Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 81 (1990)

Heft: 5

Artikel: Dosage de la teneur en azote selon Kjeldahl de produits laitiers et de certaines de leurs fractions azotées à l'aide d'un système automatisé = Determination of the nitrogen content according to Kjeldahl in milk products and in some af their nitrogen con...

Autor: Collomb, M. / Spahni, M. / Steiger, G.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982623

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 15.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Trav. chim. aliment. hyg. **81**, 499–509 (1990)
Présenté le 15 mai 1990. Accepté le 1er juillet 1990

Dosage de la teneur en azote selon Kjeldahl de produits laitiers et de certaines de leurs fractions azotées à l'aide d'un système automatisé

Determination of the Nitrogen Content According to Kjeldahl in Milk Products and in some of their Nitrogen Containing Fractions with an Automated System

M. Collomb, M. Spahni et *G. Steiger*
Station fédérale de recherches laitières (FAM), Liebefeld-Berne

Introduction

Depuis sa publication en 1883 (1), la méthode de minéralisation par voie humide dite selon «Kjeldahl» a fait l'objet de plus d'un millier de publications. Aujourd'hui encore, elle est considérée comme méthode de référence (2–4). Pour la plupart des produits laitiers, elle est utilisée en routine dans de nombreux laboratoires.

Le présent travail propose d'une part certaines améliorations d'un équipement actuellement disponible sur le marché, notamment l'introduction d'un système de refroidissement des blocs de digestion et d'autre part l'optimisation des paramètres de la minéralisation (température, durée, type de catalyseurs (5)).

Partie expérimentale

Appareillage

Equipement disponible dans le commerce

Blocs de minéralisation à 20 trous avec système mobile pour l'aspiration des vapeurs, type Kjeldatherm (Gerhardt GmbH, Borenheimstr. 100, D-5300 Bonn 1).
Dispositif d'absorption de l'anhydride sulfurique, type Turbosog (Gerhardt).
Dispositif de réglage de la température des blocs de minéralisation, type Kjeldastat 2 Lift (Gerhardt).
Appareil de distillation muni d'un carrousel pour 20 tubes et d'un microprocesseur incorporé permettant l'enregistrement de 11 séries de 20 échantillons, type Vapodest (Gerhardt).

Balance analytique permettant le transfert automatique des pesées dans le microprocesseur de l'appareil de distillation, type Sartorius R 300 S (Instrumenten-Gesellschaft, Zürich).
PC raccordé au microprocesseur, à l'appareil de distillation et au système TED des laboratoires, type Dasher 286 (Data General).
Homogénéisateur, type Ultra-Turrax TP 10–18 (M. L. Blunschi, Bâle).

Equipement propre (développé à la FAM)

En raison de l'inertie thermique du bloc de minéralisation, il faut environ 2 heures pour le refroidir de 370 à 200 °C. Le système de refroidissement à air proposé dans le présent travail permet de ramener ce temps à env. 15 min (fig. 1a et 1b).

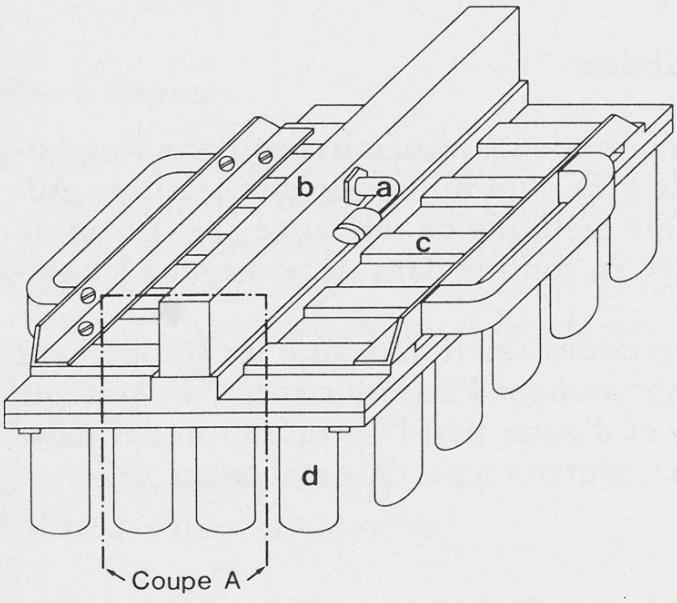

Fig. 1a. Schéma général du bloc de refroidissement

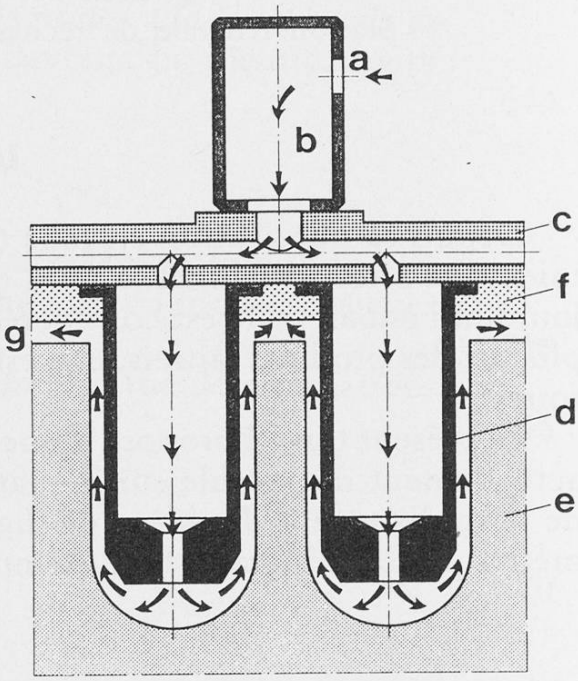

Fig. 1b. Schéma de fonctionnement du bloc de refroidissement (selon coupe A de la fig. 1a.)

Légende: a) entrée d'air
b) canal d'admission
c) plaques de distribution formées de 5 canaux
d) cylindres de refroidissement (20)
e) bloc de minéralisation
f) support
g) sortie d'air

Les cotes et détails d'exécution du bloc proposé peuvent être obtenus auprès des auteurs.

L'air comprimé introduit dans le canal principal d'admission est réparti par une plaque de distribution formée de 5 canaux. Chacun d'eux alimente à son tour 4 cylindres de refroidissement permettant ainsi de refroidir très rapidement l'ensemble du bloc de minéralisation (à 20 trous) (cf. tableau 1).

Tableau 1. Caractéristiques techniques du bloc de refroidissement proposé

Flux d'air maximal à 10 bar: 15 m^3/min
Temps de refroidissement de 400 °C à 200 °C à flux d'air maximal et à une température de 20 °C: 11 min (18,2 °C/min)
Niveau sonore à 1 m de distance: 68 dB
Espace libre entre les parois des trous du bloc de minéralisation et les cylindres de refroidissement: 2 mm
Espace libre entre le niveau supérieur du bloc de minéralisation et le bloc de refroidissement: 6 mm
Nombre de cylindres de refroidissement: 20
Poids: 5,2 kg
Matériau: anticorodal

Réactifs

Tableau 2. Réactifs

Réactifs utilisés	Pureté	Fournisseur	No. art.	Utilisation
Acide phosphotungstique	p. A.	Merck	583	Réactif de défécation
Acide trichloracétique	p. A.	Merck	807	Réactif de défécation
Acide acétique	p. A.	Merck	63	Réactif de défécation
Acétate de sodium	p. A.	Merck	6 267	Réactif de défécation
Phénacétine	Ph. Helv. VII	Siegfried	197 500	Standard de minéralisation
Tryptophane	à buts biochim.	Merck	8 375	Standard de minéralisation
Acide sulfurique 98%	pour la dét. de l'azote	Merck	748	Réactif de minéralisation
Acide phosphorique 85%	p. A.	Merck	573	Réactif de minéralisation
Perhydrol 30%	p. A.	Merck	7 210	Réactif de minéralisation
Tween 85	–	Fluka	93 783	Antimoussant
Kjeltabs S 3,5	–	Instr. Ges.	2 042	Tablettes de catalyseur à 3,5 mg de Se et 3,5 g de K_2SO_4
Kjeltabs CX	–	Digitana	6 123	Tablettes de catalyseur à 0,5 g de $CuSO_4$ et 5 g de K_2SO_4

Choix et traitement des échantillons

Les échantillons utilisés pour ce travail sont des laits, des fromages, des crèmes et des produits laitiers acidifiés provenant du commerce de détail.

Les échantillons de lait et de crème sont chauffés à 40 °C, agités pour les rendre homogènes, puis ramenés à 20 °C. Ceux de fromage sont râpés et éventuellement conservés au réfrigérateur à 15 °C avant la pesée. Les produits acidifiés sont thermostatisés à 20 °C et homogénéisés (Ultra-Turrax).

Préparation des diverses fractions azotées

Dosage de l'azote total (TN) des produits laitiers

L'échantillon est minéralisé tel quel selon les données du tableau 3.

Dosage de l'azote soluble dans l'eau (WLN) du fromage

Dans un récipient étanche, on disperse 5 g de fromage dans 100 ml d'eau déminéralisée. Après adjonction de 8 perles de verre, le mélange est secoué pendant 2 heures à température ambiante. On prélève un aliquot qui est centrifugé à 12 000 g et à 4 °C pendant 30 min. On prélève 10 ml de la solution claire pour le dosage de l'azote.

Dosage de l'azote non protéinique (NPN) du fromage

On pipette 25 ml de la suspension de fromage non centrifugée du WLN et on y ajoute 25 ml d'une solution d'acide trichloracétique à 24% P/V. On laisse reposer une nuit, filtre et prélève 20 ml du filtrat pour le dosage de l'azote.

Dosage de l'azote soluble à pH 4,6 (LN 4,6) du fromage

Dans un récipient de 200 ml, on introduit 5 g de fromage dans 100 ml de KCl 0,1 mol/l. On homogénéise le mélange pendant 2 minutes (Ultra-Turrax) et on acidifie lentement la solution avec HCl 0,2 mol/l jusqu'à pH 4,6. On laisse reposer le mélange pendant 1 heure et on filtre la suspension. On prélève 10 ml du filtrat pour le dosage de l'azote.

Dosage de l'azote soluble dans l'acide phosphotungstique (PWLN) du fromage

Dans un fiole conique de 100 ml, on introduit 5 g de fromage dans 100 ml d'eau. On homogénéise la suspension pendant 2 minutes (Ultra-Turrax). On pipette 20 ml de la suspension obtenue et on y ajoute 10 ml d'une solution d'acide phosphotungstique à 10% v/v et 10 ml d'une solution d'acide sulfurique à 25% v/v. Après 24 heures, on filtre le précipité obtenu et prélève 10 ml du filtrat pour le dosage de l'azote.

Dosage de l'azote non caséinique (NCN) du lait

L'azote non caséinique est déterminé selon *Rowland* (6—8). On précipite les caséines à pH 4,6 par addition d'un tampon acide acétique/acétate de sodium. On filtre la suspension obtenue et prélève 20 ml du filtrat pour le dosage de l'azote.

Dosage de l'azote non protéinique (NPN) du lait

L'azote non protéinique est déterminé solon la méthode du manuel suisse des denrées alimentaires (9). Après précipitation des protéines et de la matière grasse avec de l'acide trichloracétique à 24% p/v, on filtre le précipité et prélève 20 ml du filtrat pour le dosage de l'azote.

Minéralisation des aliquots par voie humide

Les divers aliquots correspondant aux différentes fractions azotées susmentionnées ont été minéralisés après adjonction de 10 ml de liqueur de minéralisation (mélange d'acide sulfurique à 95–98% et d'acide phosphorique à 85% dans le rapport volumique 1:0,05), de 1 tablette de Kjeltabs CX dans une première série, de 2 tablettes de Kjeltabs S3,5 dans une seconde série ainsi que de quelques gouttes de Tween 85 et/ou d'eau oxygénée pour diminuer la formation de mousse avec certains produits (cf. détails du mode opératoire dans le tableau 3). Les durées et températures des diverses phases de la minéralisation sont indiquées dans le tableau 4.

Afin de tester le caractère quantitatif de la minéralisation proposée, deux composés organiques particulièrement difficiles à digérer, recommandés comme composés de référence à cet égard par la FIL (2), ont été utilisés: la phénacétine et le tryptophane. Leurs conditions de minéralisation sont également indiquées dans les tableaux 3 et 4.

Résultats expérimentaux et discussion

Optimisation de la température de minéralisation

La température maximale de minéralisation est de 400 °C ± 5 °C pour le catalyseur au sélénium (Kjeltabs S 3,5) et de 370 °C ± 5 °C pour celui au sulfate de cuivre (Kjeltabs CX). Les points d'ébullition ont été mesurés selon *Emich* (10). Ils sont déterminés par la teneur en sel et en acide phosphorique de la liqueur de minéralisation. L'adjonction d'acide phosphorique permet d'élever le point d'ébullition d'env. 20 °C.

Optimisation de la durée de minéralisation

La durée de la minéralisation a été fixée sur la base des résultats obtenus avec la phénacétine comme substance de référence en présence de diverses quantités d'eau (0 ml, 10 ml et 20 ml) pour simuler des conditions de digestion valables pour tous les produits laitiers considérés. La figure 2 montre le taux de récupération de l'azote de la phénacétine en fonction de la durée de minéralisation avec le catalyseur au sulfate de cuivre.

Tableau 3. Détails du mode opératoire de la minéralisation des produits considérés et de diverses fractions azotées[1)]

Produit ou fraction azotée	Masse ou vol. engagé pour la minéralisation	Antimoussant Nbr. de gouttes (Tween 85)	Eau oxygénée à 30% (ml)	Masse d'azote engagée dans l'aliquot (mg)
TN fromage	0,3–0,4 g	–	5	env. 15
TN lait	2,0–2,5 g	–	5	env. 10
TN yoghourt	2,0–2,5 g	–	5	env. 10
TN poudre de lait	0,3–0,4 g	–	5	env. 15
TN petit-lait	env. 5,0 g	–	5	env. 6
TN crème	env. 1,0 g	–	5	env. 3
WLN fromage	10 ml	–	5	env. 5
NPN fromage	20 ml	–	5	env. 3
LN 4,6 fromage	10 ml	4	2,5+2,5*	env. 5
PWLN fromage	10 ml	4	2,5	env. 1
NCN lait	20 ml	–	5	env. 3
NPN lait	20 ml	4	5+2,5*	env. 3
Phénacétine[2]	0,16 g	–	5	13
Tryptophane[2]	0,10 g	–	5	14

[1] Composition de la liqueur de minéralisation (cf. texte)
[2] Substances de référence
* A ajouter avant la minéralisation en deux fois

Tableau 4. Durées et températures de minéralisation

	Catalyseur utilisé	
	Kjeltabs S 3,5 (K_2SO_4/Se)	Kjeltabs CX (K_2SO_4/$CuSO_4$)
Température initiale (T_i)	200 °C	
Température finale (T_f)	400 °C	370 °C
Durée de chauffage (T_i à T_f)	50 min	
Durée de chauffage à T_f	15 min	

Avec cette substance, on atteint un taux de récupération de 99–100% après 50 min (température du bloc voisine de 370 °C). Un accroissement de ce temps de 20 min n'affecte pas les résultats (plateau). Une vérification ultérieure avec le tryptophane (11, 12), substance encore plus difficile à digérer (N dans un hétérocycle), a fourni, dans les mêmes conditions de minéralisation, un taux de récupération de 95% après 50 min et de 98% après 60 min. La durée de la digestion a donc été fixée à 60 min pour tous les produits laitiers.

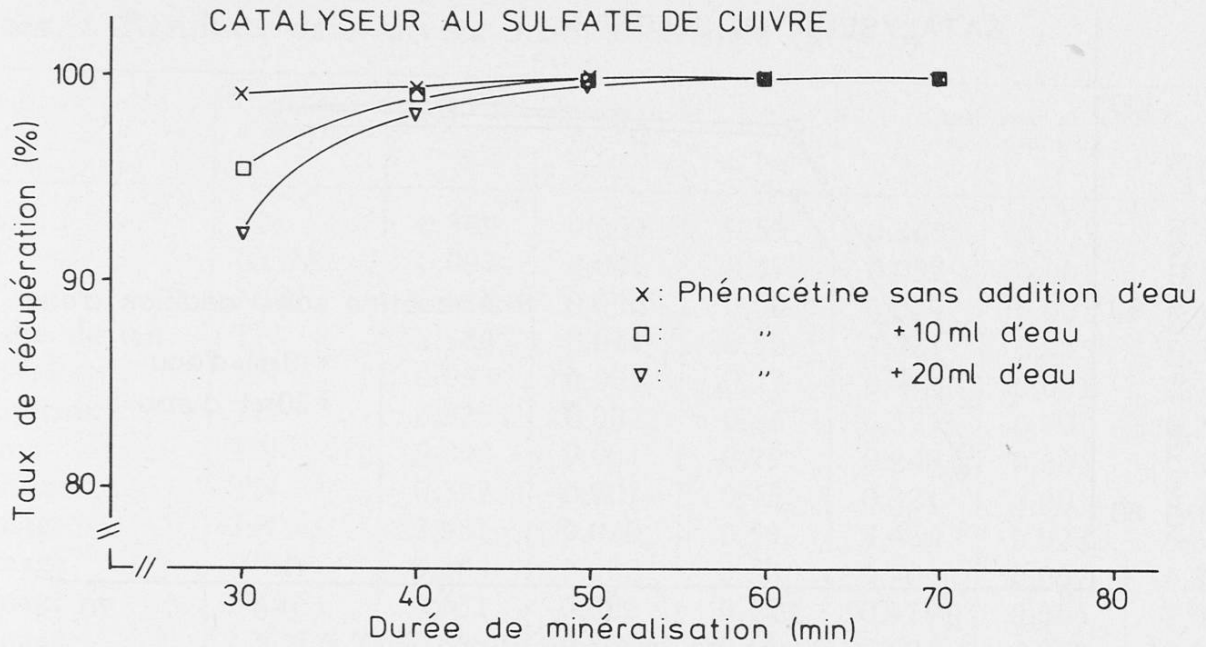

Fig. 2. Taux de récupération de l'azote de la phénacétine en fonction de la durée de minéralisation

Des essais parallèles effectués avec le catalyseur au sélénium (Kjeltabs S 3,5) (fig. 3) ont indiqué un gain de temps de l'ordre de 10 min comparativement à la durée susmentionnée, déterminée en présence de sulfate de cuivre. Des raisons d'ordre écologique ont néanmoins fait renoncer à ce léger gain de temps pour des dosages de routine.

Utilisation d'agents anti-moussant et de clarification

Lors de la minéralisation de certains produits laitiers, il se forme parfois une mousse importante qui se carbonise en particules noires. Ces dernières, moins denses que la liqueur de minéralisation, se déposent sur la partie supérieure des tubes de digestion. Pour ramener ces particules en solution, il faut intensifier au maximum l'effet de reflux de la liqueur minéralisante, ce que l'on obtient par une isolation périphérique de l'ensemble des tubes de minéralisation à l'aide de plaques métalliques. On peut réduire d'autre part la formation de mousse par addition d'eau oxygénée et d'un agent anti-moussant surtout en début de digestion. En diminuant le temps de clarification (11), l'eau oxygénée permet encore d'éviter une formation de mousse plus tardive. Selon le produit à digérer, il faut effectuer un ou plusieurs ajouts espacés dans le temps (cf. astérisques dans le tableau 3).

Application à diverses fractions azotées et comparaison de deux catalyseurs

Le tableau 5 présente les résultats obtenus avec les 2 types de catalyseurs. On constate l'excellente répétabilité de la méthode. Les écarts types correspondent à ceux des standards internationaux (FIL/AOAC). Selon la FIL (13), la

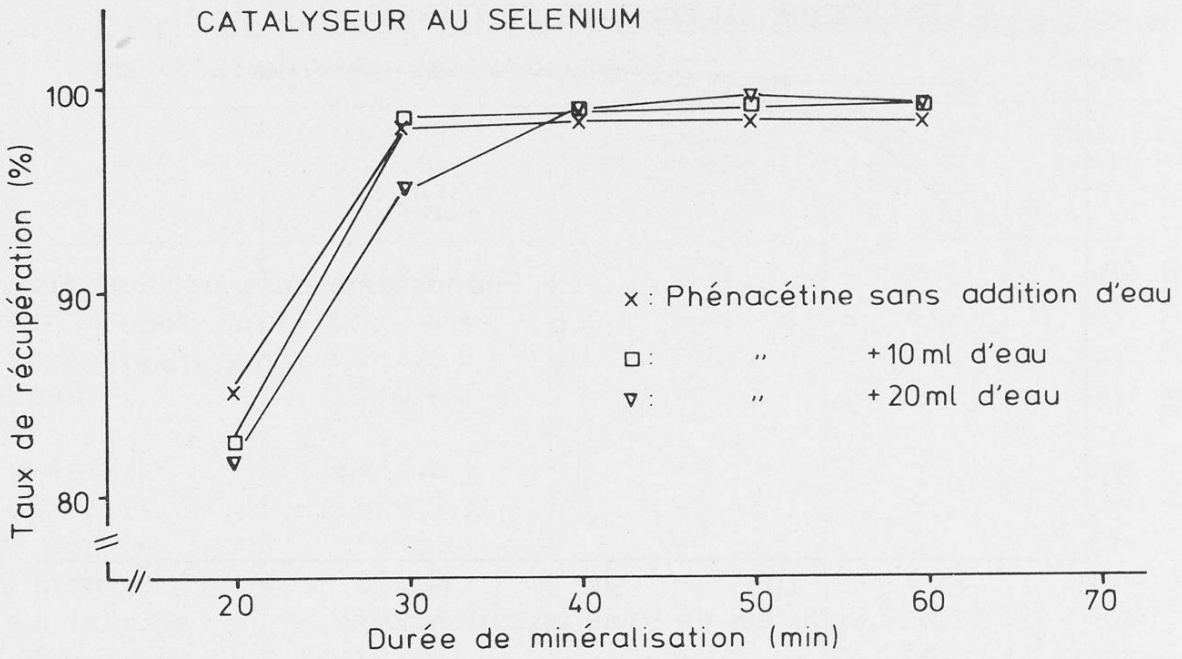

Fig. 3. Taux de récupération de l'azote de la phénacétine en fonction de la durée de minéralisation

précision des résultats augmente lorsque les différents aliquots à digérer contiennent à peu près la même quantité d'azote. Les pesées ont donc été choisies de façon à introduire entre 10 et 15 mg d'azote dans les tubes de minéralisation. Lorsque cette condition n'a pu être respectée (par ex. teneur inférieure à 10 mg dans un aliquot liquide très dilué), on peut améliorer la répétabilité des résultats en modifiant les programmes de distillation et de titrage. L'appareillage à disposition permet en effet l'utilisation d'un programme de distillation «micro», pour lequel la puissance du générateur de vapeur d'eau est réduite de 1500 à 1000 Watt et le titrage effectué plus lentement.

Les résultats présentés ne montrent pas de différences significatives entre les deux mélanges catalytiques utilisés. On utilisera donc à l'avenir le plus ménageant pour l'environnement (Kjeltabs CX, sans sélénium).

Conclusion

L'analyseur d'azote «selon Kjeldahl» récemment commercialisé par Gerhardt donne d'excellents résultats pour le dosage de l'azote total et de l'azote contenu dans certaines fractions azotées. Le nouveau dispositif de refroidissement à air des blocs de minéralisation permet en outre de réduire de 2 heures à 15 min le délai d'attente entre deux séries de digestion. La formation de mousse lors de la minéralisation peut être atténuée par des ajouts d'eau oxygénée et d'un agent antimoussant (Tween 85). En outre, la comparaison des catalyseurs testés (Kjeltabs S 3,5 et CX) donne des résultats équivalents. On a choisi par conséquent le moins

Tableau 5. Résultats dans divers produits laitiers ($n = 6$)

Produit	Genre d'analyse	Catalyseur au Se mol/kg			Catalyseur au $CuSO_4$ mol/kg		
		x	s	c_v (%)	x	s	c_v (%)
Lait	TN	0,359	0,002	0,59	0,360	0,001	0,40
Lait	NCN	0,097	0,001	0,37	0,097	0,001	0,36
Lait	NPN	0,024	0,000	0,00	0,024	0,001	1,18
Poudre de lait	TN	2,688	0,014	0,50	2,729	0,015	0,55
Petit-lait	TN	0,093	0,001	0,77	0,094	0,001	0,76
Yogi-drink	TN	0,325	0,002	0,66	0,321	0,001	0,22
Crème	TN	0,244	0,001	0,29	0,248	0,001	0,58
Yoghourt	TN	0,322	0,001	0,45	0,321	0,001	0,45
Fromage	TN	3,451	0,020	0,59	3,460	0,022	0,64
Fromage	WLN	0,703	0,002	0,30	0,704	0,002	0,30
Fromage	NPN	0,431	0,002	0,50	0,419	0,004	1,02
Fromage	LN 4,6	0,699	0,004	0,61	0,691	0,002	0,26
Fromage	PWLN	0,365	0,001	0,39	0,363	0,002	0,59

toxique (Kjeltabs CX), exempt de sélénium. La capacité analytique du système comprenant 2 blocs de minéralisation avec dispositifs de refroidissement est de 100 analyses par jour (8h).

Remerciements

Les auteurs remercient M. *P. Knecht* pour l'exécution des blocs de refroidissement et le Dr *J. O. Bosset* pour son excellente critique du manuscrit.

Résumé

Un nouvel appareillage commercialisé pour la détermination de l'azote selon Kjeldahl a été testé et amélioré, notamment en y adjoignant un système de refroidissement à air des blocs de digestion. Les températures et les temps de minéralisation ont été optimisés à l'aide de la phénacétine et du tryptophane. Le programme choisi comporte une augmentation linéaire de la température de 200 °C à 370 °C. Le temps total de la minéralisation est de 60 min. Cet appareil a ensuite été utilisé pour doser l'azote dans différents produits laitiers et dans quelques fractions azotées de ces derniers. Le principal problème rencontré a été la formation de mousse pouvant se carboniser à la partie supérieure des tubes en cours de la minéralisation. Ce problème a été résolu par une meilleure isolation périphérique des tubes de digestion ainsi que, suivant les produits, par adjonction de quantités variables d'eau oxygénée et d'un produit anti-moussant. Dans les conditions de minéralisation proposées, les résultats obtenus avec les deux catalyseurs testés (sélénium, resp. cuivre) sont identiques, ce qui permet de choisir pour la routine, le moins toxique.

Zusammenfassung

Ein neuer Analysenautomat für die Bestimmung von Stickstoff nach Kjeldahl wurde geprüft. Die Abkühlungszeit der Aufschlussblöcke konnte durch hinzufügen eines Luftkühlungssystems wesentlich verkürzt werden. Die Aufschlusstemperaturen und -zeiten wurden mit Phenacetin und Tryptophan optimiert. Das gewählte Temperaturprogramm wies eine lineare Erwärmung von 200 °C bis 370 °C auf. Die totale Aufschlusszeit betrug 60 min. Diese Methode wurde anschliessend für die Stickstoffbestimmung an verschiedenen Milchprodukten beziehungsweise deren Stickstofffraktionen geprüft. Die zeitweise Schaumbildung führte am oberen Rand der Aufschlussrohre zu Verkohlung. Dieses Problem konnte durch eine bessere peripherale Isolierung der Aufschlussrohre und durch Zugabe von verschiedenen Mengen Wasserstoffperoxid und eines Antischaummittels gelöst werden. Für die vorgeschlagenen Aufschlussbedingungen sind die erhaltenen Resultate mit den zwei geprüften Katalysatoren (Selen bzw. Kupfer) identisch. Für die Routine wurde das weniger toxische Kupfer ausgewählt.

Summary

A new commercially available apparatus for the determination of nitrogen according to Kjeldahl was tested and improved upon, especially by addition of an air cooling system of the digestion blocks. The optimal temperatures and mineralization times were determined using phenacetin and tryptophan. In the selected programme there is a linear temperature increase from 200 to 370 °C. The total mineralization time is 60 min. The apparatus was subsequently used to measure the nitrogen content of different dairy products as well as some of their fractions. The principal problem encountered was the formation of foam which could carbonize in the upper part of the tubes during mineralization. This problem was overcome by better peripheral isolation of the digestion tubes as well as, depending of the product, addition of varying quantities of hydrogen peroxide and an antifoaming reagent. In the proposed mineralization conditions the results with two tested catalysts (selenium and copper) were identical which enabled us to choose the less toxic for routine work.

Bibliographie

1. *Kjeldahl, J.:* Über die Stickstoffbestimmung. Z. anal. Chem. **22**, 336–370 (1883).
2. Norme provisoire FIL-IDF 20 A: 1986.
3. Schweiz. Lebensmittelbuch 2. Band, 5. Auflage, Methode 1.10.1. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1987.
4. Official Methods of Analysis, 15th Edition, 920.105. Association of Official Analytical Chemists, Washington 1990.
5. *Grappin, R.* and *Horwitz, W.:* Determination of nitrogen content in milk by the Kjeldahl method using coppersulfate: Interlaboratory study. J. Assoc. Off. Anal. Chem. **71**, 5 (1988).
6. *Rowland, S. J.:* The determination of the nitrogen distribution in milk. J. Dairy Res **9**, 42–46 (1938).
7. Norme FIL-IDF 29: 1964.

8. Schweiz. Lebensmittelbuch 2. Band, 5. Auflage, Methode 1.10.3. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1987.
9. Schweiz. Lebensmittelbuch 2. Band, 5. Auflage, Methode 1.10.2. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1987.
10. Organikum, Organisch-chemisches Grundpraktikum, 9. Auflage, S. 90–91. VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1969.
11. *Ugrinovits, M.:* Kjeldahl-Stickstoffbestimmung mit verschiedenen Katalysatoren. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **71**, 124–140 (1980).
12. *Morita, Y.:* The Kjeldahl nitrogen determination. Bull. Chem. Soc. Japan **41**, 2029–2032 (1968).
13. Groupe FIL-IDF E 27: Dosage de l'azote du lait et des produits laitiers. E-Doc 349 (1988).

Dr M. Collomb
Monika Spahni-Rey
G. Steiger
Station fédérale de
recherches laitières
CH-3097 Liebefeld-Berne