
Norme internationale



5553

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

Viandes et produits à base de viande — Recherche des polyphosphates

Meat and meat products — Detection of polyphosphates

Première édition — 1980-09-15

ITEH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 5553:1980](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/877392c4-8002-4cc9-939c-f48e3ee402f2/iso-5553-1980)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/877392c4-8002-4cc9-939c-f48e3ee402f2/iso-5553-1980>

CDU 637.52 : 543.54 : 546.185

Réf. n° : ISO 5553-1980 (F)

Descripteurs : viande, produit à base de viande, détection, phosphate, analyse chromatographique, 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.

iTeh STANDARD PREVIEW

La Norme internationale ISO 5553 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 : [ISO 5553:1980](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/877392c4-8002-4cc9-939c-f48e3ee4-2675-5553-1980>

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

Aucun comité membre ne l'a désapprouvée.

Viandes et produits à base de viande — Recherche des polyphosphates

1 Objet

La présente Norme internationale spécifie une méthode de recherche des phosphates linéaires condensés dans les viandes et les produits à base de viande, après séparation par chromatographie en couche mince.

2 Domaine d'application

Étant donné que les phosphates sont progressivement hydrolysés par les enzymes présents dans les viandes ou les produits à base de viande et au cours du traitement par la chaleur des viandes ou des produits à base de viande, la présente Norme internationale s'applique uniquement à la recherche des polyphosphates ajoutés qui sont encore présents dans l'échantillon au moment de la recherche.

3 Référence

ISO 3100, *Viandes et produits à base de viande — Échantillonnage*.

4 Principe

Extraction des viandes ou des produits à base de viande par l'acide trichloracétique. Défécation du sérum obtenu au moyen d'un mélange éthanol/oxyde diéthylique. Séparation des phosphates par chromatographie en couche mince. Recherche des polyphosphates par pulvérisation avec des réactifs pour le développement de la couleur.

5 Réactifs

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

Avertissement — Observer toutes les précautions appropriées à la mise en œuvre du mode opératoire spécifié dans la présente Norme internationale.

5.1 Acide trichloracétique.

5.2 Oxyde diéthylique.

5.3 Éthanol, à 95 % (V/V).

5.4 Cellulose en poudre, de qualité pour chromatographie en couche mince.

5.5 Amidon soluble.

5.6 Mélange de référence.

Dissoudre, dans 100 ml d'eau,

— 200 mg de dihydrogénophosphate de sodium monohydraté ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$),

— 300 mg de diphosphate tétrasodique décahydraté ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$),

— 200 mg de triphosphate pentasodique ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$), et

— 200 mg d'hexamétaphosphate de sodium (NaPO_3)_x [$x > 10$].

Le mélange de référence reste stable à 4 °C durant au moins 4 semaines.

5.7 Solvant de développement.

Mélanger 140 ml d'alcool isopropylique, 40 ml d'une solution d'acide trichloracétique à 135 g/l et 0,6 ml de solution d'hydroxyde d'ammonium, $\rho_{20} = 0,90$ g/ml, à environ 25 % (m/m).

Conserver le solvant dans un flacon hermétiquement clos.

5.8 Réactif de pulvérisation I.

Mélanger des volumes égaux d'une solution de molybdate d'ammonium tétrahydraté [$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$] à 75 g/l et d'acide nitrique concentré, $\rho_{20} = 1,40$ g/ml. Dissoudre 10 g d'acide tartrique dans 100 ml de ce mélange.

Préparer le réactif le jour de son utilisation.

5.9 Réactif de pulvérisation II.

Dissoudre 0,5 g d'acide amino-1 naphthol-2 sulfonique-4 dans un mélange formé de 195 ml d'une solution de disulfite de sodium (métabisulfite de sodium; $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) à 150 g/l et 5 ml d'une solution de sulfite de sodium (Na_2SO_3) à 200 g/l. Dissoudre 40 g d'acétate de sodium trihydraté ($\text{NaOOCCH}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) dans ce mélange.

Conserver le réactif au réfrigérateur dans un flacon brun hermétiquement clos. Rejeter cette solution après 1 semaine.

6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire non spécifié par ailleurs, et notamment :

6.1 Plaques de verre, soigneusement dégraissées, 10 cm × 20 cm.

6.2 Dispositif de pulvérisation, pour la préparation de couches de 0,25 mm d'épaisseur. Si un tel dispositif n'est pas disponible, des plaques prêtes à l'utilisation en couche mince de 0,25 mm d'épaisseur peuvent être utilisées à condition que l'amidon soit utilisé comme liant. Des plaques contenant du gypse (sulfate de calcium) ne conviennent pas.

6.3 Mélangeur de laboratoire.

6.4 Dessiccateur.

6.5 Hachoir mécanique à viande, type de laboratoire, muni d'une plaque perforée dont les trous ont un diamètre ne dépassant pas 4 mm.

6.6 Papier filtre plissé, de 15 cm de diamètre.

6.7 Micropipette, de 1 µl, ou **microseringue** avec vis micrométrique et bout courbe en verre.

6.8 Cuve de développement, de dimensions appropriées, avec couvercle fermant bien, en vue du développement du chromatogramme en couche mince.

6.9 Sèche-cheveux, pouvant produire soit un courant d'air à la température ambiante, soit un courant d'air tiède.

6.10 Pulvérisateur.

6.11 Étuve, réglable à 60 °C.

7 Échantillon

7.1 Opérer sur un échantillon représentatif d'au moins 200 g. Voir ISO 3100.

7.2 Préparer l'échantillon pour essai le jour de son arrivée au laboratoire.

8 Mode opératoire

8.1 Préparation des plaques à couche mince

Dissoudre 0,3 g d'amidon (5.5) dans 90 ml d'eau bouillante. Refroidir, ajouter 15 g de poudre de cellulose (5.4) et homogénéiser dans le mélangeur de laboratoire (6.3) durant 1 min.

Appliquer ce mélange sur des plaques de verre (6.1) au moyen du dispositif de pulvérisation (6.2) et ajuster afin d'obtenir une couche de 0,25 mm.

Sécher les plaques au moyen d'un courant d'air durant 60 min à la température ambiante sans les déplacer et ensuite les chauffer durant 10 min à 100 °C.

Conservier les plaques dans le dessiccateur (6.4).

Il est également possible d'utiliser des plaques prêtes à l'utilisation en couche mince (voir 6.2).

8.2 Préparation de l'échantillon pour essai

Rendre l'échantillon homogène par au moins deux passages dans le hachoir à viande (6.5) et par mélange. Garder l'échantillon dans un flacon fermé, étanche et rempli complètement, et le conserver, si nécessaire, au réfrigérateur. Analyser l'échantillon dès que possible après l'homogénéisation, mais toujours dans les 5 h.

8.3 Préparation du sérum

8.3.1 Pétrir 50 g de l'échantillon pour essai (8.2) avec 15 ml d'eau entre 40 et 60 °C dans un bécher, au moyen d'une spatule ou d'un agitateur aplati, jusqu'à l'obtention d'une masse homogène, mais en tout cas en moins de 5 min.

8.3.2 Ajouter 10 g d'acide trichloracétique (5.1) et ensuite mélanger soigneusement.

8.3.3 Placer immédiatement au réfrigérateur et l'y laisser durant 1 h, puis rassembler, sur papier filtre plissé (6.6), le sérum qui s'est séparé par décantation.

8.3.4 Si le filtrat est trouble, agiter une fois avec un égal volume d'oxyde diéthylique (5.2). Éliminer la couche étherée au moyen d'une pipette étroite et ajouter, à la phase aqueuse, un égal volume d'éthanol (5.3). Agiter durant 1 min. Laisser reposer le mélange durant quelques minutes et filtrer sur papier filtre plissé (6.6).

8.4 Séparation par chromatographie

8.4.1 Verser le solvant de développement (5.7) dans la cuve de développement (6.8) jusqu'à une hauteur de 5 à 10 mm au-dessus du fond et fermer la cuve avec son couvercle. Laisser reposer durant au moins 30 min à la température ambiante, à l'abri de la lumière solaire et des courants d'air.

8.4.2 Appliquer 3 µl du sérum, ou 6 µl si le mode opératoire de 8.3.4 a été utilisé pour obtenir un mélange limpide, à la couche de cellulose (8.1) sur une ligne tracée au crayon à environ 2 cm de l'extrémité. Obtenir des taches étroites en appliquant 1 µl à la fois.

Utiliser, pour le séchage, un courant d'air tiède produit par le sèche-cheveux (6.9).

NOTE — Éviter l'air chaud en raison du risque d'hydrolyse des phosphates.

8.4.3 Dans les mêmes conditions, appliquer 3 µl du mélange de référence (5.6) sur la plaque, à une distance de 1 à 1,5 cm à partir de la tache de l'échantillon, mais à exactement la même distance de l'extrémité.

8.4.4 Retirer le couvercle de la cuve et, rapidement mais avec précaution, placer la plaque de cellulose dans la cuve. Remettre immédiatement le couvercle. Développer la plaque à la température ambiante, à l'abri de la lumière solaire et des courants d'air.

8.4.5 Poursuivre le développement jusqu'à ce que le solvant ait effectué une ascension d'environ 10 cm à partir du trait de crayon. Retirer la plaque de la cuve et laisser sécher soit durant 10 min à l'étuve (6.11) réglée à 60 °C, soit durant 30 min à la température ambiante, soit au moyen d'un courant d'air.

8.5 Recherche des phosphates

8.5.1 Placer la plaque verticalement sous une hotte et pulvériser la plaque légèrement, mais de façon uniforme, au moyen du réactif de pulvérisation I (5.8).

8.5.2 Sécher la plaque au moyen d'un courant d'air tiède produit par le sèche-cheveux. Chauffer ensuite durant au moins 1 h dans une étuve réglée à 100 °C en vue d'éliminer les dernières traces d'acide nitrique. Retirer la plaque de l'étuve et vérifier l'absence de l'odeur piquante de l'acide nitrique.

8.5.3 Laisser refroidir la plaque à la température ambiante et la replacer ensuite sous la hotte. Pulvériser la plaque légèrement, mais de façon uniforme, au moyen du réactif de pulvérisation II (5.9).

Des taches bleues apparaissent immédiatement.

NOTE — La pulvérisation avec le réactif II n'est pas absolument nécessaire. Cependant, les taches bleu intense produites par ce réactif améliorent considérablement la détection.

9 Interprétation

Comparer les distances de migration des taches de phosphate

obtenues à partir de l'échantillon avec celles des phosphates du mélange de référence.

Une tache d'orthophosphate est toujours présente. Si l'échantillon contient des phosphates condensés, une tache de diphosphate et/ou des taches de phosphates à plus haut degré de polymérisation sont visibles.

Les valeurs du R_F des phosphates dans le mélange de référence sont

orthophosphate	de 0,80 à 0,90
diphosphate (pyrophosphate)	de 0,50 à 0,60
triphosphate	de 0,25 à 0,35
hexamétopolyphosphate (sel de Graham)	0,0

En général, les valeurs du R_F des polyphosphates dans les extraits de viandes et de produits à base de viande sont quelque peu inférieures.

NOTE — Les corrections pour les différences dans les valeurs du R_F des phosphates dans l'échantillon extrait et dans le mélange de référence peuvent être obtenues en plaçant, sur la même plaque, un extrait de l'échantillon de viande fraîche. Étant donné que la viande fraîche contient uniquement des monophosphates, le pourcentage de correction peut être obtenu en comparant les distances de migration de cette tache étalon avec la tache correspondante du mélange de référence.

10 Procès-verbal d'essai

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et le résultat obtenu. 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 le résultat.

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

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 5553:1980

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/877392c4-8002-4cc9-939c-f48e3ee402f2/iso-5553-1980>

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 5553:1980

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/877392c4-8002-4cc9-939c-f48e3ee402f2/iso-5553-1980>

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 5553:1980

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/877392c4-8002-4cc9-939c-f48e3ee402f2/iso-5553-1980>