

NORME
INTERNATIONALE

ISO
14637

FIL
195

Première édition
2004-10-15

**Lait — Détermination de la teneur en
urée — Méthode enzymatique par
mesurage de pH différentiel (Méthode
de référence)**

*Milk — Determination of urea content — Enzymatic method using
difference in pH (Reference method)*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 14637:2004

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/355edd7c-fl6d-4cd3-8116-1edf5b2bd5ba/iso-14637-2004>



Numéros de référence
ISO 14637:2004(F)
FIL 195:2004(F)

© ISO et FIL 2004

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 14637:2004](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/355edd7c-fl6d-4cd3-8116-1edf5b2bd5ba/iso-14637-2004)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/355edd7c-fl6d-4cd3-8116-1edf5b2bd5ba/iso-14637-2004>

© ISO et FIL 2004

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'une ou l'autre des adresses 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
1 Domaine d'application.....	1
2 Termes et définitions.....	1
3 Principe.....	1
4 Réactifs.....	1
4.1 Réactifs pour la détermination de l'urée.....	1
4.2 Réactifs pour le nettoyage et l'entretien des électrodes.....	2
5 Appareillage.....	3
6 Échantillonnage.....	3
7 Préparation de l'échantillon d'essai.....	3
8 Mode opératoire.....	3
8.1 Généralités.....	3
8.2 Détermination du blanc.....	3
8.3 Calibrage.....	4
8.4 Contrôle du calibrage.....	5
8.5 Détermination.....	5
8.6 Contrôle de la stabilité.....	5
8.7 Contrôle de la contamination de l'électrode.....	5
8.8 Nettoyage.....	5
9 Entretien des électrodes.....	6
9.1 Régénération.....	6
9.2 Régénération forte.....	6
10 Calcul et expression des résultats.....	6
10.1 Calcul.....	6
10.2 Expression des résultats.....	6
11 Fidélité.....	6
11.1 Essai interlaboratoires.....	6
11.2 Répétabilité.....	7
11.3 Reproductibilité.....	7
12 Rapport d'essai.....	7
Annexe A (informative) Appareillage de mesure de pHmétrie différentielle.....	8
Annexe B (informative) Résultat des essais interlaboratoires.....	9
Bibliographie.....	11

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 14637|FIL 195 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). Elle est publiée conjointement par l'ISO et la FIL.

[ISO 14637:2004](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/355edd7c-fl6d-4cd3-8116-1edf5b2bd5ba/iso-14637-2004)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/355edd7c-fl6d-4cd3-8116-1edf5b2bd5ba/iso-14637-2004>

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 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 de la 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 14637|FIL 195 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.

L'ensemble des travaux a été confié à l'Équipe d'Action mixte ISO/FIL/AOAC, *Composants azotés dans le lait et les produits laitiers*, sous la conduite de son chef de projet, Monsieur Ph. Trossat (FR).

(standards.iteh.ai)

[ISO 14637:2004](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/355edd7c-fl6d-4cd3-8116-1edf5b2bd5ba/iso-14637-2004)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/355edd7c-fl6d-4cd3-8116-1edf5b2bd5ba/iso-14637-2004>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 14637:2004

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/355edd7c-f16d-4cd3-8116-1edf5b2bd5ba/iso-14637-2004>

Lait — Détermination de la teneur en urée — Méthode enzymatique par mesurage de pH différentiel (Méthode de référence)

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode enzymatique de détermination de la teneur en urée dans le lait par pHmétrie différentielle.

2 Termes et définitions

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

2.1

teneur en urée

fraction massique de substances déterminée selon le mode opératoire spécifié dans la présente Norme internationale

NOTE La teneur en urée est exprimée en milligrammes par litre.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/355edd7c-fl6d-4cd3-8116-1ed5b2bd5ba/iso-14637-2004>

3 Principe

De l'uréase est ajoutée à l'échantillon d'essai, afin d'hydrolyser l'urée en ammoniac et en dioxyde de carbone. À pH 6,7, l'ammoniac s'hydrolyse immédiatement en dégageant des ions hydroxyle et le dioxyde de carbone libère des protons qui neutralisent partiellement ces ions hydroxyle. L'équilibre entre l'hydrolyse de l'ammoniac et celle du dioxyde de carbone, et la neutralisation qui en résulte, entraîne une variation du pH. Le pH varie en fonction de la teneur en urée de l'échantillon et la variation est mesurée à l'aide d'un analyseur à pHmétrie différentielle.

4 Réactifs

Sauf spécification contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déminéralisée, ou de pureté équivalente.

4.1 Réactifs pour la détermination de l'urée

4.1.1 Solution tampon, pH 6,7.

Dissoudre dans une fiole jaugée à un trait de 1 000 ml (5.5) 1,777 g de monohydrogénophosphate dipotassique (K_2HPO_4), 1,388 g de dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4), 7,600 g de chlorure de potassium (KCl), 1,00 g d'azide de sodium (NaN_3), 0,010 g d'acétazolamide (5-acétamido-1,3,4-thiadiazole-2-sulfonamide),

1,040 g de chlorure de magnésium hexahydraté ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$), 2 g de Triton X 100, 1 g de Brij 35 et 20 ml de $LM1^1$). Diluer au repère avec de l'eau et mélanger.

La solution tampon peut être conservée pendant 6 mois si elle est stockée à 4 °C.

4.1.2 Solution d'enzyme d'uréase.

Dissoudre 360 mg d'uréase lyophilisée (EC 3.5.1.5) dans 1 ml d'une solution aqueuse de glycérol à 50 % (fraction volumique). L'activité de la solution enzymatique d'uréase obtenue doit être de $(2\ 100 \pm 300)$ unités/ m^2 .

La solution d'enzyme d'uréase peut être conservée pendant 6 mois si elle est stockée à 4 °C.

4.1.3 Solution étalon d'urée.

Dissoudre 1 000 g d'urée (N_2H_4CO) préalablement séchée [sous vide dans une étuve à (90 ± 1) °C pendant une journée], 7,45 g de chlorure de potassium (KCl) et 1,0 g d'azide de sodium (NaN_3) dans une fiole jaugée de 1 000 ml (5.5). Diluer au trait de jauge avec de l'eau et mélanger.

La solution étalon d'urée peut être conservée pendant 6 mois si elle est stockée à 4 °C.

4.1.4 Lait zéro.

Ajouter 20 μ l de solution d'uréase (4.1.2) à 1 ml de lait cru. Mélanger et faire incuber le lait cru ainsi préparé pendant 10 min dans le bain-marie (5.3) réglé à 40 °C.

4.2 Réactifs pour le nettoyage et l'entretien des électrodes

4.2.1 Solution de nettoyage.

Dissoudre dans une fiole jaugée à un trait de 1 000 ml (5.5) 1,742 g de monohydrogénophosphate dipotassique (K_2HPO_4), 1,361 g de dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4), 7,455 g de chlorure de potassium (KCl), 1,00 g d'azide de sodium (NaN_3), 2 g de Triton X 100, 2 g de Brij 35 et 3 g de $LM1^1$). Diluer au trait de jauge avec de l'eau et mélanger.

La solution de nettoyage peut être conservée pendant une année si elle est stockée à température ambiante.

4.2.2 Solution de régénération.

Utiliser de l'acide chlorhydrique à une concentration $c(HCl) = 0,1$ mol/l.

La solution de régénération peut être conservée pendant une année si elle est stockée à température ambiante.

4.2.3 Solution de régénération forte.

Dissoudre dans une fiole jaugée à un trait de 1 000 ml (5.5) 30 g d'acide nitrique (HNO_3) à environ 69 % (fraction massique), 30 g d'acide chlorhydrique (HCl) à environ 37 % (fraction massique), 30 g de fluorure de sodium (NaF) et 1 g de Triton X 100. Diluer au trait de jauge avec de l'eau et mélanger.

La solution de régénération forte peut être conservée pendant une année si elle est stockée à température ambiante.

1) Il est possible de se procurer ce détergent auprès de Valetudo S.r.l., BG, Italie; c'est un exemple de produit disponible sur le marché. Cette information est donnée par souci de commodité à l'intention des utilisateurs de l'ISO 14637 et ne saurait constituer un engagement de l'ISO ni de la FIL à l'égard de ce produit.

2) Cette unité (souvent appelée Unité Internationale ou Unité Standard) est définie comme étant la quantité d'enzyme qui catalysera la transformation d'une micromole de substrat par minute sous des conditions normales.

5 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et en particulier:

5.1 Balance analytique, permettant de peser à 1 mg près.

5.2 Micropipettes (à déplacement positif), d'une capacité de 15 μ l et de 20 μ l.

5.3 Bain-marie pouvant être maintenu à (38 ± 1) °C et à (40 ± 1) °C.

5.4 Appareillage de mesure de pHmétrerie différentielle, fonctionnant généralement selon le schéma donné à l'Annexe A.

La disposition et les éléments utilisés peuvent différer.

L'appareillage de mesure de pHmétrerie différentielle se compose de pompes péristaltiques pour la circulation des liquides, d'une chambre de mélange, de deux électrodes capillaires à circulation en verre (EL1 et EL2) et d'un système électronique de mesure.

5.5 Fioles jaugées à un trait, d'une contenance de 1 000 ml.

6 Échantillonnage

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif, qui n'ait pas été endommagé ni modifié pendant le transport ou le stockage.

La méthode spécifiée dans la présente Norme internationale n'inclut pas l'échantillonnage. L'ISO 707/FIL 50 indique une méthode d'échantillonnage recommandée.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/355edd7c-fl6d-4cd3-8116-1ed5b2bd5ba/iso-14637-2004>

7 Préparation de l'échantillon d'essai

Chauffer l'échantillon dans le bain-marie (5.3) réglé à 38 °C tout en le mélangeant. Refroidir à 20 °C juste avant la préparation de la prise d'essai.

8 Mode opératoire

8.1 Généralités

Il existe différents modèles d'appareillages de mesure de pHmétrerie différentielle (5.4), qui s'utilisent différemment, par conséquent l'opérateur doit suivre soigneusement les instructions du fabricant pour régler, calibrer et faire fonctionner l'appareillage. Mettre l'appareillage sous tension et le laisser se stabiliser.

Si deux mesurages consécutifs sont effectués à 5 min d'intervalle ou plus, renouveler la solution tampon (4.1.1) dans la chambre de mélange de l'appareillage.

8.2 Détermination du blanc

Remplir les électrodes à circulation EL1 et EL2 de l'appareillage de mesure de pHmétrerie différentielle (5.4) avec la solution tampon (4.1.1). Mesurer la différence de pH (D_1) entre les électrodes. La différence entre les deux électrodes doit être de ± 150 unités mpH (millipH).