

PROJET DE NORME INTERNATIONALE

ISO/DIS 27105

ISO/TC 34/SC 5

Secrétariat: NEN

Début de vote:
2014-10-29

Vote clos le:
2015-01-29

Lait et fromages — Détermination de la teneur en lysozyme de blanc d'oeuf par chromatographie liquide haute performance

Milk and cheese — Determination of hen's egg white lysozyme content by high performance liquid chromatography

ICS: 67.100.01

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/63448434-66bb-46eb-b163-126fe49d0c75/iso-27105-2016>

CE DOCUMENT EST UN PROJET DIFFUSÉ POUR OBSERVATIONS ET APPROBATION. IL EST DONC SUSCEPTIBLE DE MODIFICATION ET NE PEUT ÊTRE CITÉ COMME NORME INTERNATIONALE AVANT SA PUBLICATION EN TANT QUE TELLE.

OUTRE LE FAIT D'ÊTRE EXAMINÉS POUR ÉTABLIR S'ILS SONT ACCEPTABLES À DES FINS INDUSTRIELLES, TECHNOLOGIQUES ET COMMERCIALES, AINSI QUE DU POINT DE VUE DES UTILISATEURS, LES PROJETS DE NORMES INTERNATIONALES DOIVENT PARFOIS ÊTRE CONSIDÉRÉS DU POINT DE VUE DE LEUR POSSIBILITÉ DE DEVENIR DES NORMES POUVANT SERVIR DE RÉFÉRENCE DANS LA RÉGLEMENTATION NATIONALE.

LES DESTINATAIRES DU PRÉSENT PROJET SONT INVITÉS À PRÉSENTER, AVEC LEURS OBSERVATIONS, NOTIFICATION DES DROITS DE PROPRIÉTÉ DONT ILS AURAIENT ÉVENTUELLEMENT CONNAISSANCE ET À FOURNIR UNE DOCUMENTATION EXPLICATIVE.



Numéro de référence
ISO/DIS 27105:2014(F)

© ISO 2014

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/63448434-66bb-46eb-b163-126fe49d0c75/iso-27105-2016>

Notice de droit d'auteur

Ce document de l'ISO est un projet de Norme internationale qui est protégé par les droits d'auteur de l'ISO. Sauf autorisé par les lois en matière de droits d'auteur du pays utilisateur, aucune partie de ce projet ISO ne peut être reproduite, enregistrée dans un système d'extraction ou transmise sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie, les enregistrements ou autres, sans autorisation écrite préalable.

Les demandes d'autorisation de reproduction doivent être envoyées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

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

Toute reproduction est soumise au paiement de droits ou à un contrat de licence.

Les contrevenants pourront être poursuivis.

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
Avant-propos	v
1 Domaine d'application	1
2 Termes et définitions	1
3 Principe	1
4 Réactifs et substances de référence	1
5 Appareillage	2
6 Échantillonnage	3
7 Mode opératoire	3
8 Calcul et expression des résultats	5
9 Fidélité	6
10 Rapport d'essai	6
Annexe A (informative) Vérification par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (CL-SM)	7
Annexe B (informative) Essai interlaboratoires	9
Bibliographie	10

ITeH STANDARD PREVIEW
 (standards.iteh.ai)
 Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sic/65148424-66bb-46eb-b163-126fe49d0e75/iso-27105-2016>

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 27105 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*.

Cette édition annule et remplace l'ISO/TS 27105 | FIL/RM 216:2009, qui a fait l'objet d'une révision technique.

L'ISO 27105 | FIL 216 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*, et la Fédération Internationale du Lait (FIL). Elle est publiée conjointement par l'ISO et la FIL.

Avant-propos

La FIL (Fédération internationale du lait) est une organisation privée à but non lucratif qui représente les intérêts des divers acteurs de la filière laitière au niveau international. Les membres de la FIL sont organisés en comités nationaux, qui sont des associations nationales composées de représentants de groupes d'intérêt nationaux dans le secteur des produits laitiers, incluant des producteurs laitiers, des acteurs de l'industrie de transformation des produits laitiers, des fournisseurs de produits laitiers, des universitaires et des représentants des gouvernements/autorités chargées du contrôle des aliments.

L'ISO et la FIL collaborent étroitement sur toutes les activités de normalisation concernant les méthodes d'analyse et d'échantillonnage du lait et des produits laitiers. Depuis 2001, l'ISO et la FIL publient conjointement leurs Normes internationales en utilisant les logos et les numéros de référence des deux organisations.

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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

La présente Norme internationale a été élaborée par le Comité permanent de la FIL chargé des Méthodes d'analyse des additifs et contaminants et par le comité technique ISO/TC 34 *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5 *Lait et produits laitiers* (ISO/TC 34/SC 5).

L'ensemble des travaux a été confié au groupe de projet mixte ISO/FIL, *Détermination de la teneur en lysozyme de blanc d'œuf par chromatographie liquide haute performance* du Comité permanent chargé des Méthodes d'analyse des additifs et contaminants, sous la conduite de leurs chefs de projet, T. Berger (CH) et Prof. L. Pellegrino (IT).

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/63448434-66bb-46eb-b163-126fe49d0c75/iso-27105-2016>

Lait et fromage — Détermination de la teneur en lysozyme de blanc d'œuf par chromatographie liquide haute performance

1 Domaine d'application

La présente Norme spécifie une méthode pour la détermination quantitative de la teneur en lysozyme de blanc d'œuf dans le lait et les fromages.

La méthode est adaptée au mesurage de faibles niveaux de lysozyme de blanc d'œuf, avec une limite de quantification de 10 mg par kilogramme.

NOTE Le lysozyme (EC 3.2.1.17, muramidase) est une enzyme très répandue dans la nature ; elle est présente par exemple dans le blanc d'œuf (environ 3 % à 4 %), la salive et les larmes. Le lysozyme a un effet conservateur en raison de l'activité lytique sur la paroi de la cellule de certaines bactéries. Le lysozyme de blanc d'œuf est utilisé dans la fabrication du fromage afin d'empêcher le gonflement tardif des fromages à pâte demi-dure ou dure.

2 Termes et définitions

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

2.1

teneur en lysozyme de blanc d'œuf

fraction massique de substance, déterminée selon le mode opératoire spécifié dans la présente Norme

NOTE La teneur en lysozyme est exprimée en milligrammes par kilogramme.

3 Principe

Précipitation isoélectrique de la caséine et des protéines de lactosérum dénaturé provenant du lait et du fromage à pH 4,3 (fromage) ou à pH 2,2 (lait), puis détermination du lysozyme de blanc d'œuf soluble dans l'acide par chromatographie liquide haute performance (CLHP) en phase inverse et détection par fluorescence. Le pic du lysozyme peut être vérifié par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (CL-SM) (voir Annexe A).

4 Réactifs et substances de référence

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

4.1 Réactifs

4.1.1 Solution de chlorure de sodium, $c(\text{NaCl}) = 1 \text{ mol/l}$.

Dissoudre 58,44 g de chlorure de sodium dans 1 l d'eau.

4.1.2 Acide chlorhydrique, $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/l}$.

Dissoudre 4,0 ml d'acide chlorhydrique de fraction massique 37 % dans une fiole jaugée à un trait de 50 ml. Diluer avec de l'eau et compléter à 50 ml.

4.1.3 Hydroxyde de sodium, $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol/l}$.

Dissoudre 2,6 ml d'hydroxyde de sodium de fraction massique 50 % dans une fiole jaugée à un trait de 50 ml. Diluer avec de l'eau et compléter à 50 ml.

4.1.4 Acide trifluoroacétique (CF_3COOH), qualité analytique.

4.1.5 Acétonitrile, (CH_3CN), qualité CLHP.

4.1.6 Eau, qualité CLHP.

4.2 Lysozyme

Lysozyme de blanc d'œuf pur, par exemple Lysozyme, SIGMA L-6876¹⁾. Il est à noter qu'il est difficile d'obtenir un lysozyme suffisamment pur et caractérisé. Il est nécessaire de contrôler la variabilité d'un lot à l'autre.

5 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et, en particulier :

5.1 pH-mètre, ayant une précision de 0,1 unité

5.2 Filtre cylindrique, par exemple Schleicher & Schuell 595½, Ø 15 cm¹⁾

5.3 Membrane filtrante, de taille de pore 0,22 µm, par exemple Millipore Millex-GV PVDF 0,22 µm¹⁾. Les filtres d'autres fabricants doivent être soumis à des essais d'applicabilité.

5.4 Balance, capable de peser à 100 mg près et d'une résolution de 10 mg.

5.5 Balance analytique, capable de peser à 0,1 mg près et d'une résolution de 0,01 mg.

5.6 Agitateur magnétique

5.7 Homogénéisateur, Ultra turrax^{®1)} ou un autre appareil donnant des résultats équivalents, et capable de tourner à une fréquence de rotation de 3000 tr/min à 3500 tr/min.

5.8 Matériel de CLHP

5.8.1 Système de pompage permettant de réaliser une élution par gradient, capable de fonctionner à une vitesse de 1,0 ml/min.

5.8.2 Injecteur manuel ou automatique, capable d'injecter des quantités de 50 µl.

5.8.3 Four à colonne, capable de maintenir une température de 45 °C ± 2 °C.

5.8.4 Colonne, phase inverse, par exemple PLRP-S 300 Å¹⁾, 5 µm, 250 mm x 4,6 mm

5.8.5 Détecteur de fluorescence, capable de fonctionner à une longueur d'onde d'excitation de 280 nm et une longueur d'onde d'émission de 340 nm.

¹⁾ SIGMA L-6876, Schleicher&Schuell 595½, Millipore Millex-GV PVDF 0,22 µm, Ultra Turrax[®], PLRP-S 300 Å (Polymer Laboratories, Royaume Uni) sont des produits disponibles sur le marché. Cette information est donnée par souci de commodité à l'intention des utilisateurs de la présente Norme et ne saurait constituer un engagement de l'ISO ou de la FIL à l'égard de ces produits.

6 Échantillonnage

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^[1].

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon représentatif, n'ayant été ni endommagé, ni modifié lors du transport ou du stockage.

7 Mode opératoire

7.1 Préparation de la solution étalon de lysozyme

7.1.1 Solution étalon mère de lysozyme

Peser, à 0,01 mg près, 10 mg de lysozyme (4.2) dans une fiole jaugée à un trait de 10 ml et attendre la dissolution complète. Diluer avec la solution de chlorure de sodium (4.1.1) et compléter à 10 ml.

Préparer les solutions étalons mères pour utilisation le jour même.

7.1.2 Solution étalon de travail de lysozyme

Dans une fiole jaugée à un trait de 10 ml, introduire à la pipette 80 µl de solution étalon mère de lysozyme (7.1.1). Diluer avec la solution de chlorure de sodium (4.1.1) et compléter à 10 ml.

La solution étalon de travail de lysozyme ainsi obtenue contient 8,0 mg de lysozyme par litre.

7.2 Prise d'essai

7.2.1 Lait

Peser, à 0,01 g près, 10,00 g d'échantillon pour essai dans un bécher de 100 ml.

7.2.2 Fromage

Avant la pesée, râper les échantillons de fromage pour essai. Peser, à 0,01 g près, 2,00 g d'échantillon pour essai dans un bécher de 100 ml.

NOTE Le fromage à pâte molle peut être râpé après congélation.

7.2.3 Préparation de la prise d'essai

Ajouter 20 ml de solution de chlorure de sodium (4.1.1) à la prise d'essai (7.2.1 ou 7.2.2) et mélanger. Ajuster le pH de la solution obtenue en ajoutant des gouttes de la solution d'hydroxyde de sodium (4.1.3) pour obtenir un pH de 6,0.

Disperser la prise d'essai pendant 30 s à l'aide de l'homogénéisateur (5.7) à une fréquence de rotation de 2500 tr/min à 3000 tr/min. Rincer rapidement l'homogénéisateur dans un bécher séparé de 100 ml en utilisant 10 ml de la solution de chlorure de sodium (4.1.1). Ajouter le liquide de rinçage à la solution pour essai.

Agiter le bécher contenant la solution pour essai sur un agitateur magnétique à température ambiante pendant 1 h. Ajuster le pH de la prise d'essai obtenue à partir du lait (7.2.1) à pH 2,2 et celle obtenue à partir du fromage à pH 4,3 en utilisant l'acide chlorhydrique (4.1.2).

Transférer la solution pour essai dans une fiole jaugée à un trait de 50 ml. Utiliser la solution de chlorure de sodium (4.1.1) pour rincer le bécher de 100 ml. Compléter à 50 ml avec la solution de chlorure de sodium (4.1.1) et mélanger.

Laisser reposer la solution pour essai à température ambiante pendant au moins 15 min.