
**Viande et produits à base de viande —
Détermination de la teneur en acide
L-(+)-glutamique — Méthode de référence**

*Meat and meat products — Determination of L-(+)-glutamic acid content —
Reference method*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 4134:1999](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b0ae2671-085e-4120-9854-4819e70b0e0d/iso-4134-1999)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b0ae2671-085e-4120-9854-
4819e70b0e0d/iso-4134-1999](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b0ae2671-085e-4120-9854-4819e70b0e0d/iso-4134-1999)



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 en général 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. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 3.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 4134 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 6, *Viande et produits à base de viande*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 4134:1978), dont elle constitue une révision technique.

L'annexe A constitue un élément normatif de la présente Norme internationale. Les annexes B et C sont données uniquement à titre d'information.

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b0ae2671-085e-4120-9854-4819e70b0e0d/iso-4134-1999>

© ISO 1999

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'éditeur.

Organisation internationale de normalisation
Case postale 56 • CH-1211 Genève 20 • Suisse
Internet iso@iso.ch

Imprimé en Suisse

Viande et produits à base de viande — Détermination de la teneur en acide L-(+)-glutamique — Méthode de référence

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode de référence pour la détermination de la teneur en acide L-(+)-glutamique des viandes et produits à base de viande, y compris la volaille.

2 Références normatives

Les documents normatifs suivants contiennent des dispositions qui, par suite de la référence qui y est faite, constituent des dispositions valables pour la présente Norme internationale. Pour les références datées, les amendements ultérieurs ou les révisions de ces publications ne s'appliquent pas. Toutefois, les parties prenantes aux accords fondés sur la présente Norme internationale sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer les éditions les plus récentes des documents normatifs indiqués ci-après. Pour les références non datées, la dernière édition du document normatif en référence s'applique. Les membres de l'ISO et de la CEI possèdent le registre des Normes internationales en vigueur.

ISO 648, *Verrerie de laboratoire — Pipettes à un trait.* ^{ISO 4134:1999}

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b0ae2671-085e-4120-9854-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b0ae2671-085e-4120-9854-4819-7816081/iso-4134-1999)

ISO 835-2, *Verrerie de laboratoire — Pipettes graduées — Partie 2: Pipettes sans temps d'attente.*

ISO 1042, *Verrerie de laboratoire — Fioles jaugées à un trait.*

ISO 1442, *Viande et produits à base de viande — Détermination de l'humidité (Méthode de référence).*

3 Terme et définition

Pour les besoins de la présente Norme internationale, le terme et la définition suivants s'appliquent.

3.1

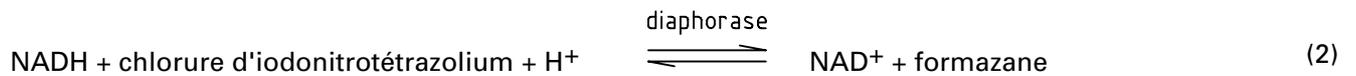
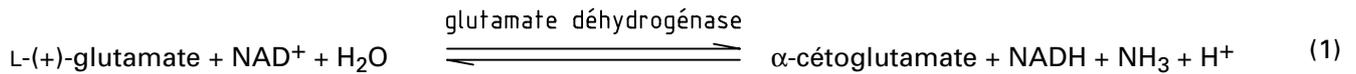
teneur en acide L-(+)-glutamique des viandes et produits à base de viande

fraction massique d'acide L-(+)-glutamique déterminée selon la méthode décrite dans la présente Norme internationale

NOTE La teneur en acide L-(+)-glutamique est exprimée en pourcentage.

4 Principe

L'acide L-(+)-glutamique présent dans une prise d'essai est extrait au moyen d'une solution d'acide perchlorique à une température de 0 °C. L'extrait est centrifugé, décanté et filtré, puis le pH est ajusté à 10,0. La dinucléotide nicotinamide adénine (NAD) est réduite par l'acide L-(+)-glutamique en présence de glutamate déshydrogénase [équation (1)]. La dinucléotide nicotinamide adénine réduite résultante (NADH) réagit avec du chlorure d'iodonitrotétrazolium en présence de diaphorase [équation (2)]. La formazane résultante est mesurée à une longueur d'onde de 492 nm et la teneur en acide L-(+)-glutamique est calculée.



5 Réactifs

Sauf indication différente, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

Conserver toutes les solutions, sauf les solutions des composés minéraux (5.2 et 5.3), dans des récipients fermés en verre brun, soigneusement nettoyés puis traités à la vapeur ou stérilisés.

5.1 Eau bi-distillée, ou eau distillée et déminéralisée obtenue en réalisant la distillation finale dans un appareil entièrement en verre.

NOTE L'eau distillée une seule fois peut contenir des traces d'ions métalliques et l'eau déminéralisée peut contenir des micro-organismes. Les ions métalliques peuvent provoquer une diminution de l'activité des enzymes, tandis que les micro-organismes peuvent donner lieu à une activité enzymatique secondaire non spécifique qui pourrait affecter défavorablement les résultats de l'analyse.

5.2 Acide perchlorique dilué, $c(\text{HClO}_4) = 1,0 \text{ mol/l}$.

AVERTISSEMENT — Le contact avec un matériau oxydable ou combustible ou avec des agents déshydratants ou réducteurs peut entraîner une inflammation ou une explosion. Il convient que les personnes utilisant cet acide soient familiarisées avec les risques correspondants. Voir les pratiques de sécurité mentionnées à l'annexe A.

Diluer 8,6 ml d'acide perchlorique à 70 % (en masse), $\rho_{20} = 1,67 \text{ g/ml}$, à 100 ml avec de l'eau (5.1). Ajouter l'acide perchlorique dans la plus grande partie de l'eau avant dilution finale au volume et homogénéiser.

5.3 Hydroxyde de potassium, solution, $c(\text{KOH}) = 2 \text{ mol/l}$.

Dissoudre 56,1 g d'hydroxyde de potassium dans de l'eau (5.1). Laisser refroidir, puis compléter à 500 ml et homogénéiser.

5.4 Phosphate-triéthanolamine, solution tampon, $\text{pH} = 8,6$.

Dissoudre 1,86 g de chlorhydrate de triéthanolamine dans de l'eau (5.1) et ajuster le pH à 8,6 au moyen de la solution d'hydroxyde de potassium (5.3), en se servant d'un pH-mètre. Ajouter 0,68 g d'octylphénol-décaéthylène-glycoléther (par exemple Triton X-100). Compléter à 100 ml avec de l'eau puis homogénéiser (solution A).

Dissoudre 0,86 g d'hydrogénophosphate dipotassique (K_2HPO_4) et 7 mg de dihydrogéoorthophosphate de potassium (KH_2PO_4) dans de l'eau (5.1). Compléter à 100 ml avec de l'eau puis homogénéiser (solution B).

Mélanger 20 ml de solution A avec 5 ml de la solution B.

La solution reste stable pendant 2 mois si elle est conservée à une température comprise entre 0 °C et 6 °C.

5.5 Dinucléotide nicotinamide adénine (NAD), solution.

Peser 25 mg de NAD dans une fiole étroite bouchée. Ajouter 5,0 ml d'eau (5.1) et homogénéiser.

Cette solution reste stable pendant 2 mois si elle est conservée à l'abri de la lumière et à une température comprise entre 0 °C et 6 °C.

5.6 Chlorure d'iodonitrotétrazolium (INT) [chlorure de (4-iodophényl) -2 (4-nitrophényl) -3 phényltétrazolium-5], solution.

Peser 30 mg d'INT dans une fiole étroite bouchée, en verre brun. Ajouter 50 ml d'eau (5.1) et homogénéiser.

Cette solution reste stable pendant 4 semaines si elle est conservée à l'abri de la lumière et à une température comprise entre 0 °C et 6 °C.

5.7 Diaphorase (lipoamine déhydrogénase, EC¹ 1.8.1.4), solution.

Dissoudre 3 mg de diaphorase lyophilisée dans 1 ml d'eau (5.1) et homogénéiser.

Cette solution reste stable pendant 4 semaines si elle est conservée à une température comprise entre 0 °C et 6 °C.

5.8 Glutamate déhydrogénase (GLDH) (EC¹ 1.4.1.3), solution à 10 mg/ml, exempte de sulfate d'ammonium, d'acide éthylène dinitrilotétraacétique (EDTA) et de glutaminase.

Cette solution est fournie telle quelle (par exemple en quantités de 1,0 ml) et reste stable pendant 12 mois si elle est conservée à une température comprise entre 0 °C et 6 °C.

5.9 Acide L-(+)-glutamique, solution étalon.

Dissoudre 50,0 mg d'acide L-(+)-glutamique (C₅H₉O₄N) dans 25 ml d'eau (5.1). Ajuster le pH à 7,0 au moyen de la solution d'hydroxyde de potassium (5.3). Diluer à 50 ml et homogénéiser.

Conserver cette solution à une température comprise entre 0 °C et 6 °C et la diluer à 1 + 49 peu de temps avant usage.

[ISO 4134:1999](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b0ae2671-085e-4120-9854-4819e70b0e0d/iso-4134-1999)

6 Appareillage

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b0ae2671-085e-4120-9854-4819e70b0e0d/iso-4134-1999>

Matériel courant de laboratoire et, en particulier, ce qui suit.

6.1 Appareil mécanique ou électrique, capable d'homogénéiser l'échantillon pour laboratoire.

Cet appareil comprend un couteau rotatif à grande vitesse ou un hachoir muni d'une plaque avec des trous n'excédant pas 4,0 mm de diamètre.

6.2 Mélangeur de laboratoire.

6.3 Centrifugeuse de laboratoire, munie de tubes de centrifugeuse de 50 ml ou 100 ml, ayant une accélération radiale d'environ 2 000 g_n.

6.4 pH-mètre.

6.5 Papier-filtre plissé, de diamètre 15 cm environ, vitesse moyenne ou élevée.

6.6 Fioles jaugées à un trait, de capacités 100 ml et 250 ml, conformes à l'ISO 1042, classe B.

6.7 Pipettes à un trait, de capacités 100 ml, 50 ml et 25 ml, conformes à l'ISO 648, classe B.

¹) Le numéro EC se réfère au «Enzyme Classification Number» tel qu'il est donné dans: The International Union of Biochemistry, *Enzyme nomenclature*, Elsevier, Amsterdam, 1965.

6.8 Pipettes (automatiques) graduées, permettant de délivrer 2,50 ml, 0,50 ml, 0,20 ml et 0,05 ml, conformes à l'ISO 835-2, classe A.

6.9 Spatule étroite, en plastique, courbée à 90°, destinée à mélanger le contenu des cuves de photomètre.

6.10 Colorimètre photoélectrique, muni d'un filtre ayant son absorbance maximale à une longueur d'onde de 492 nm, ou **spectromètre**.

6.11 Cuves de photomètre, de 10 mm de trajet optique.

6.12 Balance analytique, précise à 0,1 mg près.

7 Échantillonnage

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale. Une méthode d'échantillonnage recommandée est donnée dans l'ISO 3100-1.

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon vraiment représentatif, non endommagé ou modifié lors du transport et de l'entreposage.

Partir d'un échantillon représentatif d'au moins 200 g. Le conserver de manière à éviter toute détérioration ou changement de la composition.

8 Préparation de l'échantillon pour essai

Homogénéiser l'échantillon pour laboratoire à l'aide de l'appareil approprié (6.1). Veiller à ce que la température du matériau échantillon ne dépasse pas 25 °C. En cas d'utilisation d'un hachoir, faire passer l'échantillon au moins deux fois dans l'appareil.

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b0ae2671-085e-4120-9854-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b0ae2671-085e-4120-9854-4819e79b0e01/iso-4134-1999)

Placer l'échantillon préparé dans un récipient hermétique convenable. Fermer le récipient et le stocker de manière à éviter toute détérioration ou changement de la composition. Analyser l'échantillon aussi rapidement que possible, mais toujours dans les 24 h qui suivent l'homogénéisation.

9 Mode opératoire

NOTE S'il est demandé de vérifier que l'on satisfait aux exigences données en ce qui concerne la limite de répétabilité (11.2), effectuer deux déterminations séparées conformément à 9.1 à 9.3.

9.1 Prise d'essai

Peser, à 0,01 g près, environ 50 g de l'échantillon pour essai (article 8) et transférer cette prise d'essai dans le récipient du mélangeur de laboratoire (6.2).

9.2 Préparation de l'extrait

9.2.1 Ajouter 100 ml de la solution d'acide perchlorique dilué (5.2) à une température de 0 °C, et homogénéiser.

9.2.2 Transférer une partie du produit homogénéisé dans un tube de la centrifugeuse (6.3). Centrifuger durant 10 min sous une accélération de 2 000 g_n . Après avoir soigneusement mis de côté la couche de matière grasse, décanter le liquide surnageant sur un papier-filtre plissé (6.5) et recueillir le filtrat dans une fiole conique de 200 ml. Rejeter les premiers 10 ml du filtrat.

9.2.3 Transvaser à la pipette (6.7) 50 ml de la solution (qui ne devrait être que légèrement trouble) dans un bécher de 100 ml. Ajuster le pH à 10,0 au moyen de la solution d'hydroxyde de potassium (5.3) et en se servant d'un pH-mètre (6.4).

9.2.4 Transvaser quantitativement le contenu du bécher dans une fiole jaugée de 100 ml (6.6). Compléter au trait repère avec de l'eau (5.1) et agiter.

9.2.5 Refroidir la solution dans la glace durant 10 min et filtrer sur un papier-filtre plissé (6.5). Rejeter les premiers 10 ml du filtrat.

9.2.6 Introduire 25 ml ou un autre volume approprié (V) du filtrat, prélevés à la pipette, dans une fiole jaugée de 250 ml (6.6) et compléter au trait repère avec de l'eau (5.1).

NOTE Il convient de choisir le volume V de façon que la concentration en acide L-(+)-glutamique soit inférieure à 30 mg/l.

9.3 Détermination

9.3.1 Porter la solution tampon (5.4) et le filtrat (9.2.6) à une température comprise entre 20 °C et 25 °C.

Introduire, à la pipette, dans chacune des deux cuves de photomètre (6.11), 2,50 ml de la solution tampon (5.4), 0,20 ml de la solution de NAD (5.5), 0,20 ml de la solution d'INT (5.6) et 0,05 ml de la solution de diaphorase (5.7).

Après l'ajout d'INT, réduire au strict minimum l'exposition du mélange réactif à la lumière.

Ajouter, à la pipette, 0,50 ml du filtrat (9.2.6) dans l'une des cuves; la solution obtenue est la solution d'essai.

Ajouter, à la pipette, 0,50 ml d'eau (5.1) dans l'autre cuve; la solution obtenue est la solution à blanc.

Mélanger les solutions à l'aide de la spatule en plastique (6.9) et lire l'absorbance A_1 de chaque cuve, à la longueur d'onde de 492 nm, par rapport à l'eau. La température de la solution doit être comprise entre 20 °C et 25 °C.

9.3.2 Introduire, à la pipette, dans chacune des deux cuves, 0,05 ml de la solution de GLDH (5.8). Mélanger le contenu des cuves, en agitant de haut en bas avec la spatule.

Au bout de 10 min à 15 min, lire l'absorbance A_2 de chaque cuve, à la longueur d'onde de 492 nm, par rapport à l'eau, et ensuite toutes les 2 min jusqu'à l'obtention d'une augmentation constante de l'absorbance. Tracer un graphique en portant l'absorbance en fonction du temps. Obtenir par extrapolation les valeurs de l'absorbance au moment du début de la réaction (voir l'annexe B).

9.3.3 Répéter les opérations décrites en 9.3.1 et 9.3.2, mais en remplaçant, dans la première cuve, les 0,50 ml de filtrat (9.2.6) par 0,50 ml de la solution étalon d'acide L-(+)-glutamique (5.9).

9.3.4 Déterminer la teneur en humidité de l'échantillon pour essai conformément à l'ISO 1442.

10 Calcul et expression des résultats

10.1 Différence d'absorbance de la solution étalon

Calculer la différence d'absorbance de la solution étalon à l'aide de l'équation suivante:

$$\Delta A_s = (A_{2s} - A_{1s}) - (A_{2b} - A_{1b})$$

où

ΔA_s est la différence d'absorbance pour la solution étalon;

A_{1b} est l'absorbance, mesurée en 9.3.3 (selon 9.3.1), de la solution à blanc;

A_{2b} est l'absorbance, mesurée en 9.3.3 (selon 9.3.2), de la solution à blanc;

A_{1s} est l'absorbance, mesurée en 9.3.3 (selon 9.3.1), de la solution étalon;

A_{2s} est l'absorbance, mesurée en 9.3.3 (selon 9.3.2), de la solution étalon.

10.2 Différence d'absorbance de la solution d'essai

Calculer la différence d'absorbance de la solution d'essai à l'aide de l'équation suivante:

$$\Delta A = (A_2 - A_1) - (A_{2b} - A_{1b})$$

où

- ΔA est la différence d'absorbance pour la solution d'essai;
- A_1 est l'absorbance, mesurée en 9.3.1, de la solution d'essai;
- A_2 est l'absorbance, mesurée en 9.3.2, de la solution d'essai;
- A_{1b} est l'absorbance, mesurée en 9.3.1, de la solution à blanc;
- A_{2b} est l'absorbance, mesurée en 9.3.2, de la solution à blanc.

10.3 Teneur en acide L-(+)-glutamique

Calculer la teneur en acide L-(+)-glutamique à l'aide de l'équation suivante:

$$w_g = \frac{\Delta A}{\Delta A_s} \times V \left(\frac{100}{m} + \frac{w_m}{100} \right)$$

où

- w_g est la valeur numérique de la teneur en acide L-(+)-glutamique, en pourcentage (en masse) de l'échantillon pour essai sec;
- ΔA est la différence d'absorbance pour la solution d'essai (10.2);
- ΔA_s est la différence d'absorbance pour la solution étalon (10.1);
- V est la valeur numérique du volume, en millilitres, du filtrat extrait en 9.2.6;
- w_m est la valeur numérique de la teneur en humidité (9.3.4), en pourcentage (en masse) de l'échantillon;
- m est la valeur numérique de la masse, en grammes, de la prise d'essai (9.1).

NOTE Une explication complète de la dérivée de l'équation est donnée à l'annexe C.

Arrondir le résultat à 0,01 % près.

11 Fidélité

11.1 Essais interlaboratoires

La fidélité de la méthode a été établie à partir d'essais interlaboratoires conformément à l'ISO 5725²⁾.

Les résultats de ces essais ont été publiés (voir les références [5] et [6]). Les valeurs dérivées de ces essais peuvent ne pas s'appliquer aux plages de concentrations ou matrices autres que celles données.

²⁾ L'ISO 5725:1986 (à présent annulée) a été utilisée pour obtenir les valeurs de fidélité.

11.2 Répétabilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels indépendants, obtenus à l'aide de la même méthode sur un matériau identique soumis à l'essai dans le même laboratoire par le même opérateur utilisant le même appareillage dans un court intervalle de temps, n'excédera que dans 5 % des cas au plus la valeur de 0,02 % (en masse) pour des teneurs en acide L-(+)-glutamique allant jusqu'à 0,14 %.

11.3 Reproductibilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels indépendants, obtenus à l'aide de la même méthode sur un matériau identique soumis à l'essai dans des laboratoires différents par des opérateurs différents utilisant des appareillages différents, n'excédera que dans 5 % des cas au plus la valeur de 0,04 % (en masse) pour des teneurs en acide L-(+)-glutamique allant jusqu'à 0,14 %.

12 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit indiquer:

- tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon;
- la méthode d'échantillonnage utilisée, si elle est connue;
- la méthode d'essai utilisée, avec la référence à la présente Norme internationale;
- tous les détails opératoires non prévus dans la présente Norme internationale, ou considérés comme facultatifs, ainsi que les détails sur les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur le(les) résultat(s) d'essai;
- le résultat d'essai obtenu, ou, si la répétabilité a été vérifiée, les deux résultats d'essai.

[ISO 4134:1999](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b0ae2671-085e-4120-9854-4819e70b0e0d/iso-4134-1999)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b0ae2671-085e-4120-9854-4819e70b0e0d/iso-4134-1999>