométrie de flamme à la longueur d'onde de 589 nm.

Calculer le résultat à l'aide de la courbe d'étalonnage.

#### 5.2. Courbe d'étalonnage

Introduire 10 ml exactement de la solution étalon (3.6) dans un ballon jaugé de 250 ml, porter au trait de jauge avec de l'eau et homogénéiser. Introduire dans des ballons jaugés de 100 ml exactement 5, 10, 15, 20 et 25 ml de cette solution, correspondant respectivement à des quantités de sodium de 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 et 1,0 mg. Compléter la série par un ballon témoin exempt de solution étalon. Ajouter dans chaque ballon 10,0 ml de solution tampon (3.5), porter au trait de jauge avec de l'eau et homogénéiser. Effectuer les mesures comme indiqué en 5.1. Le tracé de la courbe d'étalonnage est en général linéaire jusqu'à une concentration en sodium de 1 mg dans 100 ml de solution.

### 6. Calcul des résultats

Exprimer le résultat en pour cent de l'échantillon.

### 7. Observations

- 7.1. Pour les produits dont la teneur en sodium est supérieure à 4 pour cent, il est préférable d'incinérer la substance durant deux heures dans un creuset muni d'un couvercle. Après refroidissement, ajouter de l'eau, mettre le résidu en suspension à l'aide d'un fil de platine, sécher et incinérer à nouveau durant deux heures dans le creuset muni de son couvercle.
- 7.2. Si l'échantillon est constitué uniquement de matières minérales, procéder à la dissolution, sans incinération préalable.

## 12. DOSAGE DES SUCRES

### 1. Objet et domaine d'application

La méthode permet de doser les sucres réducteurs et les sucres totaux après inversion, exprimés en glucose ou, le cas échéant, en saccharose, par conversion à l'aide du facteur 0,95. Elle est applicable aux aliments composés. Des modalités particulières sont prévues pour d'autres aliments. Le cas échéant, il y a lieu de doser séparément le lactose et d'en tenir compte dans le calcul des résultats.

## 2. Principe

Les sucres sont dissous dans l'éthanol dilué ; la solution est déféquée au moyen des réactifs de Carrez I et II. Après élimination de l'éthanol, les dosages sont effectués avant et après inversion, selon la méthode de Luff-Schoorl.

## 3. Réactifs

- 3.1. Éthanol à 40 pour cent (v/v), d : 0,948 à 20 °C, amené au point de virage de la phénolphtaléine.
- 3.2. Solution de Carrez I :  
Dissoudre dans l'eau 24 g d'acétate de zinc  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$  et 3 g d'acide acétique glacial. Compléter à 100 ml avec de l'eau.  
2  $H_2O$  et 3 g d'acide acétique glacial. Compléter à 100 ml avec de l'eau.
- 3.3. Solution de Carrez II : Dissoudre dans l'eau 10,6 g de ferrocyanure de potassium  $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ . Compléter à 100 ml avec de l'eau.
- 3.4. Solution à 0,1 pour cent (p/v) de méthylorange.
- 3.5. Acide chlorhydrique 4 N.
- 3.6. Acide chlorhydrique 0,1 N.
- 3.7. Solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N.
- 3.8. Réactif selon Luff-Schoorl :  
Verser, tout en agitant prudemment, la solution d'acide citrique (3.8.2) dans la solution de carbonate de sodium (3.8.3). Ajouter ensuite la solution de sulfate de cuivre (3.8.1) et compléter à 1 l avec de l'eau. Laisser reposer une nuit et filtrer. Contrôler la normalité du réactif ainsi obtenu (Cu 0,1 N ;  $Na_2CO_3$  2 N). Le pH de la solution doit être de 9,4 environ.
  - 3.8.1. Solution de sulfate de cuivre : dissoudre 25 g de sulfate de cuivre p.a.,  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ , exempt de fer, dans 100 ml d'eau.
  - 3.8.2. Solution d'acide citrique : dissoudre 50 g d'acide citrique p.a.,  $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ , dans 50 ml d'eau.
  - 3.8.3. Solution de carbonate de sodium : dissoudre 143,8 g de carbonate de sodium anhydre p.a. dans 300 ml environ d'eau chaude. Laisser refroidir.
- 3.9. Solution de thiosulfate de sodium 0,1 N.
- 3.10. Solution d'amidon : Ajouter un mélange de 5 g d'amidon soluble dans 30 ml d'eau à 1 l d'eau bouillante. Faire bouillir durant trois minutes, laisser refroidir, ajouter éventuellement 10 mg d'iodure mercurique comme agent conservateur.
- 3.11. Acide sulfurique 6 N.
- 3.12. Solution à 30 pour cent (p/v) d'iodure de potassium.
- 3.13. Granulés de pierre ponce bouillis dans l'acide chlorhydrique, lavés à l'eau et séchés.
- 3.14. Isopentanol.

## 4. Appareillage

Mélangeur (culbuteur) : environ 35 à 40 retournements par minute.

## 5. Mode opératoire

### 5.1. Mise en solution

Peser, à 1 mg près, 2,5 g de l'échantillon, et les introduire dans un ballon jaugé de 250 ml. Ajouter 200 ml d'éthanol (3.1) et mélanger pendant une heure dans le culbuteur. Ajouter 5 ml de solution de Carrez I (3.2) et agiter pendant une minute. Ajouter ensuite 5 ml de solution de Carrez II (3.3) et agiter à nouveau pendant une minute. Porter au volume avec de l'éthanol (3.1), homogénéiser et filtrer. Prélever 200 ml du filtrat et évaporer environ la moitié du volume, afin d'éliminer la majeure partie de l'éthanol. Transvaser quantitativement le résidu d'évaporation, à l'aide d'eau chaude, dans un ballon jaugé de 200 ml, refroidir, porter au volume avec de l'eau, homogénéiser et filtrer, si nécessaire. Cette solution sera utilisée pour le dosage des sucres réducteurs et, après inversion, pour le dosage des sucres totaux.

### 5.2. *Dosage des sucres réducteurs*

Prélever à la pipette une quantité de solution n'excédant pas 25 ml et contenant moins de 60 mg de sucres réducteurs, exprimés en glucose. Si nécessaire, compléter à 25 ml avec de l'eau distillée et déterminer la teneur en sucres réducteurs selon Luff-Schoorl. Le résultat est exprimé en glucose pour cent.

### 5.3. *Dosage des sucres totaux après inversion*

Prélever à la pipette 50 ml de solution et les porter dans un ballon jaugé de 100 ml. Ajouter quelques gouttes de solution de méthylorange (3.4) puis, prudemment et tout en agitant, de l'acide chlorhydrique 4 N (3.5) jusqu'à virage net au rouge. Ajouter 15 ml d'acide chlorhydrique 0,1 N (3.6), plonger la ballon dans un bain d'eau à forte ébullition et l'y maintenir durant trente minutes. Refroidir rapidement à 20 °C environ et ajouter 15 ml de solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N (3.7). Compléter à 100 ml avec de l'eau et homogénéiser. Prélever une quantité n'excédant pas 25 ml et contenant moins de 60 mg de sucres réducteurs, exprimés en glucose. Si nécessaire, compléter à 25 ml avec de l'eau distillée et déterminer la teneur en sucres réducteurs selon Luff-Schoorl. Le résultat est exprimé en glucose pour cent ou, le cas échéant, en saccharose, en multipliant par le facteur 0,95.

### 5.4. *Titration selon Luff-Schoorl*

Prélever à la pipette 25 ml du réactif selon Luff-Schoorl (3.8) et les porter dans un erlenmeyer de 300 ml ; ajouter 25 ml, exactement mesurés, de la solution déféquée de sucres. Ajouter deux granulés de pierre ponce (3.13), chauffer, en agitant à la main, sur une flamme libre de hauteur moyenne et porter le liquide à ébullition en deux minutes environ. Placer immédiatement l'erlenmeyer sur une toile métallique pourvue d'un écran d'amiante muni d'un trou de 6 cm environ de diamètre, sous laquelle on a préalablement allumé une flamme. Celle-ci est réglée de façon que seul le fond de l'erlenmeyer soit chauffé. Adapter ensuite un réfrigérant à reflux sur l'erlenmeyer. A partir de ce moment, faire bouillir pendant dix minutes exactement. Refroidir immédiatement dans l'eau froide et après cinq minutes environ, titrer comme suit :

Ajouter 10 ml de solution d'iodure de potassium (3.12) et, immédiatement après et avec prudence (en raison du risque de formation d'une mousse abondante), 25 ml d'acide sulfurique 6 N (3.11). Titrer ensuite par la solution de thiosulfate de sodium 0,1 N (3.9) jusqu'à apparition d'une coloration jaune terne, ajouter l'indicateur à l'amidon (3.10) et achever la titration.

Effectuer la même titration sur un mélange exactement mesuré de 25 ml de réactif selon Luff-Schoorl (3.8) et 25 ml d'eau, après avoir ajouté 10 ml de solution d'iodure de potassium (3.12) et 25 ml d'acide sulfurique 6 N (3.11), sans porter à ébullition.

## 6. **Calcul des résultats**

Établir à l'aide de la table la quantité de glucose en mg correspondant à la différence entre les valeurs des deux titrations, exprimées en ml de thiosulfate de sodium 0,1 N.

Exprimer le résultat en pour cent de l'échantillon.

## 7. **Modes opératoires particuliers**

7.1. Pour les aliments très riches en mélasse et d'autres aliments peu homogènes, peser 20 g et les introduire dans un ballon jaugé de 1 l avec 500 ml d'eau. Mélanger pendant une heure dans le culbuteur. Déféquer au moyen des réactifs de Carrez I (3.2) et II (3.3) comme décrit en 5.1 en utilisant, toutefois, une quantité 4 fois plus élevée de chaque réactif. Porter au volume avec de l'éthanol à 80 pour cent (v/v).

Homogénéiser et filtrer. Éliminer l'éthanol comme décrit en 5.1. En l'absence d'amidon dextrinisé, porter au volume avec de l'eau distillée.

7.2. Pour les mélasses et les aliments simples, riches en sucres et pratiquement exempts d'amidon (caroubes, cossettes séchées de betteraves, etc.) peser 5 g, les introduire dans un ballon jaugé de 250 ml, ajouter 200 ml d'eau distillée et mélanger pendant une heure ou plus, si nécessaire, dans le culbuteur. Déféquer ensuite au moyen des réactifs de Carrez I (3.2) et II (3.3), comme décrit en 5.1. Porter au volume avec de l'eau, homogénéiser et filtrer. Pour doser les sucres totaux, poursuivre comme décrit en 5.3.

## 8. Observations

- 8.1. Il est recommandé d'ajouter environ 1 ml d'isopentanol (3.14) (sans tenir compte du volume), avant l'ébullition avec le réactif de Luff-Schoorl, afin d'éviter la formation de mousse.
- 8.2. La différence entre la teneur en sucres totaux après inversion, exprimés en glucose, et la teneur en sucres réducteurs, exprimés en glucose, multipliée par 0,95, donne la teneur en saccharose pour cent.
- 8.3. Pour déterminer la teneur en sucres réducteurs, à l'exclusion du lactose, deux voies peuvent être adoptées :
- 8.3.1. Pour un calcul approximatif, on multiplie par 0,675 la teneur en lactose établie par un dosage séparé et on retranche le résultat obtenu de la teneur en sucres réducteurs.
- 8.3.2. Pour un calcul précis des sucres réducteurs, à l'exclusion du lactose, il est nécessaire de partir de la même prise d'essai pour les deux déterminations finales. L'une des analyses est effectuée sur une partie de la solution obtenue en 5.1, l'autre sur une partie de la solution obtenue lors du dosage du lactose selon la méthode prévue à cet effet (après fermentation des autres espèces de sucres et défécation).

Dans les deux cas, la quantité de sucre présente est déterminée selon la méthode de Luff-Schoorl et calculée en mg de glucose. Les deux valeurs sont retranchées l'une de l'autre et la différence est exprimée en pour cent de l'échantillon.

*Exemple*

Les deux volumes prélevés correspondent, pour chaque dosage, à une prise d'essai de 250 mg.

Dans le premier cas, on consomme 17 ml de solution de thiosulfate de sodium 0,1 N, ce qui correspond à 44,2 mg de glucose, dans le deuxième cas 11 ml, ce qui correspond à 27,6 mg de glucose.

La différence s'élève à 16,6 mg de glucose.

La teneur en sucres réducteurs (lactose excepté), calculée en glucose est donc de :

$$\frac{4 \times 16,6}{10} = 6,64 \text{ pour cent}$$

**Table des valeurs pour 25 ml de réactif selon Luff-Schoorl**

ml de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0,1 N, deux minutes de chauffage, dix minutes d'ébullition

Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 0,1 N	Glucose, fructose, sucres invertis C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>		Lactose C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>		Maltose C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>		Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 0,1 N
	ml	mg	différence	mg	différence	mg	
1	2,4	2,4	3,6	3,7	3,9	3,9	1
2	4,8	2,4	7,3	3,7	7,8	3,9	2
3	7,2	2,5	11,0	3,7	11,7	3,9	3
4	9,7	2,5	14,7	3,7	15,6	4,0	4
5	12,2	2,5	18,4	3,7	19,6	3,9	5
6	14,7	2,5	22,1	3,7	23,5	4,0	6
7	17,2	2,6	25,8	3,7	27,5	4,0	7
8	19,8	2,6	29,5	3,7	31,5	4,0	8
9	22,4	2,6	33,2	3,8	35,5	4,0	9
10	25,0	2,6	37,0	3,8	39,5	4,0	10
11	27,6	2,7	40,8	3,8	43,5	4,0	11
12	30,3	2,7	44,6	3,8	47,5	4,1	12
13	33,0	2,7	48,4	3,8	51,6	4,1	13
14	35,7	2,8	52,2	3,8	55,7	4,1	14
15	38,5	2,8	56,0	3,9	59,8	4,1	15
16	41,3	2,9	59,9	3,9	63,9	4,1	16
17	44,2	2,9	63,8	3,9	68,0	4,2	17
18	47,1	2,9	67,7	4,0	72,2	4,3	18
19	50,0	3,0	71,7	4,0	76,5	4,4	19
20	53,0	3,0	75,7	4,1	80,9	4,5	20
21	56,0	3,1	79,8	4,1	85,4	4,6	21
22	59,1	3,1	83,9	4,1	90,0	4,6	22
23	62,2		88,0		94,6		23

### 13. DOSAGE DE LA THÉOBROMINE

#### 1. Objet et domaine d'application

La méthode permet de déterminer la teneur en théobromine des sous-produits de transformation des fèves de cacao.

#### 2. Principe

La théobromine est extraite par le chloroforme. L'extrait est évaporé à sec, mis en solution dans l'eau et traité par un volume déterminé de solution de nitrate d'argent.

L'acide nitrique libéré est titré par une solution d'hydroxyde de sodium.

#### 3. Réactifs

3.1. Chloroforme p.a.

3.2. Ammoniaque,  $d : 0,958$ .

3.3. Sulfate de sodium p.a., anhydre.

3.4. Solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N.

3.5. Solution de nitrate d'argent 0,1 N.

3.6. Solution éthanolique à 1 pour cent (p/v) de rouge de phénol.

3.7. Éther diéthylique.

#### 4. Appareillage

Ballons de 500 ml à fond plat et bouchon rodé.

#### 5. Mode opératoire

Peser, à 1 mg près, une prise d'essai de 10 g au maximum, ne contenant pas plus de 80 mg de théobromine. Introduire la prise dans un ballon de 500 ml à fond plat et bouchon rodé, ajouter 270 ml de chloroforme (3.1) et 10 ml d'ammoniaque (3.2). Boucher le ballon et agiter énergiquement durant cinq minutes. Ajouter ensuite 12 g de sulfate de sodium anhydre (3.3), agiter à nouveau et laisser reposer jusqu'au lendemain. Filtrer dans un erlenmeyer de 500 ml et laver le résidu avec 100 ml de chloroforme (3.1). Distiller le solvant et en éliminer les dernières traces sur un bain d'eau bouillante. Reprendre l'extrait par 50 ml d'eau et porter à ébullition.

Refroidir, neutraliser exactement par la solution d'hydroxyde de sodium (3.4) en présence de 0,5 ml de solution de rouge de phénol (3.6). Ajouter ensuite 20 ml de solution de nitrate d'argent (3.5). Titrer l'acide nitrique libéré par la solution d'hydroxyde de sodium (3.4) jusqu'à virage de l'indicateur (pH 7,4).

#### 6. Calcul des résultats

1 ml de NaOH 0,1 N correspond à 18 mg de théobromine.

Exprimer le résultat en pour cent de l'échantillon.

#### 7. Observation

Les produits dont la teneur en matières grasses brutes dépasse 8 pour cent doivent être préalablement dégraissés par extraction durant six heures par l'éther de pétrole (Éb. 40 °C).

## 14. DOSAGE DE L'URÉE

### 1. Objet et domaine d'application

La méthode permet de déterminer la teneur en urée des aliments des animaux.

### 2. Principe

L'échantillon est mis en suspension dans l'eau en présence d'un défécant. La suspension est filtrée. La teneur en urée du filtrat est déterminée, après addition de 4-diméthylaminobenzaldéhyde (4-DMAB), par mesure de la densité optique à la longueur d'onde de 420 nm.

### 3. Réactifs

- 3.1. Solution de 4-diméthylaminobenzaldéhyde : dissoudre 1,6 g de 4-DMAB p.a. dans 100 ml d'éthanol à 96 pour cent et ajouter 10 ml d'acide chlorhydrique p.a. (D : 1,19). Ce réactif se conserve au maximum deux semaines.
- 3.2. Solution de Carrez I : dissoudre dans l'eau 24 g d'acétate de zinc,  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$  et 3 g d'acide acétique glacial. Compléter à 100 ml avec de l'eau.
- 3.3. Solution de Carrez II : dissoudre dans l'eau 10,6 g de ferrocyanure de potassium,  $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ . Compléter à 100 ml avec de l'eau.
- 3.4. Charbon actif p.a., n'adsorbant pas l'urée (à contrôler).
- 3.5. Solution à 0,1 pour cent (p/v) d'urée p.a.

### 4. Appareillage

- 4.1. Mélangeur (culbuteur) : environ 35 à 40 retournements par minute.
- 4.2. Tubes à essai : 160 × 16 mm, à bouchons rodés.
- 4.3. Spectrophotomètre.

### 5. Mode opératoire

#### 5.1. Analyse de l'échantillon

Peser, à 1 mg près, 2 g de l'échantillon et les introduire avec 1 g de charbon actif (3.4) dans un flacon jaugé de 500 ml. Ajouter 400 ml d'eau et 5 ml des solutions de Carrez I (3.2) et II (3.3). Mélanger durant trente minutes dans le culbuteur. Compléter au volume avec de l'eau, agiter et filtrer.

Prélever 5 ml des filtrats limpides et incolores, les introduire dans les tubes à essai à bouchon rodé, ajouter 5 ml de solution de 4-DMAB (3.1) et mélanger. Placer les tubes dans un bain d'eau à 20 °C. Après quinze minutes, mesurer la densité optique de la solution de l'échantillon au spectrophotomètre à 420 nm par comparaison avec la solution de l'essai à blanc des réactifs.

#### 5.2. Courbe d'étalonnage

Prélever des volumes de 1, 2, 4, 5 et 10 ml de la solution d'urée (3.5), les introduire dans des ballons jaugés de 100 ml et compléter au volume avec de l'eau. Prélever 5 ml de chaque solution, y ajouter respectivement 5 ml de solution de 4-DMAB (3.1), homogénéiser et mesurer la densité optique comme indiqué plus haut par comparaison avec une solution témoin contenant 5 ml de 4-DMAB et 5 ml d'eau, exempte d'urée. Tracer la courbe d'étalonnage.

### 6. Calcul des résultats

Déterminer la quantité d'urée de la prise d'essai en se référant à la courbe d'étalonnage.

Exprimer le résultat en pour cent de l'échantillon.

## 7. Observations

- 7.1. Pour les teneurs en urée supérieures à 3 pour cent, réduire la prise d'essai à 1 g ou diluer la solution initiale pour ne pas avoir plus de 50 mg d'urée dans 500 ml.
- 7.2. Pour les faibles teneurs en urée, augmenter la prise d'essai pour autant que le filtrat reste limpide et incolore.
- 7.3. Si l'échantillon contient des composés azotés simples, tels que les acides aminés, il est indiqué d'effectuer la mesure de la densité optique à 435 nm.

---

## 15. DOSAGE DES ALCALOÏDES DES LUPINS

### 1. Objet et domaine d'application

La méthode permet de déterminer la teneur en alcaloïdes des graines de lupins.

### 2. Principe

Les alcaloïdes sont mis en solution dans un mélange d'éther diéthylique et de chloroforme et extraits par l'acide chlorhydrique. Les alcaloïdes sont précipités par l'acide silico-tungstique, le précipité est incinéré et le résidu est pesé.

### 3. Réactifs

- 3.1. Éther diéthylique.
- 3.2. Chloroforme.
- 3.3. Solution d'hydroxyde de sodium 4 N.
- 3.4. Acide chlorhydrique 0,3 N.
- 3.5. Chlorure de sodium p.a.
- 3.6. Solution à 10 pour cent (p/v) d'acide silico-tungstique  $\text{Si O}_2 \cdot 12 \text{ WO}_3 \cdot 26 \text{ H}_2\text{O}$ .

### 4. Appareillage

- 4.1. Agitateur mécanique.
- 4.2. Creusets à incinération en platine, quartz ou porcelaine.
- 4.3. Four à moufle électrique.

### 5. Mode opératoire

Peser, à 5 mg près, 15 g de l'échantillon et les introduire dans un récipient de 200 ml environ, muni d'un bouchon rodé (par ex. ampoule à décanter). Ajouter 100 ml d'éther diéthylique (3.1) et 50 ml de chloroforme (3.2) exactement mesurés et, ensuite, à l'aide d'une burette graduée, 10 ml de solution d'hydroxyde de sodium (3.3). Agiter vigoureusement pour éviter la formation d'agglomérats. Secouer encore à plusieurs reprises et laisser reposer jusqu'au lendemain. Si le liquide surnageant n'est pas tout à fait limpide, ajouter quelques gouttes d'eau. Filtrer la couche d'éther-chloroforme. Recueillir 50 ml de filtrat dans un ballon jaugé de 50 ml et les transvaser quantitativement à l'aide de 50 ml d'éther diéthylique (3.1) dans une ampoule à décanter de 150 ml. Extraire 3 fois successivement par 20 ml d'acide chlorhydrique (3.4), laisser décanter et recueillir l'extrait acide après chaque extraction. Rassembler les extraits acides dans un bécher de 250 ml et en éliminer les dernières traces d'éther et de chloroforme en chauffant légèrement. Ajouter 1 g environ de chlorure de sodium (3.5), laisser refroidir et précipiter les alcaloïdes par la solution d'acide silico-tungstique (3.6). Agiter mécaniquement durant trente minutes.

Laisser reposer durant une nuit, filtrer sur filtre sans cendres et laver le précipité successivement par 2 fois 10 ml et 2 fois 5 ml d'acide chlorhydrique (3.4).

Placer le filtre contenant le précipité dans un creuset à incinération et incinérer à 900 °C. Laisser refroidir et peser.

#### 6. Calcul des résultats

La teneur en alcaloïdes de la prise d'essai s'obtient en multipliant le poids des cendres par le facteur 0,2.

Exprimer le résultat en pour cent de l'échantillon.

### 16. DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ URÉASIQUE DE PRODUITS DÉRIVÉS DU SOJA

#### 1. Objet et domaine d'application

L'épreuve permet de déterminer l'activité de l'uréase des produits dérivés du soja et de mettre en évidence une cuisson insuffisante de ces produits.

#### 2. Principe

L'activité uréasique est déterminée par la quantité d'azote ammoniacal libérée par 1 g de produit en une minute, à 30 °C, à partir d'une solution d'urée.

#### 3. Réactifs

3.1. Acide chlorhydrique 0,1 N.

3.2. Solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N.

3.3. Solution tampon de phosphates 0,05 M contenant dans 1 000 ml, 4,45 g de phosphate disodique ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) et 3,40 g de phosphate monopotassique ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ).

3.4. Solution tamponnée d'urée, fraîchement préparée, contenant 30,0 g d'urée par 1 000 ml de solution tampon (3.3) ; pH 6,9 — 7,0.

#### 4. Appareillage

4.1. Appareil à titration potentiométrique ou pH-mètre très sensible (0,02 pH), avec agitateur magnétique.

4.2. Bain d'eau muni d'un thermostat, réglé à 30 °C exactement.

4.3. Tubes à essai : 150 × 18 mm, à bouchons rodés.

#### 5. Mode opératoire

Broyer (dans un moulin à café, par exemple) 10 g environ de l'échantillon de façon qu'il passe à travers un tamis à mailles de 0,2 mm. Dans un tube à essai à bouchon rodé, peser à 1 mg près, 0,2 g de l'échantillon broyé et ajouter 10 ml de solution tamponnée d'urée (3.4). Boucher immédiatement et agiter vigoureusement. Porter le tube dans le bain d'eau réglé à 30 °C exactement et l'y laisser trente minutes exactement. Immédiatement après, ajouter 10 ml d'acide chlorhydrique 0,1 N (3.1), refroidir rapidement à 20 °C et transvaser



quantitativement le contenu du tube dans un récipient à titration, en rinçant à deux reprises par 5 ml d'eau. Titrer immédiatement et rapidement au moyen de la solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N (3.2) par électrométrie à l'aide d'une électrode de verre, jusqu'à pH 4,7.

Effectuer *un essai à blanc*, en opérant comme suit.

Introduire rapidement et successivement dans un tube à essai à bouchon rodé une prise d'essai de 0,2 g, pesée à 1 mg près, 10 ml d'acide chlorhydrique 0,1 N (3.1) et 10 ml de solution tamponnée d'urée (3.4). Refroidir immédiatement le tube dans de l'eau glacée et l'y laisser trente minutes. Transvaser ensuite, dans les conditions indiquées ci-dessus, le contenu du tube dans le récipient à titration au moyen de la solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N (3.2) jusqu'à pH 4,7.

#### 6. Calcul des résultats

L'activité uréasique est donnée par la formule :

$$\frac{\text{mg N}}{\text{g min.}} \text{ à } 30 \text{ }^\circ\text{C} = \frac{1,4 (b - a)}{30 \cdot E}$$

dans laquelle, a = ml de solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N consommés par la prise d'essai

b = ml de solution d'hydroxyde de sodium 0,1 N consommés par l'essai à blanc

E = prise d'essai en g.

#### 7. Observations

7.1. La méthode convient pour une activité uréasique pouvant atteindre 1 mg de N/g min. à 30 °C. Pour des produits plus actifs, la prise d'essai peut être réduite jusqu'à 50 mg.

7.2. Les produits dont la teneur en matières grasses brutes dépasse 10 pour cent doivent être préalablement dégraissés à froid.