

NORME
INTERNATIONALE

ISO
8069

FIL
69

Deuxième édition
2005-09-15

**Lait sec — Détermination de la teneur en
acide lactique et en lactates**

Dried milk — Determination of content of lactic acid and lactates

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 8069:2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d7a1103d-adf7-4e3d-891f-ba64c3d2d826/iso-8069-2005)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d7a1103d-adf7-4e3d-891f-
ba64c3d2d826/iso-8069-2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d7a1103d-adf7-4e3d-891f-ba64c3d2d826/iso-8069-2005)



Numéros de référence
ISO 8069:2005(F)
FIL 69:2005(F)

© ISO et FIL 2005

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 8069:2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d7a1103d-adf7-4e3d-891f-ba64c3d2d826/iso-8069-2005)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d7a1103d-adf7-4e3d-891f-ba64c3d2d826/iso-8069-2005>

© ISO et FIL 2005

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 2006

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Avant-propos FIL.....	v
1 Domaine d'application	1
2 Termes et définitions	1
3 Principe	1
4 Réactifs	1
5 Appareillage	3
6 Échantillonnage	4
7 Mode opératoire	4
7.1 Préparation de l'échantillon pour essai	4
7.2 Prise d'essai	4
7.3 Essai à blanc	4
7.4 Préparation de la solution et déprotéination	4
8 Mode opératoire	4
8.1 Vérification de l'activité des réactifs	4
8.2 Détermination	5
9 Calcul et expression des résultats	7
9.1 Calcul	7
9.2 Expression des résultats	8
10 Fidélité	8
10.1 Essai interlaboratoires	8
10.2 Répétabilité	8
10.3 Reproductibilité	8
11 Rapport d'essai	9
Annexe A (normative) Règles de bonne pratique de laboratoire (GLP) pour la conduite d'analyses suivant une méthode enzymatique	10
Bibliographie	14

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 2.

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 8069|FIL 69 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) et est publiée conjointement par l'ISO et la FIL.

La présente édition de l'ISO 8069|FIL 69 annule et remplace l'ISO 8069:1986, qui a fait l'objet d'une révision technique.

ISO 8069:2005
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d7a1103d-adf7-4e3d-891f-ba64c3d2d826/iso-8069-2005>

Avant-propos FIL

La FIL (**Fédération Internationale de la laiterie**) est une fédération mondiale du secteur laitier qui a un Comité national dans chaque pays membre. Chaque Comité national a le droit d'être représenté aux Comités permanents de la FIL chargés des travaux techniques. La FIL collabore avec l'ISO pour l'élaboration de méthodes normalisées d'analyse et d'échantillonnage du lait et des produits laitiers.

Les projets de Normes internationales adoptés par les groupes tripartites 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 FIL 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. La FIL ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 8069|FIL 69 a été élaborée par la Fédération Internationale de Laiterie (FIL) et le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*. Elle est publiée conjointement par la FIL et l'ISO.

La totalité des travaux a été confiée à l'équipe de travail conjointe ISO-FIL *Dosage du lactose et des lactates*, du comité permanent *Principaux constituants du lait* sous l'égide de son chef de projet, Monsieur J. Romero (États-Unis).

La présente édition de l'ISO 8069|FIL 69 annule et remplace la FIL 69:1987, qui a fait l'objet d'une révision technique.

[ISO 8069:2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d7a1103d-adf7-4e3d-891f-ba64c3d2d826/iso-8069-2005)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d7a1103d-adf7-4e3d-891f-ba64c3d2d826/iso-8069-2005>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 8069:2005

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d7a1103d-adf7-4e3d-891f-ba64c3d2d826/iso-8069-2005>

Lait sec — Détermination de la teneur en acide lactique et en lactates

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode enzymatique pour la détermination de la teneur en acide lactique et en lactates, applicable à tous les types de laits secs.

2 Termes et définitions

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

2.1

teneur en acide lactique et en lactates

masse des substances déterminées par le mode opératoire spécifié dans la présente Norme internationale

NOTE Elle est exprimée en milligrammes d'acide lactique pour 100 g de solides non gras.

3 Principe

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d7a1103d-adf7-4e3d-891f-ba64c3d2d826/iso-8069-2005>

Dissolution d'une prise d'essai de lait sec dans l'eau chaude. Précipitation de la matière grasse et des protéines, suivie d'une filtration. Traitement du filtrat avec les enzymes et substances biochimiques suivantes, ajoutées simultanément, mais agissant successivement:

- L-lactate déshydrogénase (L-LDH) et D-lactate déshydrogénase (D-LDH) en présence de nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) pour oxyder le lactate en pyruvate et transformer le NAD en sa forme réduite (NADH);
- glutamate pyruvate transaminase (GPT) en présence de L-glutamate pour transformer le pyruvate en L-alanine et transformer le L-glutamate en α -cétoglutarate.

Mesurage spectrométrique à la longueur d'onde de 340 nm pour déterminer la quantité de NADH produite, laquelle est proportionnelle à la teneur en acide lactique et en lactates.

4 Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique reconnue. L'eau utilisée pour préparer les solutions d'enzymes doit être d'une pureté au moins équivalente à celle de l'eau doublement distillée dans un récipient en verre et l'eau destinée aux autres usages doit être de l'eau distillée dans un récipient en verre ou de l'eau d'une pureté au moins équivalente.

4.1 Solution d'hexacyanoferrate(II) de potassium, $c(\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}) = 35,9 \text{ g/l}$.

Dissoudre 35,9 g d'hexacyanoferrate(II) de potassium trihydraté dans l'eau. Diluer avec de l'eau à 1 000 ml et mélanger.

4.2 Solution de sulfate de zinc, $c(\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}) = 71,8 \text{ g/l}$.

Dissoudre 71,8 g de sulfate de zinc heptahydraté dans l'eau. Diluer avec de l'eau à 1 000 ml et mélanger.

4.3 Solutions d'hydroxyde de sodium

4.3.1 Solution d'hydroxyde de sodium I, $c(\text{NaOH}) = 10 \text{ mol/l}$.

Dissoudre 400 g d'hydroxyde de sodium dans l'eau. Diluer avec de l'eau à 1 000 ml et mélanger.

4.3.2 Solution d'hydroxyde de sodium II, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$.

Dissoudre 4,0 g d'hydroxyde de sodium dans l'eau. Diluer avec de l'eau à 1 000 ml et mélanger.

4.4 Solution de glycérol, ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$) ayant une fraction volumique de 50 % de glycérol.

4.5 Solution de sulfate d'ammonium, $c[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4] = 3,2 \text{ mol/l}$.

Dissoudre 422,84 g de sulfate d'ammonium dans l'eau. Diluer avec de l'eau à 1 000 ml et mélanger.

4.6 Solution tampon, pH 10.

Dissoudre 7,92 g de glycyglycine ($\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_3$) et 1,47 g d'acide L-glutamique ($\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$) dans environ 80 ml d'eau. Ajuster le pH à $10,0 \pm 0,1$ à 20°C avec une solution d'hydroxyde de sodium (4.3.1). Diluer à 100 ml avec de l'eau et mélanger.

Cette solution peut se garder pendant 3 mois si elle est conservée au réfrigérateur entre 0°C et $+5^\circ\text{C}$.

4.7 Solution de nicotinamide adénine dinucléotide (NAD)

Dissoudre 350 mg de nicotinamide adénine dinucléotide ($\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_7\text{O}_{14}\text{P}_2$) dans 10 ml d'eau.

Cette solution peut se garder 4 semaines si elle est conservée au réfrigérateur entre 0°C et $+5^\circ\text{C}$. En cours d'utilisation, maintenir immergé dans de la glace pilée le récipient contenant la solution.

4.8 Suspension de L-lactate déshydrogénase (L-LDH), extraite de muscle de porc.

Dissoudre 10 mg de la suspension de L-LDH dans 1 ml de la solution de glycérol (4.4). Le pH de la solution doit être d'environ 7. L'activité spécifique de la solution de L-lactate déshydrogénase (L-LDH, EC 1.1.1.27) doit être d'au moins 5 500 unités/ml à 25°C . Si tel n'est pas le cas, préparer une autre suspension de L-LDH.

Cette suspension peut se garder pendant 12 mois si elle est conservée au réfrigérateur entre 0°C et $+5^\circ\text{C}$. En cours d'utilisation, maintenir immergé dans de la glace pilée le récipient contenant la suspension.

4.9 Suspension de D-lactate déshydrogénase (L-LDH), provenant de *Lactobacillus leichmannii*.

Dissoudre 5 mg de la suspension de D-LDH dans 1 ml de la solution de sulfate d'ammonium (4.5). Le pH doit être d'environ 6. L'activité spécifique de la suspension de D-lactate déshydrogénase (D-LDH, EC 1.1.1.28) doit être d'au moins 1 500 unités/ml à 25°C . Si tel n'est pas le cas, préparer une autre suspension de D-LDH.

Cette suspension peut se garder pendant 12 mois si elle est conservée au réfrigérateur entre 0°C et $+5^\circ\text{C}$. En cours d'utilisation, maintenir immergé dans de la glace pilée le récipient contenant la suspension.

4.10 Suspension de glutamate pyruvate transaminase (GPT), extraite de coeur de porc.

Dissoudre 20 mg de la suspension de GPT dans 1 ml de la solution de sulfate d'ammonium (4.5). Le pH doit être d'environ 7. L'activité spécifique de la suspension de glutamate pyruvate transaminase (GPT, EC 2.6.1.2) doit être d'au moins 1 600 unités/ml à 25 °C. Si tel n'est pas le cas, préparer une autre suspension de GPT.

Ajouter 1,0 ml de solution de sulfate d'ammonium (4.5) au 1 ml de la suspension avec 20 mg de GPT et mélanger. Centrifuger 2,0 ml d'une suspension contenant 10 mg de GPT par millilitre à une accélération radiale de 4 000 *g* pendant 10 min. Transférer 1,0 ml du liquide limpide surnageant et éliminer la solution restante

Cette suspension peut se garder pendant 12 mois si elle est conservée au réfrigérateur entre 0 °C et + 5 °C. En cours d'utilisation, maintenir immergé dans de la glace pilée le récipient contenant la suspension.

4.11 Solution de L-lactate de lithium

Dissoudre 50 mg de L-lactate de lithium (C₃H₅O₃Li) dans l'eau. Diluer à 500 ml avec de l'eau et mélanger.

4.12 Solution de D-lactate de lithium

Dissoudre 50 mg de D-lactate de lithium (C₃H₅O₃Li) dans l'eau. Diluer à 500 ml avec de l'eau et mélanger.

5 Appareillage

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

5.1 **Balance analytique**, capable de peser à 1 mg près, avec une précision de lecture de 0,1 mg.

5.2 **Bécher en verre**, de 50 ml de capacité.

5.3 **Éprouvette graduée**, de 50 ml de capacité.

5.4 **Fioles jaugées à un trait**, de 100 ml de capacité.

5.5 **Pipettes**, permettant de distribuer 0,02 ml, 0,05 ml, 0,2 ml, 1,0 ml et 2,0 ml.

5.6 **Pipettes graduées**, permettant de distribuer 5 ml et 10 ml, graduées en divisions de 0,1 ml.

5.7 **Entonnoir en verre**, d'environ 7 cm de diamètre.

5.8 **Papier-filtre**, à filtration moyenne, d'environ 15 cm de diamètre, exempt d'acide lactique et de lactates.

5.9 **Baguette en verre**.

5.10 **Palettes en plastique**, permettant d'agiter le mélange échantillon-enzyme dans la cuve du spectromètre.

5.11 **Spectrophotomètre**, permettant d'effectuer des mesures à 340 nm, équipé de cuves ayant un trajet optique de 1 cm.

5.12 **Parafilm**^{TM1)}.

1) ParafilmTM est un exemple d'un produit disponible sur le marché. Cette information est donnée à titre d'information à l'utilisateur de la présente Norme internationale et ne constitue pas un engagement de l'ISO ou de la FIL à l'égard de ce produit.

6 Échantillonnage

Il est important que l'échantillon reçu par le laboratoire soit réellement représentatif et qu'il n'ait pas été détérioré ou modifié pendant le transport ou le stockage.

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale. Une méthode d'échantillonnage recommandée est indiquée dans l'ISO 707|FIL 50.

Conserver l'échantillon en veillant à éviter toute détérioration et toute modification de sa composition.

7 Mode opératoire

7.1 Préparation de l'échantillon pour essai

Transférer l'échantillon dans un récipient ayant une capacité d'environ deux fois le volume de l'échantillon et muni d'un couvercle étanche à l'air. Fermer immédiatement le récipient. Mélanger soigneusement l'échantillon en agitant et en retournant plusieurs fois le récipient.

Pendant la préparation, éviter d'exposer l'échantillon pour essai à l'atmosphère afin de réduire le plus possible l'adsorption d'eau.

7.2 Prise d'essai

Peser, à 1 mg près, 1,0 g d'échantillon pour essai et le transvaser dans un bécher en verre de 50 ml (5.2).

7.3 Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc conformément aux dispositions des 7.4 et 8.2 en utilisant tous les réactifs mais en omettant la prise d'essai.

7.4 Préparation de la solution et déprotéination

7.4.1 Dissoudre la prise d'essai (7.2) dans environ 20 ml d'eau préalablement chauffée entre 40 °C et 50 °C tout en agitant à l'aide de la baguette en verre (5.9) ou de tout autre moyen approprié. Transférer quantitativement le contenu du bécher en verre dans une fiole jaugée à un trait de 100 ml (5.4) en rinçant le bécher avec de l'eau. Laisser refroidir le contenu de la fiole à environ 20 °C.

7.4.2 Ajouter à la solution (7.4.1) dans l'ordre suivant: 5,0 ml de la solution d'hexacyanoferrate(II) de potassium (4.1), 5,0 ml de la solution de sulfate de zinc (4.2) et 10,0 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (4.3.2), en agitant soigneusement après chaque ajout. Diluer au trait de 100 ml avec de l'eau. Bien mélanger et laisser le mélange reposer à la température ambiante, pendant 30 min.

7.4.3 Filtrer sur du papier-filtre (5.8) en éliminant les premières fractions du filtrat.

La centrifugation est une alternative à la filtration qui convient également.

8 Mode opératoire

ATTENTION — Éviter les contaminations, surtout celles dues à la transpiration.

8.1 Vérification de l'activité des réactifs

8.1.1 Chaque fois qu'un nouveau lot de réactifs (4.6 à 4.10 inclus) est préparé ou si des réactifs ont été conservés au réfrigérateur pendant plus de 2 semaines sans avoir été utilisés, si les travaux analytiques

reprennent après une période d'inactivité ou si d'autres conditions peuvent le justifier, effectuer l'essai suivant de récupération des lactates.

8.1.2 Introduire à la pipette 10 ml de la solution de L-lactate de lithium (4.11) dans chacune des deux fioles jaugées à un trait de 100 ml (5.4). Introduire à la pipette 10 ml de la solution de D-lactate de lithium (4.12) dans chacune de deux autres fioles jaugées à un trait (5.4). Déterminer la teneur en acide L-lactique et lactates et en acide D-lactique et lactates des solutions contenues dans les deux premières et dans les deux dernières fioles de 100 ml, conformément au mode opératoire décrit de 7.4.2, 7.4.3 et 8.2.

8.1.3 Calculer la teneur en lactate de lithium, w_L , exprimée en milligrammes par litre, à l'aide de l'une des équations suivantes:

a) pour la solution de L-lactate:

$$w_L = 341 \times A$$

b) pour la solution de D-lactate:

$$w_L = 346 \times A$$

où

A est la valeur numérique de l'absorbance à 340 nm, calculée conformément à 8.2.1 et 8.2.2;

341 est la valeur numérique du coefficient après substitution de la valeur moléculaire du lactate de lithium ($M_r = 96,1$) et du volume final ($V_1 = 2,24$ ml) dans 9.1 quand les taux de récupération du L-lactate sont évalués; (standards.iteh.ai)

346 est la valeur numérique du facteur après substitution du D-lactate de lithium ($M_r = 96,1$) et le volume final ($V_1 = 2,27$ ml) dans 9.1 lorsque les taux de récupération du L-lactate sont évalués

8.1.4 Compte tenu de la pureté du L-lactate de lithium et du D-lactate de lithium utilisés pour préparer les solutions, le taux de récupération du L-lactate ou D-lactate de lithium dans chacune des fioles (8.1.2) doit se situer dans la plage de (100 ± 5) %. Si les taux de récupération ne sont pas compris dans cette plage, vérifier les réactifs, le mode opératoire, l'exactitude de mesure des pipettes et l'état du spectrophotomètre. Procéder à l'action requise de façon à obtenir des résultats appropriés. Répéter l'essai jusqu'à l'obtention de résultats satisfaisants.

8.2 Détermination

8.2.1 À l'aide de la pipette requise (5.5), transférer dans la cuve de 1 cm du spectrophotomètre (5.11) conformément au schéma défini dans le Tableau 1.