
Norme internationale



6732

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

Lait et produits laitiers — Détermination de la teneur en fer — Méthode spectrométrique (Méthode de référence)

Milk and milk products — Determination of iron content — Spectrometric method (Reference method)

Première édition — 1985-07-01

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 6732:1985

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/cfe0856b-57bc-4169-a875-37930e892ecc/iso-6732-1985>

CDU 627.1/3 : 543.42 : 546.72

Réf. n° : ISO 6732-1985 (F)

Descripteurs : produit laitier, lait, analyse chimique, dosage, fer, méthode spectrophotométrique.

Prix basé sur 6 pages

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 créé à cet effet. 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. Les Normes internationales sont approuvées conformément aux procédures de l'ISO qui requièrent l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 6732 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*.

NOTE — La méthode spécifiée dans la présente Norme internationale a été élaborée conjointement avec la FIL (Fédération internationale de laiterie) et l'AOAC (Association des chimistes analytiques officiels, U.S.A.) et sera également publiée par ces organisations.

Lait et produits laitiers — Détermination de la teneur en fer — Méthode spectrométrique (Méthode de référence)

1 Objet et domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode spectrométrique de référence pour la détermination de la teneur en fer du lait et des produits laitiers.

La méthode est applicable aux produits suivants:

- lait, lait écrémé, lactosérum et babeurre;
- yogourt nature et yogourt écrémé;
- lait concentré non sucré et lait concentré sucré;
- poudre de lait entier, de lait écrémé, lactosérum et babeurre secs;
- crème et beurre;
- matières grasses butyriques;¹⁾
- crème glacée;
- fromages de différents âges, et fromages fondus;
- caséines, caséinates et coprécipités.

NOTE — La méthode requiert une certaine expérience en analyse de traces et demande d'opérer avec précaution. Durant tout le mode opératoire, il faut tenir compte particulièrement du problème de la contamination qui affecte la précision et la répétabilité de la méthode.

En conséquence, il est recommandé

- de garder les réactifs, la verrerie et l'environnement dans le laboratoire aussi propres que possible (la contamination par la rouille est un risque particulier);
- que chaque laboratoire identifie et contrôle ses propres sources de contamination;

— que la différence entre deux valeurs d'essai à blanc soit aussi faible que possible (généralement, cette différence ne devrait pas dépasser 0,004 unité d'absorbance);

— de contrôler la performance de la méthode en analysant une poudre de lait (ou un autre produit laitier) dont la teneur en fer est connue ou certifiée.

2 Référence

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

3 Définition

Dans le cadre de la présente Norme internationale, la définition suivante est applicable:

teneur en fer (du lait ou d'un produit laitier): Fraction massique des substances déterminées selon la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale. La teneur en fer est habituellement indiquée en fraction massique et est conventionnellement exprimée en milligrammes par kilogramme de l'échantillon.

4 Principe

Minéralisation de la matière organique à l'aide d'un mélange d'acide nitrique et d'acide sulfurique, après élimination de la matière grasse, dans le cas de la crème et des matières grasses butyriques. Dans le cas du beurre, séparation et minéralisation du sérum.

Complexion des ions fer(III), obtenue par réduction des ions fer(III), au moyen de la bathophénanthroline. Extraction du fer(II) combiné à l'alcool isoamylique. Mesurage spectrométrique de l'absorbance à une longueur d'onde de 533 nm, de la solution rouge ainsi obtenue.

1) La désignation « matière grasse butyrique » s'applique à tous les produits décrits dans la norme FIL 68 A, *Matière grasse de lait anhydre, butteroil anhydre ou matière grasse butyrique anhydre, butteroil et matière grasse butyrique, ghee (normes de composition)*.

5 Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique très pure et exempts de fer, à l'exception des solutions étalons de fer (5.13 et 5.14). L'eau utilisée doit satisfaire aux exigences de l'ISO 3696,¹⁾ qualité 2.

NOTE — L'utilisation de réactifs Aristar, Suprapur ou Ultrex, ou de produits de pureté équivalente, est fortement recommandée pour les réactifs 5.5, 5.6, 5.7 et 5.8. Voir également la note en 8.4.

5.1 Éthanol, à environ 96 % (V/V).

Distiller, si nécessaire, dans un appareil exempt de fer.

5.2 Oxyde diéthylique.

Distiller, si nécessaire, dans un appareil exempt de fer.

5.3 Éther de pétrole, intervalle de distillation entre 40 et 60 °C.

Distiller, si nécessaire, dans un appareil exempt de fer.

5.4 Acide nitrique, concentré, $\rho_{20} = 1,42$ g/ml.

Distiller dans un appareil exempt de fer en rejetant les premiers 50 ml de distillat. Ne pas conserver l'acide nitrique dans un flacon de verre brun.

5.5 Acide sulfurique, concentré, $\rho_{20} = 1,84$ g/ml.

5.6 Sulfate de potassium, solution dans l'acide sulfurique.

Dissoudre 25 g de sulfate de potassium sec (K_2SO_4) dans l'acide sulfurique (5.5) et compléter à 100 ml avec cet acide. Filtrer la solution sans procéder à une aspiration à travers un creuset filtrant entièrement en verre, exempt de fer et de porosité P 100 (diamètre des pores compris entre 40 et 100 μm).

NOTE — Si on ne dispose pas de sulfate de potassium exempt de fer, il faut le purifier de la façon suivante.

Dissoudre 40 g de sulfate de potassium dans 500 ml d'eau et ajouter 3 ml de la solution de chlorure d'hydroxylammonium (5.9). Ajouter 10 ml de la solution de bathophénanthroline (5.11). Agiter. Extraire la solution surnageante. Répéter ces deux opérations jusqu'à ce que la couche supérieure reste incolore. Placer la solution purifiée dans une étuve propre pour faire évaporer l'eau.

5.7 Peroxyde d'hydrogène, solution, $\rho_{20} = 1,099$ à 1,103 g/ml.

Conserver au réfrigérateur.

5.8 Acétate de sodium, solution saturée.

Dissoudre 232,5 g d'acétate de sodium anhydre (CH_3COONa) dans 500 ml d'eau.

NOTE — Si on ne dispose pas d'acétate de sodium exempt de fer, il faut le purifier de la façon suivante.

Dissoudre 232,5 g d'acétate de sodium dans 500 ml d'eau. Filtrer à travers un papier-filtre. Ajouter 3 ml de la solution de chlorure d'hydroxylammonium (5.9). Ajouter 10 ml de la solution de bathophénanthroline (5.11). Agiter. Extraire la solution surnageante. Répéter ces deux opérations jusqu'à ce que la couche supérieure reste incolore.

5.9 Chlorure d'hydroxylammonium, solution.

Dissoudre 20 g de chlorure d'hydroxylammonium ($HONH_2Cl$) dans de l'eau et compléter à 100 ml. Filtrer à travers un papier-filtre. Ajouter 5 ml de la solution de bathophénanthroline (5.11). Agiter. Extraire la solution surnageante. Répéter ces deux opérations jusqu'à ce que la couche supérieure reste incolore.

NOTES

1 En général, cinq extractions sont suffisantes.

2 Si la solution n'a pas été préparée dans les 24 h avant l'emploi, il est conseillé de répéter la purification avec une solution de bathophénanthroline (5.11).

3 À la place de la solution de chlorure d'hydroxylammonium, une solution fraîchement préparée d'acide ascorbique peut être utilisée comme agent réducteur. Cette solution d'acide ascorbique peut être préparée en dissolvant 10 g d'acide ascorbique dans 100 ml d'eau. La solution doit être extraite avec la solution de bathophénanthroline exactement de la même façon que celle décrite pour la solution de chlorure d'hydroxylammonium. Elle doit être conservée au réfrigérateur. À la place de 3 ml de solution de chlorure d'hydroxylammonium, 3 ml de cette solution d'acide ascorbique peuvent être utilisés en 5.6, 5.8 et 8.3.1.4.

5.10 Alcool isoamylique (méthyl-3 butanol-1).

Distiller, si nécessaire, dans un appareil exempt de fer.

5.11 Bathophénanthroline, solution.

Dissoudre 83,1 mg de bathophénanthroline [diphényl-4,7 phénanthroline-1,10 ($C_{24}H_{16}N_2$)] dans 100 ml d'alcool isoamylique (5.10).

5.12 Permanganate de potassium, solution.

Dissoudre 100 mg de permanganate de potassium ($KMnO_4$) dans 50 ml d'eau.

5.13 Fer, solution étalon correspondant à 1 000 mg de Fe par litre.

Dissoudre 7,022 g de sulfate d'ammonium de fer(II) hexahydraté [$(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$] dans 250 ml d'eau. Ajouter 8 ml d'acide sulfurique (5.5) et refroidir à la température ambiante. Diluer à 1 000 ml avec de l'eau.

1 ml de cette solution étalon contient 1 mg de Fe.

NOTE — Des préparations contenant exactement 1 000 mg de fer par litre peuvent être utilisées à la place de sulfate d'ammonium de fer(II) hexahydraté. De telles préparations sont disponibles dans le commerce.

1) ISO 3696, *Eau à usage de laboratoire — Spécifications*. (Actuellement au stade de projet.)

5.14 Fer, solution étalon correspondant à 1 mg de Fe par litre.

Préparer cette solution le jour de l'emploi. Verser à l'aide d'une pipette 1 ml de la solution étalon de fer (5.13) dans 250 ml d'eau. Ajouter 1 ml d'acide sulfurique (5.5) et diluer avec de l'eau jusqu'à 1 000 ml.

1 ml de cette solution étalon contient 1 µg de Fe.

6 Appareillage

Conserver la verrerie propre, y compris les billes en verre (6.8), dans la solution d'acide nitrique à 10 % (*m/m*). Avant emploi, rincer trois fois avec de l'eau distillée et trois fois avec de l'eau bidistillée. Sécher, si nécessaire, en rinçant successivement avec de l'éthanol et de l'oxyde diéthylique.

Matériel courant de laboratoire, et notamment

6.1 Balance analytique.

6.2 Centrifugeuse, capable de produire une accélération radiale de 2 500*g*, avec des tubes d'au moins 150 ml de capacité.

6.3 Appareil de broyage, approprié à la nature de l'échantillon.

6.4 Tamis, à ouverture de maille de 0,5 mm, en matériau exempt de fer.

6.5 Bains d'eau.

6.6 Microbrûleurs à gaz, qui ne dégagent pas de particules contenant du fer.

NOTE — L'utilisation d'appareils à chauffage électrique est également permise.

6.7 Ballons d'attaque (Kjeldahl), d'environ 70 ml de capacité, munis de bouchons en verre rodés et portant un trait repère à 50 ml sur la partie inférieure du col.

6.8 Billes en verre, de préférence en quartz, ne cédant pas de fer durant le processus de minéralisation (8.3.1).

6.9 Éprouvettes graduées, de 5, 10 et 25 ml de capacité.

6.10 Pipettes graduées, de 1, 2 et 5 ml de capacité, graduées en 0,1 ml, conformes aux spécifications de l'ISO 835.

6.11 Pipettes à un trait, de 1, 2, 3, 4, 5, 10 et 25 ml de capacité, conformes aux spécifications de l'ISO 648, classe A.

6.12 Spectromètre, permettant de faire des lectures à 533 nm, équipé de cuves de 10 mm de parcours optique.

7 Échantillonnage

NOTE — Éviter toute contamination par le fer.

7.1 Voir ISO 707.

Conserver les récipients en verre pour l'échantillonnage dans la solution d'acide nitrique à 10 % (*m/m*). Les rincer soigneusement et les sécher avant l'emploi.

7.2 Conserver l'échantillon de façon à éviter toute détérioration et modification de sa composition.

8 Mode opératoire

NOTE — Éviter toute contamination par le fer.

8.1 Préparation de l'échantillon pour essai

8.1.1 Lait, lait écrémé et lactosérum

Porter l'échantillon à 20 ± 2 °C et mélanger avec soin. Si dans le cas du lait, la matière grasse n'est pas dispersée de façon homogène, chauffer lentement l'échantillon à 40 °C, mélanger doucement uniquement par retournements et refroidir rapidement à 20 ± 2 °C.

8.1.2 Babeurre

Si nécessaire, éliminer les grains de beurre. Porter l'échantillon à 20 ± 2 °C et mélanger avec soin juste avant de peser (8.2.1).

8.1.3 Yogourt nature et yogourt écrémé

Porter l'échantillon à 20 ± 2 °C et mélanger avec soin. Si le sérum est séparé, agiter vigoureusement juste avant de peser (8.2.1).

8.1.4 Crème

Porter l'échantillon à 20 ± 2 °C. Mélanger ou agiter soigneusement, mais pas trop vigoureusement, afin d'éviter le mousage ou le barattage.

Si la crème est très épaisse, ou si la matière grasse n'est pas dispersée uniformément, chauffer lentement à 40 °C pour faciliter le mélange.

Refroidir rapidement l'échantillon à 20 ± 2 °C. Bien agiter l'échantillon dans le récipient. Mélanger jusqu'à ce que la masse soit homogène. Fermer le récipient.

NOTE — On ne peut pas espérer obtenir des résultats corrects si l'on ne réalise pas un mélange convenable de l'échantillon ou si l'échantillon présente des signes manifestes de barattage ou d'autres anomalies.

8.1.5 Lait concentré non sucré

Bien agiter le récipient en le retournant fréquemment. Ouvrir le récipient. Verser le lait lentement dans un autre récipient en verre, pourvu d'un couvercle étanche, en prenant soin d'incorporer à l'échantillon la matière grasse ou les autres constituants

pouvant adhérer à la paroi du premier récipient. Agiter vigou- reusement et fermer le récipient.

Chauffer le récipient clos dans un bain d'eau entre 40 et 60 °C. Toutes les 15 min, sortir le récipient du bain et l'agiter forte- ment. Au bout de 2 h, retirer le récipient et le refroidir à 20 ± 2 °C. Enlever le couvercle et bien mélanger en remuant l'échantillon avec une cuillère ou une spatule.

NOTE — Si la matière grasse se sépare, on ne peut pas espérer obtenir des résultats corrects.

8.1.6 Lait concentré sucré

Ouvrir le récipient et bien mélanger le lait avec une cuillère ou une spatule, en appliquant un mouvement de rotation verticale de telle sorte que les couches supérieure et inférieure soient agitées et mélangées. Prendre soin d'incorporer à l'échantillon le lait adhérent aux parois et au fond du récipient.

Transvaser l'échantillon, aussi complètement que possible, dans un second récipient en verre, pourvu d'un couvercle étan- che, et fermer ce récipient. Chauffer le récipient clos dans un bain d'eau entre 30 et 40 °C. Refroidir à 20 ± 2 °C. Bien agiter l'échantillon dans le récipient. Mélanger jusqu'à ce que la masse soit homogène. Fermer le récipient.

Dans le cas d'un tube souple, l'ouvrir et transvaser son contenu dans un récipient en verre. Couper le tube de façon à l'ouvrir entièrement et transvaser aussi complètement que possible toute la matière adhérent à l'intérieur dans le récipient.

8.1.7 Poudre de lait entier, poudre de lait écrémé, lactosérum et babeurre secs

Transférer l'échantillon dans un récipient pourvu d'un couver- cle étanche, d'un volume environ double de celui de l'échan- tillon. Fermer le récipient immédiatement. Bien mélanger l'échan- tillon par agitations et retournements répétés du récipient.

8.1.8 Beurre

NOTE — Compte tenu d'une distribution hétérogène possible du fer dans le beurre, le fer est déterminé dans le sérum. La teneur en fer de la matière grasse, obtenue à partir du beurre selon la méthode décrite, est faible comparée à celle du sérum et peut être négligée.

Peser 100 g de l'échantillon, à 100 mg près, dans un tube de centrifugeuse sec (6.2), dont la masse a été déterminée aupara- vant. Placer le tube dans un bain d'eau à 45 ± 1 °C. Dès que le beurre est fondu, centrifuger le tube avec une accélération radiale de 2 500 g. Retirer au moyen d'une pipette, le plus pos- sible de la couche de matière grasse claire. Ajouter 10 ml d'éther de pétrole (5.3) agiter et retirer le surnageant au moyen d'une pipette. Répéter deux fois ces deux opérations. Éliminer l'éther de pétrole résiduel en chauffant dans un bain d'eau à 65 ± 1 °C. Sécher l'extérieur du tube avec du papier de net- toyage. Refroidir à 20 ± 2 °C. Peser, à 100 mg près, le tube avec son contenu. Mélanger soigneusement le contenu juste avant de peser l'échantillon pour essai (8.2.5).

8.1.9 Matières grasses butyriques

Porter l'échantillon à 40 °C, le maintenir à cette température pendant 5 min et mélanger doucement. Refroidir à 20 ± 2 °C.

8.1.10 Crème glacée

Pour des échantillons en petits emballages, enlever l'emballage et mettre l'échantillon dans un récipient pourvu d'un couvercle étanche.

Pour des échantillons prélevés dans de grands emballages ou dans de la marchandise en vrac, les conserver dans leurs réci- pients pour échantillonnage. Dans les deux cas, faire fondre l'échantillon en plaçant le récipient pour échantillon fermé dans un bain d'eau à 45 ± 1 °C durant le temps juste nécessaire pour le fluidifier. Mélanger l'échantillon par agitation. Refroidir à 20 ± 2 °C en continuant de mélanger jusqu'à refroidisse- ment complet.

8.1.11 Fromage ou fromage fondu

Enlever la croûte ou la couche superficielle de moisissures du fromage, de manière à avoir un échantillon représentatif du fro- mage tel qu'il est habituellement consommé. Broyer l'échantil- lon au moyen d'un appareil approprié (6.3). Mélanger rapide- ment toute la masse et, si possible, procéder rapidement à un nouveau broyage. (Si l'échantillon ne peut pas être broyé, bien mélanger la masse de l'échantillon.)

Transférer immédiatement l'échantillon ainsi traité, ou une par- tie représentative de celui-ci, dans un récipient pourvu d'un couvercle étanche. Analyser l'échantillon sans tarder, aussitôt que possible après le broyage. Si le fromage broyé présente un développement de moisissures indésirable ou commence à se détériorer, il ne doit pas être analysé.

8.1.12 Caséines, caséinates et coprécipités

8.1.12.1 Si la plus grande partie de l'échantillon est suffisam- ment fine pour passer à travers le tamis (6.4), on peut l'utiliser sans le broyer.

Transférer environ 50 g de l'échantillon, tel qu'il est reçu dans un récipient pourvu d'un couvercle étanche, dont la capacité est environ le double du volume de la poudre. Fermer le réci- pient immédiatement et bien mélanger l'échantillon par agita- tions et retournements répétés du récipient.

8.1.12.2 Si la plus grande partie de l'échantillon n'est pas assez fine pour passer à travers le tamis (6.4), broyer environ 50 g de l'échantillon jusqu'à ce que la plus grande partie passe à travers le tamis. Transférer toute la matière dans un récipient. Continuer comme spécifié en 8.1.12.1.

8.2 Pesée et prétraitement de l'échantillon pour essai

8.2.1 Lait, lait écrémé, lactosérum, babeurre et yogourt

Peser, à 10 mg près, dans un ballon d'attaque (6.7), 10 g de l'échantillon pour essai. Ajouter 3 ml d'acide nitrique (5.4) et 1,8 ml de la solution de sulfate de potassium (5.6). Continuer comme spécifié en 8.3.

8.2.2 Crème

Peser, à 10 mg près, dans un ballon d'attaque (6.7), 10 g de l'échantillon pour essai. Ajouter 8 ml d'acide nitrique (5.4). Chauffer le ballon dans un bain d'eau entre 80 et 90 °C durant 1 h.

Agiter vigoureusement toutes les 3 min de façon à laver la matière grasse avec l'acide nitrique. Refroidir à 40 °C et enlever, à l'aide d'une pipette, le plus possible de la couche de matière grasse.

Ajouter 15 ml d'éther de pétrole (5.3), agiter avec soin et enlever le solvant à l'aide d'une pipette. Répéter cette extraction deux fois avec de nouvelles portions de 15 ml d'éther de pétrole. Éliminer l'éther de pétrole résiduel en chauffant dans un bain d'eau à 65 °C. Refroidir à la température ambiante. Ajouter 1,8 ml de la solution de sulfate de potassium (5.6). Continuer comme spécifié en 8.3.

8.2.3 Lait concentré non sucré et lait concentré sucré

Peser, à 1 mg près, dans un ballon d'attaque (6.7) 2,5 g de l'échantillon pour essai. Ajouter 4 ml d'eau, 3 ml d'acide nitrique (5.4) et 1,8 ml de la solution de sulfate de potassium (5.6). Continuer comme spécifié en 8.3.

8.2.4 Poudre de lait entier, poudre de lait écrémé, lactosérum et babeurre secs

Peser, à 1 mg près, dans un ballon d'attaque (6.7), 1 g de l'échantillon pour essai. Ajouter 4 ml d'eau, et bien mélanger. Ajouter ensuite 3 ml d'acide nitrique (5.4) et 1,8 ml de la solution de sulfate de potassium (5.6). Continuer comme spécifié en 8.3.

8.2.5 Beurre

Peser, à 1 mg près, dans un ballon d'attaque (6.7), 2 g du sérum du beurre (8.1.8). Ajouter 3 ml d'acide nitrique (5.4) et 1,8 ml de la solution de sulfate de potassium (5.6). Continuer comme spécifié en 8.3.

8.2.6 Matières grasses butyriques

Peser, à 10 mg près, dans un ballon d'attaque (6.7), 20 g de l'échantillon pour essai fluidifié. Ajouter 4 ml d'eau, et 8 ml d'acide nitrique (5.4).

Chauffer le ballon dans un bain d'eau entre 80 et 90 °C durant 1 h. Bien agiter toutes les 3 min de façon à laver la matière grasse avec l'acide nitrique. Refroidir à 40 °C et enlever, à l'aide d'une pipette, le plus possible de la couche de la matière grasse.

Ajouter 15 ml d'éther de pétrole (5.3), agiter soigneusement, et enlever le solvant à l'aide d'une pipette. Répéter cette extraction deux fois avec de nouvelles portions de 15 ml d'éther de pétrole. Éliminer l'éther de pétrole résiduel en chauffant dans un bain d'eau à 65 °C. Refroidir à la température ambiante. Ajouter 1,8 ml de la solution de sulfate de potassium (5.6). Continuer comme spécifié en 8.3.

8.2.7 Crème glacée

Peser, à 1 mg près, dans un ballon d'attaque (6.7), 2,5 g de l'échantillon pour essai. Ajouter 3 ml d'acide nitrique (5.4) et 1,8 ml de la solution de sulfate de potassium (5.6). Continuer comme spécifié en 8.3.

8.2.8 Fromage et fromage fondu

Peser, à 1 mg près, dans un ballon d'attaque (6.7), 1 g de l'échantillon pour essai. Ajouter 4 ml d'eau, 3 ml d'acide nitrique (5.4) et 1,8 ml de la solution de sulfate de potassium (5.6). Continuer comme spécifié en 8.3.

8.2.9 Caséines, caséinates et coprécipités

Peser, à 0,1 mg près, dans un ballon d'attaque (6.7), 0,75 g, dans le cas de caséines et caséinates, et 0,35 g, dans le cas de coprécipités, de l'échantillon pour essai. Ajouter 4 ml d'eau, 3 ml d'acide nitrique (5.4) et 1,8 ml de la solution de sulfate de potassium (5.6). Continuer comme spécifié en 8.3.

8.3 Détermination

NOTE — Effectuer un essai à blanc (8.4) simultanément avec la détermination.

8.3.1 Minéralisation

8.3.1.1 Ajouter 3 billes en verre (quartz) (6.8) à la prise d'essai dans le ballon d'attaque (6.7). En opérant sous une hotte bien ventilée, placer le ballon d'attaque en position inclinée et chauffer avec un microbrûleur. Régler la hauteur de la flamme de façon à limiter la production de mousse dans le ballon. On peut laisser de la mousse se produire dans le col du ballon, mais elle ne doit pas sortir du ballon. Laisser bouillir doucement le mélange. Éviter les surchauffes locales.

8.3.1.2 Quand la solution devient brune, ajouter avec précaution 3 à 5 gouttes d'acide nitrique (5.4). Chauffer vigoureusement dès que possible. Continuer le chauffage et l'addition d'acide nitrique à raison de 5 à 20 gouttes chaque fois, en agitant le ballon de temps en temps pour enlever toute la matière adhérent à la paroi, jusqu'à ce que le mélange reste incolore. Refroidir à la température ambiante.

8.3.1.3 Ajouter, avec précaution, 2 ml d'eau et 1 ml de la solution de peroxyde d'hydrogène (5.7). Agiter et chauffer de nouveau jusqu'à émission de fumées blanches. Éviter les pertes par évaporation en laissant les vapeurs d'acide sulfurique refluer dans le col du ballon. (Si la solution devient jaune, refroidir à la température ambiante. Ajouter à nouveau 0,5 ml de la solution de peroxyde d'hydrogène, puis chauffer jusqu'à émission de fumées blanches.) Continuer le chauffage durant 45 min après le commencement de l'émission de fumées blanches. Refroidir à la température ambiante et ajouter, avec précaution, de l'eau jusqu'à obtention d'un volume total d'environ 20 ml.

8.3.1.4 Ajouter 1 à 2 gouttes de la solution de permanganate de potassium (5.12) jusqu'à ce que le mélange devienne légèrement pourpre. Ajouter alors 3 ml de la solution de chlorure

d'hydroxylammonium (5.9) et bien mélanger. Ajouter 20 ml de la solution d'acétate de sodium (5.8) et environ 15 ml d'eau. Bien mélanger et laisser refroidir à la température ambiante. Compléter au trait repère de 50 ml avec de l'eau.

8.3.2 Développement de la coloration

À l'aide d'une pipette, ajouter 4 ml de la solution de bathophé-nanthroline (5.11) au contenu du ballon d'attaque (voir 8.3.1.4) et fermer le ballon avec un bouchon. Secouer vigoureusement le ballon pendant 3 min, en s'assurant que le bouchon reste en place.

Refroidir dans de l'eau courante durant au moins 10 min et incliner avec précaution le ballon plusieurs fois après refroidissement. Maintenir le flacon dans un bain d'eau à 25 ± 1 °C durant 1 h.

8.4 Essai à blanc

En même temps que la détermination, effectuer un essai à blanc en utilisant tous les réactifs et 10 ml d'eau au lieu de la prise d'essai. Pendant la minéralisation, utiliser les mêmes quantités d'acide nitrique (5.4) et de la solution de peroxyde d'hydrogène (5.7) que pour la minéralisation de la prise d'essai.

NOTE — La valeur de l'absorbance de la solution de l'essai à blanc doit correspondre à moins de 0,5 µg de fer. Si l'absorbance de la solution de l'essai à blanc correspond à plus de 0,5 µg de fer, tous les réactifs doivent être vérifiés.

8.5 Mesures spectrométriques

Transvaser la couche (supérieure) d'alcool isoamylique à l'aide d'une pipette, dans une cuve de 10 mm de parcours optique (6.12). Mesurer les absorbances des couches d'alcool isoamylique de la solution d'essai (8.3) et de la solution de l'essai à blanc (8.4) par rapport à celle de l'eau, à la longueur d'onde de 533 nm. Soustraire la valeur de la solution de l'essai à blanc de celle de la solution d'essai.

8.6 Nombre de déterminations

Effectuer toutes les déterminations, y compris l'essai à blanc (8.4) en double.

8.7 Courbe d'étalonnage

8.7.1 Introduire à l'aide d'une pipette, respectivement, 0 (terme zéro); 1; 2; 3; 5 et 10 ml de la solution étalon de fer (5.14) dans la série de six ballons d'attaque (6.7). Diluer avec de l'eau jusqu'à environ 10 ml. Ajouter, dans chaque ballon, 3 ml d'acide nitrique (5.4) et 1,8 ml de la solution de sulfate de potassium (5.6).

8.7.2 Effectuer la minéralisation comme décrit en 8.3.1 et le développement de la coloration comme décrit en 8.3.2.

8.7.3 Transvaser chaque couche (supérieure) d'alcool isoamylique à l'aide d'une pipette, dans une cuve de 10 mm de parcours optique (6.12). Mesurer l'absorbance de chaque couche d'alcool isoamylique par rapport à celle de l'eau, à la longueur d'onde de 533 nm. Soustraire la valeur de l'essai à blanc de chacune des valeurs obtenues pour les autres solutions.

8.7.4 Tracer la courbe donnant l'absorbance en fonction de la quantité de fer contenue dans les solutions étalons diluées.

8.7.5 Vérifier chaque semaine la courbe d'étalonnage.

9 Expression des résultats

9.1 Mode de calcul et formules

9.1.1 Produits autres que le beurre

La teneur en fer exprimée en milligrammes par kilogramme est égale à

$$\frac{m_1}{m_0}$$

où

m_0 est la masse, en grammes, de la prise d'essai;

m_1 est la masse, en microgrammes, de fer, lue sur la courbe d'étalonnage (ou calculée à partir de la courbe de régression obtenue par la méthode des moindres carrés).

9.1.2 Beurre

Calculer la teneur en fer du sérum de beurre décrit en 9.1.1.

La teneur en fer du beurre, exprimée en milligrammes par kilo-gramme est égale à

$$\frac{m_3}{m_2} \times w_{\text{Fe}}$$

où

m_2 est la masse, en grammes, du beurre transvasé dans le tube de la centrifugeuse (voir 8.1.8);

m_3 est la masse, en grammes, du sérum de beurre obtenu en 8.1.8;

w_{Fe} est la teneur en fer, en milligrammes par kilogramme, du sérum de beurre, calculée comme décrit en 9.1.1.

9.1.3 Résultat

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des résultats obtenus, si les conditions de répétabilité sont remplies (voir 9.2).

Exprimer le résultat avec le nombre de décimales indiqué dans le tableau.

9.2 Répétabilité

La différence entre les résultats des déterminations en double (résultats obtenus presque simultanément ou rapidement l'un après l'autre par le même analyste) ne doit pas être supérieure à la valeur de répétabilité donnée dans le tableau pour le produit analysé.

Tableau — Expression des résultats et répétabilité

Produit	Expression des résultats au plus proche	Répétabilité
	mg/kg	mg/kg
Lait	0,001	0,02
Lait écrémé	0,001	0,02
Lactosérum	0,001	0,02
Babeurre	0,001	0,03
Yogourt	0,001	0,03
Lait concentré non sucré	0,01	0,1
Lait concentré sucré	0,01	0,1
Lactosérum sec, babeurre sec	0,01	0,2
Poudre de lait entier	0,01	0,2
Poudre de lait écrémé	0,01	0,2
Crème	0,001	0,02
Beurre	0,001	0,03
Matières grasses butyriques	0,001	0,005
Crème glacée	0,01	0,2
Fromage et fromage fondu	0,01	0,2
Caséines, caséinates et coprecipités	0,1	0,4

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 tous 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.

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 6732:1985

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/cfe0856b-57bc-4169-a875-37930e892ecc/iso-6732-1985>