

---

---

**Matière grasse laitière — Détermination  
de l'indice de peroxyde**

*Milk fat — Determination of peroxide value*

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 3976:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/074d899e-0844-4710-937f-19e7ced4dd37/iso-3976-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/074d899e-0844-4710-937f-19e7ced4dd37/iso-3976-2006>



Numéros de référence  
ISO 3976:2006(F)  
FIL 74:2006(F)

© ISO et FIL 2006

**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 3976:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/074d899e-0844-4710-937f-19e7ced4dd37/iso-3976-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/074d899e-0844-4710-937f-19e7ced4dd37/iso-3976-2006>

© ISO et FIL 2006

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](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://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](mailto:info@fil-idf.org)  
Web [www.fil-idf.org](http://www.fil-idf.org)

Publié en Suisse

## Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
1 <b>Domaine d'application</b> .....	1
2 <b>Termes et définitions</b> .....	1
3 <b>Principe</b> .....	1
4 <b>Réactifs</b> .....	1
5 <b>Appareillage</b> .....	2
6 <b>Échantillonnage</b> .....	3
7 <b>Préparation de l'échantillon pour essai</b> .....	4
7.1 <b>Généralités</b> .....	4
7.2 <b>Matière grasse laitière déshydratée, huile de beurre anhydre, huile de beurre, ghee</b> .....	4
7.3 <b>Beurre</b> .....	4
8 <b>Mode opératoire (voir Annexe A)</b> .....	4
8.1 <b>Précautions à prendre afin d'éviter l'oxydation de l'échantillon et de perturber le mesurage de l'absorbance</b> .....	4
8.2 <b>Blanc des réactifs</b> .....	4
8.3 <b>Blanc de l'échantillon</b> .....	5
8.4 <b>Prise d'essai</b> .....	5
8.5 <b>Coefficient d'absorbance du complexe rouge de fer(III)</b> .....	6
9 <b>Calcul et expression des résultats</b> .....	7
9.1 <b>Calcul</b> .....	7
9.2 <b>Expression des résultats</b> .....	7
10 <b>Fidélité</b> .....	8
10.1 <b>Essai interlaboratoires</b> .....	8
10.2 <b>Répétabilité</b> .....	8
10.3 <b>Reproductibilité</b> .....	8
11 <b>Rapport d'essai</b> .....	8
<b>Annexe A (informative) Synthèse du mode opératoire</b> .....	9
<b>Annexe B (informative) Essai interlaboratoires</b> .....	11
<b>Annexe C (informative) Essai comparatif</b> .....	12
<b>Bibliographie</b> .....	15

## 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 3976|FIL 74 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.

Cette édition de l'ISO 3976|FIL 74 annule et remplace l'ISO 3976:1977, qui a fait l'objet d'une révision technique. Une comparaison des résultats trouvés en utilisant le nouveau réactif (mélange de méthanol/1-décanol/*n*-hexane) avec ceux trouvés en utilisant le mélange de chloroforme/méthanol est donnée en Annexe C.

## 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 3976|FIL 74 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 *Matière grasse* du comité permanent *Principaux composants du lait*, sous la conduite de son chef de projet, Monsieur A. van Reusel (BE).

Cette édition de l'ISO 3976|FIL 74 annule et remplace la FIL 74A:1991, qui a fait l'objet d'une révision technique. Une comparaison des résultats trouvés en utilisant le nouveau réactif (mélange de méthanol/1-décanol/*n*-hexane) avec ceux trouvés en utilisant le mélange de chloroforme/méthanol est donnée en Annexe C.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/074d899e-0844-4710-937f-19e7ced4dd37/iso-3976-2006>

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 3976:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/074d899e-0844-4710-937f-19e7ced4dd37/iso-3976-2006>

# Matière grasse laitière — Détermination de l'indice de peroxyde

**AVERTISSEMENT** — L'utilisation de la présente Norme internationale peut impliquer l'utilisation de produits et la mise en œuvre de modes opératoires et d'appareillages à caractère dangereux. La présente Norme internationale n'a pas pour but d'aborder tous les problèmes de sécurité liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur de la présente norme d'établir, avant de l'utiliser, des pratiques d'hygiène et de sécurité appropriées et de déterminer l'applicabilité des restrictions réglementaires locales.

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode de détermination de l'indice de peroxyde de la matière grasse laitière déshydratée.

La méthode est appropriée pour la matière grasse laitière déshydratée dont l'indice de peroxyde est inférieur ou égal à 1,3 millimole d'oxygène par kilogramme.

NOTE Pour les échantillons de matière grasse laitière dont l'indice de peroxyde est compris entre 0,5 mmol et 1,3 mmol d'oxygène par kilogramme, un mode opératoire étendu (voir Annexe A) est employé. Pour les échantillons de matière grasse laitière dont l'indice de peroxyde est supérieur à 1,3 mmol d'oxygène par kilogramme, on peut utiliser une méthode à l'iode/thiosulfate (par exemple AOAC 920.160).

## 2 Termes et définitions

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

### 2.1

#### indice de peroxyde

quantité de substance déterminée selon la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale

NOTE L'indice de peroxyde est exprimé en millimoles d'oxygène par kilogramme.

## 3 Principe

Dissolution d'une prise d'essai dans un mélange de méthanol/1-décanol/*n*-hexane, puis ajout de chlorure de fer(II) et de thiocyanate d'ammonium. Les peroxydes oxydent le fer(II) en fer(III) qui forme un complexe rouge avec le thiocyanate d'ammonium. La quantité de substance est calculée par détermination photométrique du complexe rouge de fer(III), au terme d'une durée de réaction fixe.

## 4 Réactifs

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

### 4.1 Mélange de méthanol/1-décanol/*n*-hexane, dans un rapport de 3:2:1 (fraction volumique).

Mélanger 2 volumes de 1-décanol avec 1 volume de *n*-hexane. Ajouter à ce mélange 3 volumes de méthanol anhydre et homogénéiser.

Le mélange est inflammable et a une odeur désagréable. C'est pourquoi il est recommandé de travailler sous une hotte aspirante et de porter des gants.

Le *n*-hexane peut être remplacé par de l'éther de pétrole dont le domaine d'ébullition est compris entre 60 °C et 80 °C.

#### **4.2 Solution de chlorure de fer(II) (FeCl<sub>2</sub>), $c(\text{Fe}^{2+}) \sim 1 \text{ mg/ml}$ .**

Préparer la solution de chlorure de fer(II) sous une lumière réduite et indirecte.

Dissoudre 0,4 g environ de chlorure de baryum dihydraté (BaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O) dans 50 ml environ d'eau. Puis, dissoudre environ 0,5 g de sulfate de fer(II) heptahydraté (FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) dans environ 50 ml d'eau. Verser doucement la solution de chlorure de baryum, en agitant constamment, dans la solution de sulfate de fer(II). Ajouter environ 2 ml de solution I d'acide chlorhydrique (4.5) et mélanger à nouveau.

Laisser reposer le précipité de sulfate de baryum ou centrifuger le mélange jusqu'à obtention d'une couche surnageante limpide. Décanter la solution claire ainsi obtenue dans un flacon en verre brun. Ne pas conserver la solution plus d'une semaine.

La solution de chlorure de fer(II) peut également être préparée en dissolvant 0,35 g environ de chlorure de fer(II) tétrahydraté (FeCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O) dans environ 100 ml d'eau. Ajouter 2 ml de solution I d'acide chlorhydrique (4.5) et mélanger.

#### **4.3 Solution de thiocyanate d'ammonium.**

Dissoudre 30 g environ de thiocyanate d'ammonium (NH<sub>4</sub>SCN) dans de l'eau et compléter à 100 ml. Si la solution n'est pas incolore, la laver à plusieurs reprises avec de petites quantités (par exemple des fractions de 5 ml) d'alcool iso-amylque (méthyl-3 butanol-1).

#### **4.4 Solution étalon de chlorure de fer(III) (FeCl<sub>3</sub>), $c(\text{Fe}) = 10 \text{ } \mu\text{g/ml}$ .**

Dans une fiole jaugée à un trait, dissoudre 0,500 g de fer en poudre dans environ 50 ml de solution d'acide chlorhydrique (4.5). Ajouter 1 ml à 2 ml de solution de peroxyde d'hydrogène (4.7). Éliminer l'excès de peroxyde d'hydrogène en portant à ébullition pendant 5 min. Refroidir à la température ambiante. Compléter au repère de 500 ml avec de l'eau et mélanger.

Il est également possible de préparer la solution de chlorure de fer(III) contenant 1 g de Fe par litre à l'aide de produits chimiques normalisés disponibles dans le commerce.

À l'aide d'une pipette, prélever 1 ml de la solution obtenue et l'introduire dans une fiole jaugée de 100 ml. Compléter au repère de 100 ml avec le mélange de méthanol/1-décanol/*n*-hexane (4.1), puis mélanger.

#### **4.5 Solution I d'acide chlorhydrique, environ $c(\text{HCl}) = 10 \text{ mol/l}$ .**

#### **4.6 Solution II d'acide chlorhydrique, environ $c(\text{HCl}) = 0,2 \text{ mol/l}$ .**

Prélever 2 ml de solution I d'acide chlorhydrique (4.5) et diluer à 100 ml avec de l'eau.

#### **4.7 Solution de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) d'une fraction massique d'environ 30 %.**

#### **4.8 Solution diluée d'acide nitrique (HNO<sub>3</sub>), d'une fraction massique d'environ 10 %.**

## **5 Appareillage**

Appareillage usuel de laboratoire et, en particulier, ce qui suit.

## 5.1 Verrerie.

Plonger toute la verrerie dans une solution d'acide nitrique diluée (4.8) pendant 24 h pour la nettoyer. Rincer la verrerie à quatre reprises avec de l'eau du robinet, puis à nouveau à quatre reprises avec de l'eau distillée ou de pureté équivalente, puis la sécher pendant une heure dans une étuve (5.10) réglée à 100 °C.

Il est extrêmement important que la verrerie soit propre. D'autres méthodes de nettoyage peuvent également être employées si elles permettent d'obtenir le même résultat.

**5.2 Balance analytique**, pouvant peser à 1 mg près et d'une lisibilité de 0,1 mg.

**5.3 Pipette distributrice**, permettant de prélever un volume précis de 9,9 ml, 9,6 ml, 9,4 ml, 8,9 ml, 8,4 ml et 7,9 ml du mélange de méthanol/1-décanol/*n*-hexane (4.1).

**5.4 Pipette distributrice**, permettant de prélever un volume précis de 0,5 ml, 1,0 ml, 1,5 ml et 2,0 ml de la solution étalon de chlorure de fer(III) (4.4).

**5.5 Micropipettes**, permettant de prélever un volume précis de 0,05 ml de la solution de thiocyanate d'ammonium (4.3), de la solution de chlorure de fer(II) (4.2) et de la solution II d'acide chlorhydrique (4.6), respectivement.

**5.6 Spectrophotomètre**, permettant des mesurages à une longueur d'onde proche de 500 nm.

**5.7 Cuves dotées de bouchons**, appropriées au photomètre (5.6), résistant à tous les réactifs utilisés dans le mode opératoire.

**5.8 Tubes à essai en verre**, équipés de bouchons en verre rodé.

**5.9 Étuve électrique**, permettant de chauffer à des températures comprises entre 40 °C et 45 °C.

**5.10 Étuve électrique**, permettant de chauffer à 100 °C ± 2 °C.

**5.11 Centrifugeuse**, permettant d'obtenir une accélération radiale d'au moins 350 g, équipée d'un rotor (par exemple une centrifugeuse Gerber).

**5.12 Tubes pour centrifugeuse**, pouvant être utilisés dans la centrifugeuse (5.11).

**5.13 Entonnoirs en verre**, avec du papier-filtre plié (grade moyen).

**5.14 Flacons**, appropriés pour les réactifs.

## 6 Échantillonnage

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

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 707 | FIL 50.

## 7 Préparation de l'échantillon pour essai

### 7.1 Généralités

Procéder à toutes les préparations sous une lumière tamisée indirecte.

### 7.2 Matière grasse laitière déshydratée, huile de beurre anhydre, huile de beurre, ghee

Si besoin est, liquéfier complètement l'échantillon pour essai (voir les détails dans la FIL 68A) en chauffant le conteneur fermé à la température la plus faible possible permettant d'obtenir la liquéfaction. Mélanger l'échantillon liquéfié, en prenant soin, dans la mesure du possible, d'éviter l'inclusion d'air dans l'échantillon.

Effectuer la détermination immédiatement tant que l'échantillon d'essai est liquide.

### 7.3 Beurre

Déposer une quantité appropriée d'échantillon d'essai dans le tube pour centrifugeuse (5.12). Faire fondre l'échantillon à l'étuve (5.9) à une température comprise entre 40 °C et 45 °C. Séparer la matière grasse par centrifugation avec une accélération radiale d'au moins 350 *g* pendant 5 min.

Dans l'étuve (5.9) à une température comprise entre 40 °C et 45 °C, filtrer la matière grasse de beurre séparée à chaud au moyen d'un entonnoir en verre (5.13) équipé d'un papier-filtre sec et plié. La matière grasse de beurre filtrée doit être limpide et de toute évidence exempte d'eau et de composés non gras.

Effectuer la détermination sans attendre, tant que l'échantillon d'essai est liquide.

ITeH STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

## 8 Mode opératoire (voir Annexe A)

ISO 3976:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/074d899e-0844-4710-937f>

### 8.1 Précautions à prendre afin d'éviter l'oxydation de l'échantillon et de perturber le mesurage de l'absorbance

8.1.1 Éviter d'exposer l'échantillon d'essai à la lumière. Dans la mesure du possible, conduire l'essai sous une lumière indirecte et tamisée.

8.1.2 Effectuer tous les mesurages d'absorbance optique à la longueur d'onde d'absorbance maximale du complexe rouge de fer(III), c'est-à-dire proche de 500 nm.

8.1.3 Effectuer tous les mesurages d'absorbance optique dans des cuves (5.7) refermées immédiatement après remplissage. Après fermeture, laisser reposer les cuves fermées pendant 10 min pour parvenir à équilibrer les phases du mélange avant de lire l'absorbance.

NOTE L'évaporation du solvant est susceptible de produire de la condensation sur la partie supérieure des parois des cuves. La mesure étant effectuée sur l'ensemble de la phase liquide de l'échantillon, cette condensation induit une diffraction du rayon lumineux par les différentes traînées de solvant, entraînant des fluctuations de l'absorbance. Il est nécessaire d'attendre 10 min pour parvenir à l'équilibre entre le solvant et la phase gazeuse.

### 8.2 Blanc des réactifs

8.2.1 À l'aide de la pipette distributrice (5.3), verser 9,90 ml du mélange de méthanol/1-décanol/*n*-hexane (4.1) dans le tube à essai en verre (5.8).

8.2.2 À l'aide d'une micropipette (5.5), ajouter 0,05 ml de solution de thiocyanate d'ammonium (4.3) au mélange dans le tube à essai en verre, et mélanger.

8.2.3 À l'aide d'une micropipette (5.5), ajouter 0,05 ml de solution de chlorure de fer(II) (4.2) au mélange dans le tube à essai en verre, puis mélanger à nouveau.

**8.2.4** Transvaser le mélange de blanc des réactifs obtenu dans une cuve pour photomètre (5.7). Fermer la cuve à l'aide du bouchon et laisser reposer la cuve fermée pendant 10 min pour parvenir à l'équilibre des phases du mélange.

Mesurer l'absorbance,  $E_1$ , du blanc des réactifs contre le mélange de méthanol/1-décanol/*n*-hexane (4.1). Procéder à au moins quatre déterminations du blanc des réactifs.

Les résultats obtenus ( $E_1$ ) doivent se situer dans une fourchette de 0,010 unité d'absorbance. L'absorbance moyenne du blanc des réactifs ( $E_m$ ) ne doit pas dépasser 0,030 unité. Si les résultats ne sont pas conformes aux exigences précédemment mentionnées, vérifier le mode opératoire, la verrerie et les réactifs. Apporter les corrections éventuelles ou remplacer les éléments nécessaires.

### 8.3 Blanc de l'échantillon

**8.3.1** Peser, à 1 mg près, environ 0,33 g d'échantillon d'essai préparé (voir 7.2 ou 7.3) et l'introduire dans un tube à essai (5.8).

**8.3.2** Ajouter sans attendre à l'aide de la pipette distributrice (5.3), 9,60 ml de mélange de méthanol/1-décanol/*n*-hexane (4.1) à l'échantillon d'essai dans le tube à essai en verre. Mélanger doucement afin de dissoudre la matière grasse de l'échantillon.

**8.3.3** À l'aide d'une micropipette (5.5), ajouter 0,05 ml de solution de thiocyanate d'ammonium (4.3), puis mélanger.

**8.3.4** Transvaser le mélange de blanc de l'échantillon dans une cuve pour photomètre (5.7). Fermer la cuve à l'aide du bouchon et laisser reposer la cuve fermée pendant 10 min pour parvenir à l'équilibre des phases du mélange. Mesurer l'absorbance du blanc de l'échantillon ( $E'_0$ ) contre le mélange de méthanol/1-décanol/*n*-hexane (4.1).

**8.3.5** Corriger l'absorbance obtenue du blanc de l'échantillon ( $E'_0$ ) en 8.3.4 pour compenser les écarts de masse des prises d'essai du blanc de l'échantillon et de l'échantillon d'essai à l'aide de l'équation suivante:

$$E_0 = E'_0 \times \frac{m}{m_0}$$

où

$E_0$  est la valeur numérique corrigée de l'absorbance du blanc de l'échantillon;

$E'_0$  est la valeur numérique de l'absorbance du blanc de l'échantillon (8.3.4);

$m_0$  est la masse de l'échantillon d'essai dans le blanc de l'échantillon (8.3.1);

$m$  est la masse de l'échantillon d'essai (8.4.1).

### 8.4 Prise d'essai

**8.4.1** Peser à 1 mg près environ 0,33 g d'échantillon d'essai préparé (voir 7.2 ou 7.3) et l'introduire dans un tube à essai (5.8).

**8.4.2** Ajouter sans attendre à l'aide de la pipette distributrice (5.3), 9,60 ml de mélange de méthanol/1-décanol/*n*-hexane (4.1) à la prise d'essai dans le tube à essai en verre. Mélanger doucement afin de dissoudre la matière grasse de l'échantillon.

**8.4.3** À l'aide d'une micropipette (5.5), ajouter 0,05 ml de solution de thiocyanate d'ammonium (4.3) au mélange dans le tube à essai en verre, et mélanger.