

NORME
INTERNATIONALE

ISO
15174

FIL
176

Première édition
2002-09-01

**Lait et produits laitiers — Coagulants
microbiens — Détermination de l'activité
totale de coagulation du lait**

*Milk and milk products — Microbial coagulants — Determination of total
milk-clotting activity*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 15174:2002

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a6f95aca-042e-4014-a005-f1d1bb1a6752/iso-15174-2002>



Numéros de référence
ISO 15174:2002(F)
FIL 176:2002(F)

© ISO et FIL 2002

PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO et la FIL déclinent toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO et les comités nationaux de la FIL. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central de l'ISO à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 15174:2002](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a6f95aca-042e-4014-a005-f1d1bb1a6752/iso-15174-2002)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a6f95aca-042e-4014-a005-f1d1bb1a6752/iso-15174-2002>

© ISO et FIL 2002

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 soit de l'ISO soit de la FIL à l'adresse respective ci-après.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Fédération Internationale de Laiterie
Diamant Building • Boulevard Auguste Reyers 80 • B-1030 Bruxelles
Tel. + 32 2 733 98 88
Fax + 32 2 733 04 13
E-mail info@fil-idf.org
Web www.fil-idf.org

Version française parue en 2003

Publié en Suisse

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.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. 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.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 15174|FIL 176 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*, et la Fédération internationale de laiterie (FIL), en collaboration avec l'AOAC International. Elle est publiée conjointement par l'ISO et la FIL, et séparément par l'AOAC International.

[ISO 15174:2002](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a6f95aca-042e-4014-a005-f1d1bb1a6752/iso-15174-2002)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a6f95aca-042e-4014-a005-f1d1bb1a6752/iso-15174-2002>

Avant-propos

La **FIL (Fédération internationale de laiterie)** est une fédération mondiale du secteur laitier avec un Comité National dans chacun de ses pays membres. Chaque Comité National a le droit de faire partie des Comités permanents de la FIL auxquels sont confiés les travaux techniques. La FIL collabore avec l'ISO et avec l'AOAC International pour l'élaboration de méthodes normalisées d'analyse et d'échantillonnage pour le lait et les produits laitiers.

Les projets de Normes internationales adoptés par les Équipes d'Action et les Comités permanents sont soumis aux Comités Nationaux pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 50 % au moins des Comités Nationaux votants.

L'ISO 15174|FIL 176 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*, et la Fédération internationale de laiterie (FIL), en collaboration avec l'AOAC International. Elle est publiée conjointement par l'ISO et la FIL et séparément par l'AOAC International.

L'ensemble des travaux a été confié à l'Équipe d'Action mixte ISO/FIL/AOAC, *Enzymes en fromagerie*, du Comité permanent chargé des *Composants principaux du lait et de la caractérisation des propriétés physiques*, sous la conduite de ses chefs de projet, Mme M. Harboe (DK) et M. C. Repelius (NL).

Cette seconde édition annule et remplace la première édition de la FIL 176.

ITIH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 15174:2002](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a6f95aca-042e-4014-a005-f1d1bb1a6752/iso-15174-2002)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a6f95aca-042e-4014-a005-f1d1bb1a6752/iso-15174-2002>

Introduction

Les coagulants microbiens proviennent de différentes sources microbiennes, dont les plus courantes sont le *Rhizomucor miehei* (CE 3.4.23.23), le *Rhizomucor pusillus* (CE 3.4.23.23) et la *Cryphonectria parasitica* (CE 3.4.23.22, autrefois appelée *Endothia parasitica*). Chacune de ces enzymes présente des caractéristiques spécifiques sous l'angle de son activité de coagulation du lait et de ses propriétés lors de la fabrication du fromage. Il existe des différences de sensibilité à la chaleur, de sensibilité au pH, de sensibilité aux ions de calcium et un effet sur la rhéologie du gel de lait formé. Les coagulants microbiens sont produits par un nombre limité de fabricants, chacun d'entre eux ayant son propre étalon de référence pour le mesurage de l'activité de coagulation du lait de ses produits. Jusqu'à présent, il n'existait pour ces enzymes aucun étalon de référence reconnu à l'échelle internationale et permettant la caractérisation d'échantillons de ces produits microbiens par rapport à un étalon possédant une activité de coagulation du lait connue. Pour des raisons économiques, il est donc hautement souhaitable de définir une méthode de détermination de l'activité totale de coagulation du lait des coagulants microbiens par rapport à un étalon de référence reconnu à l'échelle internationale. Pour des raisons pratiques, il a été décidé d'utiliser l'enzyme *Rhizomucor miehei* comme étalon de référence pour tous les types de coagulants microbiens.

Cette méthode est conforme à l'essai d'activité de coagulation relative pour présures bovines décrit dans la norme FIL 157.

Une détermination qualitative des coagulants microbiens présents dans un échantillon est donnée à l'Annexe A de la norme FIL 110B:1997. En présence de mélanges de différentes enzymes de coagulation du lait, il est impossible de déterminer correctement l'activité totale de coagulation du lait pour l'échantillon en question.

[ISO 15174:2002](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a6f95aca-042e-4014-a005-f1d1bb1a6752/iso-15174-2002)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a6f95aca-042e-4014-a005-f1d1bb1a6752/iso-15174-2002>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 15174:2002

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a6f95aca-042e-4014-a005-f1d1bb1a6752/iso-15174-2002>

Lait et produits laitiers — Coagulants microbiens — Détermination de l'activité totale de coagulation du lait

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale décrit une méthode permettant de comparer l'activité totale de coagulation du lait d'un échantillon de coagulant microbien à l'activité coagulante d'un étalon de référence de coagulant microbien reconnu à l'échelle internationale, sur un substrat de lait étalon préparé avec une solution de chlorure de calcium à 0,5 g de chlorure de calcium par litre de solution (pH ≈ 6,5).

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*
<https://standards.iso.org/standards/catalog/standards/sist/a6f95aca-042e-4014-a005-f1d1bb1a6752/iso-15174-2002>

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

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

3.1

activité totale de coagulation du lait de la poudre étalon de référence de coagulant microbien reconnue à l'échelle internationale (*Rhizomucor miehei*)

quantité d'activité établie par rapport à la poudre étalon de référence de présure de veau reconnue à l'échelle internationale

NOTE 1 Pour le premier lot, elle a été définie à 1 000 Unités Internationales de Coagulation du Lait par gramme (IMCU/g) par rapport à un substrat de lait étalon au pH de 6,5 (voir FIL 157). De futures préparations d'étalons de référence seront réalisées par rapport aux étalons de référence antérieurs

NOTE 2 L'activité totale de coagulation du lait de la poudre étalon de référence de coagulant microbien est d'environ 1 000 IMCU/g, mais l'activité réelle par rapport à celle de la poudre de contrôle de présure bovine reconnue à l'échelle internationale est mentionnée sur les étiquettes des ampoules en verre.

NOTE 3 L'activité protéolytique totale (coagulation du lait) de la poudre étalon de référence de coagulant microbien est vérifiée sur un substrat à base d'hexapeptide synthétique, tous les deux ans, par le NIZO¹⁾.

1) Netherlands Institute for Dairy Research (NIZO), P.O. Box 20, NL-6710 BA Ede, Pays-Bas.

4 Principe

Le temps requis pour observer visuellement l'apparition d'une floculation du lait emprésuré est déterminé. L'activité totale de coagulation du lait d'un échantillon de coagulant microbien est comparée avec celle de la poudre étalon de référence de coagulant microbien sur un substrat de lait étalon préparé avec une solution de chlorure de calcium à 0,5 g de chlorure de calcium par litre de solution (pH \approx 6,5).

5 Réactifs et produits

Sauf indication contraire, n'utiliser que des réactifs de qualité analytique reconnue, de l'eau distillée ou déminéralisée ou de l'eau d'une pureté équivalente.

5.1 Solution tampon à pH 5,5.

À l'aide d'une pipette (6.1), ajouter 10,0 ml d'acide acétique (CH_3COOH) à 1 mol/l à 10,0 g d'acétate de sodium trihydraté ($\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$) et mélanger. Compléter à 1 000 ml avec de l'eau. Au besoin, ajuster le pH à 5,5.

5.2 Solution mère de chlorure de calcium, $c(\text{CaCl}_2) = 500$ g/l.

Des solutions de chlorure de calcium à la concentration exacte requise de 500 g de chlorure de calcium par litre de solution et avec l'indication de la densité effective sont disponibles dans le commerce²⁾. Conserver la solution selon les instructions du fabricant.

Avant utilisation, porter la solution mère de chlorure de calcium à température ambiante (18 °C à 22 °C). Vérifier tous les ans sa concentration par titration à l'aide d'EDTA (acide éthylène diamine tétracétique).

5.3 Solution d'essai de chlorure de calcium, $c(\text{CaCl}_2) = 0,5$ g/l.

Utiliser la masse volumique de la solution mère de chlorure de calcium (5.2) pour calculer la masse de chlorure de calcium nécessaire pour obtenir une quantité finale de 0,5 g de chlorure de calcium par litre de solution d'essai. [Il convient que la masse de la solution soit équivalente à l'addition de 2,00 ml de solution mère avec une concentration exacte de $c(\text{CaCl}_2) = 500$ g/l, auquel cas la masse de la solution est \approx 2,70 g.]

Il est recommandé de peser la solution mère de chlorure de calcium (5.2) pour pouvoir préparer la solution d'essai, car la solution visqueuse est difficile à pipetter.

Dans une fiole jaugée à un trait de 2 000 ml de capacité, peser, à 0,01 g près, 2,70 g de solution mère de chlorure de calcium (5.2) à concentration connue avec précision, à température ambiante (18 °C à 22 °C). Compléter jusqu'au trait avec de l'eau et mélanger. La solution de chlorure de calcium doit être fraîchement préparée le jour même de son utilisation.

En alternative, une solution intermédiaire de chlorure de calcium à 50 g/l peut être préparée et diluée davantage avant emploi.

5.4 Poudres de lait à faible teneur en matière grasse, séchées par atomisation à basse température, présentant une bonne coagulation et une bonne qualité bactériologique.

NOTE Des poudres de lait à faible teneur en matière grasse, séchées par atomisation à basse température et conformes à ces exigences sont disponibles dans le commerce^{1), 2), 3)}.

2) Chr. Hansen's A/S, 1-27 Jernholmen, DK-2650 Hvidovre, Danemark.

3) DSM Food Specialities, Dairy Ingredients Group, P.O. Box 1, NL-2600 MA Delft, Pays-Bas.

Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuvent ou recommandent l'emploi exclusif des produits ainsi désignés.

5.5 Poudre étalon de référence de coagulant microbien (*Rhizomucor miehei*), contenue dans des ampoules en verre de 2,7 g.

L'activité totale de coagulation du lait est indiquée avec exactitude sur les étiquettes des ampoules ($\approx 1\ 000$ IMCU/g).

Conserver la poudre étalon de référence de coagulant microbien à une température de $-18\ ^\circ\text{C}$, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Pour de courtes périodes, par exemple pendant le transport, la poudre peut être conservée à température ambiante.

L'activité protéolytique totale de la poudre étalon de référence de coagulant microbien est vérifiée tous les deux ans par le NIZO¹⁾, sur un substrat à base d'hexapeptide synthétique.

La poudre étalon de référence de coagulant microbien est un étalon de référence primaire; un étalon liquide secondaire peut être réalisé et utilisé si l'obtention du même résultat est garantie.

La poudre étalon de référence de coagulant microbien, reconnue à l'échelle internationale, est commercialement disponible chez DSM Food Specialities³⁾.

6 Appareillage

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

6.1 Micropipette, ou toute autre pipette permettant l'écoulement de 0,5 ml en moins de 1 s avec une répétabilité de 0,2 % ou mieux.

6.2 Pipettes à un trait, conformes à l'ISO 648, permettant l'écoulement de quantités appropriées.

Un diffuseur (par exemple un diffuseur Hamilton) ayant la même précision peut également être utilisé pour diluer les coagulants. Pour mesurer le substrat, on peut utiliser une seringue ou un distributeur permettant l'écoulement de la quantité appropriée, avec une répétabilité de 0,4 %.

6.3 Fioles jaugées à un trait, conformes à l'ISO 1042, avec les capacités requises.

6.4 Thermomètre, étalonné, gradué entre $20\ ^\circ\text{C}$ et $45\ ^\circ\text{C}$, d'une précision de $\pm 0,1\ ^\circ\text{C}$.

6.5 pH-mètre, pouvant mesurer le pH en unités de 0,01.

6.6 Balance analytique, pouvant peser à 1 mg près.

6.7 Chronomètre, gradué en secondes.

6.8 Fioles, conformes à l'ISO 1042, ou **tubes à essais** pour l'essai de coagulation du lait, d'une capacité appropriée (voir 6.9.1 et 9.4).

6.9 Bain-marie, pouvant être maintenu à une température de $32\ ^\circ\text{C} \pm 0,2\ ^\circ\text{C}$ et équipé des dispositifs suivants.

6.9.1 Moteur électrique, avec un axe rotatif permettant la fixation de la fiole ou du tube à essais (6.8), de façon à leur imprimer un mouvement rotatif à un angle approprié d'environ 30° par rapport à la surface du bain-marie.

NOTE La fréquence de rotation n'est pas très importante pour cette méthode; une fréquence de 2 r/min à 4 r/min convient.