

---

# Norme internationale



# 5548

---

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

---

## Caséines et caséinates — Détermination de la teneur en lactose — Méthode photométrique

*Caseins and caseinates — Determination of lactose content — Photometric method*

Première édition — 1980-10-15

ITeH STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

[ISO 5548:1980](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/84c009b9-86e2-4f44-89cf-322b9386fd14/iso-5548-1980>

---

CDU 637.147.2 : 543.42 : 637.145

Réf. n° : ISO 5548-1980 (F)

**Descripteurs** : produit agricole, produit laitier, caséine, analyse chimique, dosage, lactose, analyse spectrophotométrique, préparation de spécimen d'essai.

## Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est confiée aux comités techniques de l'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.

La Norme internationale ISO 5548 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, et a été soumise aux comités membres en mars 1979.

Les comités membres des pays suivants l'ont approuvée :

Afrique du Sud, Rép. d'	Égypte	Rép. arabe d'	Nouvelle-Zélande
Allemagne, R. F.	Espagne		Pays-Bas
Australie	Ethiopie		Roumanie
Autriche	France		Royaume-Uni
Belgique	Hongrie		Tchécoslovaquie
Bulgarie	Inde		Thaïlande
Canada	Israël		Turquie
Chili	Jamahiriya arabe libyenne		Yougoslavie
Chypre	Kenya		
Corée, Rép. de	Malaisie		

Aucun comité membre ne l'a désapprouvée.

# Caséines et caséinates — Détermination de la teneur en lactose — Méthode photométrique

## 1 Objet et domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode photométrique de détermination de la teneur en lactose et autres hydrates de carbone solubles des caséines et caséinates contenant moins de 2,0 % d'hydrates de carbone solubles totaux.

## 2 Références

ISO/R 707, *Lait et produits laitiers — Méthode d'échantillonnage*.

ISO 3310/1, *Tamis de contrôle — Exigences techniques et vérifications — Partie 1 : Toiles métalliques*.

## 3 Définition

**teneur en lactose des caséines et des caséinates** : Teneur en hydrates de carbone solubles totaux, exprimée en pourcentage en masse de lactose anhydre, déterminée selon le mode opératoire décrit dans la présente Norme internationale.

## 4 Principe

Dissolution d'une prise d'essai

- dans de l'eau chaude, dans le cas des caséinates;
- dans de l'eau chaude additionnée d'hydrogénocarbonate de sodium, dans le cas des caséines acides;
- dans de l'eau chaude additionnée de triphosphate pentasodique, dans le cas des caséines présures.

Précipitation de la caséine au moyen d'une solution d'acide acétique et d'acétate de sodium, à pH 4,6, puis filtration pour obtenir une solution d'hydrates de carbone exempte de protéines. Addition d'une solution de phénol et d'acide sulfurique concentré à une partie aliquote du filtrat provoquant l'apparition d'une coloration proportionnelle à la quantité d'hydrates de carbone présente, et mesurage photométrique à la longueur d'onde de 490 nm.

## 5 Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique reconnue. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau de pureté au moins équivalente.

**5.1 Hydrogénocarbonate de sodium** ( $\text{NaHCO}_3$ ) (pour l'analyse des caséines acides).

**5.2 Triphosphate pentasodique** ( $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ) (pour l'analyse des caséines présures).

**5.3 Acide chlorhydrique ou acide sulfurique**, solution,  $c(\text{HCl})$  ou  $c(1/2 \text{H}_2\text{SO}_4) = 0,1 \text{ mol/l}$ .

**5.4 Acide acétique**, solution à 100 g/l.

**5.5 Acétate de sodium**, solution,  $c(\text{CH}_3\text{COONa}) = 1 \text{ mol/l}$ .

**5.6 Phénol**, solution à 80 % (*m/m*).

Chauffer un mélange formé de 8 g de phénol et de 2 g d'eau, jusqu'à obtention d'un mélange homogène.

**5.7 Acide sulfurique**, concentré,  $\rho_{20} 1,84 \text{ g/ml}$ .

**5.8 Lactose**, solution à 20 g/l.

Peser  $2,105 \pm 0,001 \text{ g}$  de lactose monohydraté, correspondant à 2,00 g de lactose anhydre, dans une fiole jaugée de 100 ml, dissoudre dans de l'eau, compléter au trait repère et bien mélanger.

Conserver la solution à 0 °C.

## 6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et notamment :

**6.1 Balance analytique.**

**6.2 Fioles coniques**, de 100 ml de capacité.

**6.3 Pipettes à un trait**, de 1, 2 et 10 ml de capacité.

**6.4 Micropipettes**, de 0,2 ml de capacité, graduées en 0,001 ml.

**6.5 Pipette graduée**, de 25 ml de capacité.

**6.6 Tubes à essais**, d'environ 40 ml de capacité, à cols rodés et munis de bouchons en verre rodés.

**6.7 Système automatique**, permettant de délivrer 5 ml d'acide sulfurique concentré en moins de 1 s.

**6.8 Bain d'eau**, réglable de 60 à 70 °C.

**6.9 Photomètre**, permettant des mesurages à 490 nm, équipé de cuves de 1 à 2 cm de parcours optique.

**6.10 Mélangeur**, approprié au mélange à l'intérieur des tubes à essais (6.6), avec agitateur résistant aux acides forts.

**6.11 Dispositif de broyage**, permettant, si nécessaire (voir 8.1.4), de broyer l'échantillon pour laboratoire sans provoquer d'échauffement excessif ni de perte ou d'absorption d'humidité. Ne pas utiliser un broyeur à marteaux.

**6.12 Tamis de contrôle**, à toile métallique, de 200 mm de diamètre, de 500 µm de dimension nominale d'ouverture, muni d'un réceptacle, conforme à l'ISO 3310/1.

**6.13 Fioles jaugées**, de 100 ml de capacité.

**6.14 Bain d'eau**, réglable à 20 °C.

## 7 Échantillonnage

Voir ISO/R 707.

## 8 Mode opératoire

### 8.1 Préparation de l'échantillon pour essai

**8.1.1** Bien mélanger l'échantillon pour laboratoire au moyen d'agitations et de retournements répétés du récipient (si nécessaire après avoir transvasé la totalité de l'échantillon pour laboratoire dans un récipient étanche à l'air, de capacité convenable, en vue de permettre la réalisation de cette opération).

**8.1.2** Transvaser environ 50 g de l'échantillon pour laboratoire bien mélangé sur le tamis de contrôle (6.12).

**8.1.3** Si cette fraction de 50 g passe complètement ou presque à travers le tamis, utiliser pour la détermination l'échantillon tel qu'il a été préparé en 8.1.1.

**8.1.4** Dans le cas contraire, broyer cette fraction de 50 g au moyen du dispositif de broyage (6.11) jusqu'à ce qu'elle passe complètement à travers le tamis. Transvaser immédiatement l'échantillon tamisé dans un récipient étanche à l'air, de capacité suffisante, et bien mélanger au moyen d'agitations et de retournements répétés. Au cours de ces opérations, prendre toutes précautions utiles en vue d'éviter une modification de la teneur en eau du produit.

**8.1.5** Procéder à la détermination (8.5) dès que possible après la préparation de l'échantillon pour essai.

### 8.2 Essai à blanc

Préparer une solution à blanc contenant  $0,1 \pm 0,001$  g d'hydrogencarbonate de sodium ou  $0,1 \pm 0,001$  g de triphosphate pentasodique, selon le cas, en utilisant le même appareillage, les mêmes réactifs en quantités identiques et le même mode opératoire que celui décrit de 8.4.2 à 8.5.1 inclus, mais en omettant la prise d'essai et les opérations dues à la présence d'une prise d'essai.

NOTE — En vue d'obtenir des résultats plus précis, préparer simultanément la solution à blanc, la solution d'essai et les solutions étalons pour la courbe d'étalonnage (voir 8.6).

### 8.3 Prise d'essai

Dans une fiole conique (6.2), peser, à 1 mg près, environ 1 g de l'échantillon pour essai (8.1).

### 8.4 Solution d'essai

**8.4.1** Dans le cas des caséines acides, ajouter  $0,1 \pm 0,001$  g de l'hydrogencarbonate de sodium (5.1).

Dans le cas des caséines présures, ajouter  $0,1 \pm 0,001$  g du triphosphate pentasodique (5.2).

**8.4.2** Ajouter 25 ml d'eau, placer dans le bain d'eau (6.8) réglé de 60 à 70 °C et mélanger de temps en temps par agitation.

**8.4.3** Lorsque la prise d'essai est complètement dissoute, ce qui demande en général de 10 à 15 min, refroidir, puis ajouter successivement :

- 15 ml d'eau;
- 8 ml de la solution d'acide chlorhydrique ou d'acide sulfurique (5.3);
- 1 ml de la solution d'acide acétique (5.4).

Après chaque ajout, boucher la fiole et mélanger son contenu par agitation.

**8.4.4** Attendre 5 min, puis ajouter 1 ml de la solution d'acétate de sodium (5.5). Mélanger par agitation.

**8.4.5** Laisser se déposer le précipité de caséine, puis filtrer sur un papier filtre sec. Rejeter les premiers millilitres du filtrat.

## 8.5 Détermination

**8.5.1** Introduire, dans un tube à essais (6.6), 2 ml du filtrat (8.4.5) prélevés au moyen d'une pipette (6.3), ajouter 0,2 ml de la solution de phénol (5.6) au moyen d'une micropipette (6.4) et mélanger par agitation. Au moyen du système automatique (6.7), ajouter ensuite, en moins de 1 s, 5 ml de l'acide sulfurique concentré (5.7), en dirigeant le jet d'acide sur la surface du liquide plutôt que sur les parois du tube à essais, afin d'obtenir un mélange correct. Au moyen du mélangeur (6.10), mélanger immédiatement et laisser reposer 15 min. Refroidir durant 5 min au moyen du bain d'eau (6.14) réglé à 20 °C. Essuyer le tube à essais et procéder immédiatement comme décrit en 8.5.2.

**8.5.2** Mesurer l'absorbance de la solution (8.5.1) à 490 nm en utilisant la solution à blanc (8.2) comme liquide de référence.

**8.5.3** Si l'absorbance dépasse la limite supérieure de la courbe d'étalonnage (voir 8.6), recommencer les étapes 8.5.1 et 8.5.2 en utilisant, au lieu des 2 ml du filtrat (8.4.5), 2 ml d'une dilution appropriée de ce filtrat.

NOTE — Si une dilution est effectuée, la formule donnée en 9.1 doit être modifiée en conséquence.

## 8.6 Établissement de la courbe d'étalonnage

**8.6.1** Introduire, dans une fiole jaugée de 100 ml (6.13), 10 ml de la solution de lactose (5.8) prélevés au moyen d'une pipette (6.3) et compléter au trait repère avec de l'eau (solution A); 1 ml de solution A correspond à 2 mg de lactose anhydre.

Préparer trois solutions étalons, en introduisant respectivement, dans trois fioles jaugées de 100 ml, 1, 2 et 3 ml de solution A, prélevés au moyen d'une pipette (6.3), et en complétant au trait repère avec de l'eau.

Les concentrations en lactose anhydre sont respectivement, pour ces trois solutions étalons, de 20, 40 et 60 µg/ml.

**8.6.2** En utilisant quatre tubes à essais (6.6), opérer comme en 8.5.1, mais en remplaçant respectivement les 2 ml de filtrat par 2 ml de chacune des trois solutions étalons et 2 ml d'eau.

**8.6.3** Mesurer les absorbances des trois solutions témoins en utilisant la solution obtenue par traitement des 2 ml d'eau comme liquide de référence.

**8.6.4** Tracer une courbe d'étalonnage donnant les absorbances des solutions témoins en fonction de leurs concentrations en lactose anhydre, exprimées en microgrammes par millilitre. Tracer la droite la plus appropriée correspondant aux points d'étalonnage.

## 9 Expression des résultats

### 9.1 Mode de calcul et formule

La teneur en lactose de l'échantillon, exprimée en pourcentage en masse de lactose anhydre, est égale à

$$\frac{\frac{c}{10^6} \times 50}{m} \times 100$$

où

*c* est la concentration en lactose anhydre, en microgrammes par millilitre, de la solution d'essai (8.4.5), lue sur la courbe d'étalonnage (8.6.4);

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

### 9.2 Répétabilité<sup>1)</sup>

Pour des teneurs en lactose inférieures ou égales à 0,2 % (*m/m*), la différence entre les résultats de deux déterminations, effectuées sur un produit identique soumis à essai, par le même analyste utilisant le même appareillage, dans un court intervalle de temps, ne doit pas dépasser 0,03 g de lactose pour 100 g de produit tel quel en moyenne plus d'une fois sur 20 dans l'application normale et correcte de la méthode.

### 9.3 Reproductibilité<sup>1)</sup>

Pour des teneurs en lactose inférieures ou égales à 0,2 % (*m/m*), la différence entre les résultats de deux déterminations, effectuées par deux opérateurs travaillant dans des laboratoires différents sur un produit identique soumis à essai, ne doit pas dépasser 0,04 g de lactose pour 100 g de produit tel quel en moyenne plus d'une fois sur 20 dans l'application normale et correcte de la méthode.

## 10 Procès-verbal d'essai

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et les résultats obtenus. Il doit, en outre, mentionner tous les détails opératoires non prévus dans la présente Norme internationale, ou facultatifs, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur les résultats.

Le procès-verbal d'essai doit donner tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

1) À des teneurs plus élevées en lactose, cette différence sera proportionnellement plus élevée.

Page blanche

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

ISO 5548:1980

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/84c009b9-86e2-4f44-89cf-322b9386fd14/iso-5548-1980>

Page blanche

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

ISO 5548:1980

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/84c009b9-86e2-4f44-89cf-322b9386fd14/iso-5548-1980>

Page blanche

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

ISO 5548:1980

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/84c009b9-86e2-4f44-89cf-322b9386fd14/iso-5548-1980>