
**Fromages et fromages fondus —
Détermination de la teneur en acide
citrique — Méthode enzymatique**

*Cheese and processed cheese products — Determination of citric acid
content — Enzymatic method*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 2963:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/564188f9-f427-4248-b8be-0e2a5ec237ac/iso-2963-1997)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/564188f9-f427-4248-b8be-
0e2a5ec237ac/iso-2963-1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/564188f9-f427-4248-b8be-0e2a5ec237ac/iso-2963-1997)



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 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.

La Norme internationale ISO 2963 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*, en collaboration avec la Fédération internationale de laiterie (FIL) et l'AOAC INTERNATIONAL et sera également publiée par ces organismes.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 2963:1974), dont elle constitue une révision technique.

L'annexe A fait partie intégrante de la présente Norme internationale. Les annexes B et C sont données uniquement à titre d'information.

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 2963:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/564188f9-f427-4248-b8be-0e2a5ec237ac/iso-2963-1997)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/564188f9-f427-4248-b8be-0e2a5ec237ac/iso-2963-1997>

© ISO 1997

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 de l'éditeur.

Organisation internationale de normalisation
Case postale 56 • CH-1211 Genève 20 • Suisse
Internet central@iso.ch
X.400 c=ch; a=400net; p=iso; o=isocs; s=central

Imprimé en Suisse

Fromage et fromages fondus — Détermination de la teneur en acide citrique — Méthode enzymatique

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale prescrit une méthode enzymatique pour la détermination de la teneur en acide citrique des fromages et des fromages fondus.

ATTENTION – Des résultats reproductibles ne seront obtenus que si de bonnes pratiques de laboratoire (BPL) pour l'analyse enzymatique sont strictement appliquées. Ces règles BPL sont donnée en annexe A.

2 Définition

Pour les besoins de la présente Norme internationale, la définition suivante s'applique.

2.1 teneur en acide citrique: Fraction massique des substances, déterminée par la méthode prescrite dans la présente Norme internationale. Elle est exprimée en pourcentage en masse.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

3 Principe

Traitement d'un extrait d'échantillon par les enzymes et les substances biochimique suivantes:

- citrate lyase (CL) pour convertir l'acide citrique en oxaloacétate et acétate;
- malate déshydrogénase (MDH) et lactate déshydrogénase (LDH) en présence de nicotinamide-adénine-dinucléotide réduit (NADH) pour catalyser la réduction de l'oxaloacétate et de son produit de décarboxylation, le pyruvate, en L-malate et L-lactate respectivement avec la conversion simultanée de NADH en sa forme oxydée (NAD⁺).

Détermination de la diminution de concentration de NADH en mesurant l'absorbance de la solution d'essai à 340 nm. La teneur en acide citrique est proportionnelle à cette diminution de concentration de NADH.

4 Réactifs

Sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue, et de l'eau distillée dans le verre ou déminéralisée ou de pureté équivalente. Utiliser de l'eau bidistillée dans le verre pour la préparation des solutions enzymatiques.

4.1 Acide trichloroacétique, solution.

Dissoudre 200 g d'acide trichloroacétique (CCl₃COOH) dans l'eau et compléter à 1 000 ml avec de l'eau. Mélanger la solution.

4.2 Hydroxyde de sodium, solution A, $c(\text{NaOH}) = 5,0 \text{ mol/l}$.

Dissoudre 200,0 g d'hydroxyde de sodium dans l'eau dans une fiole jaugée de 1 000 ml (5.5) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau. Mélanger la solution.

4.3 Hydroxyde de sodium, solution B, $c(\text{NaOH}) = 1,0 \text{ mol/l}$.

Dissoudre 40,0 g d'hydroxyde de sodium dans l'eau dans une fiole jaugée de 1 000 ml (5.5) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau. Mélanger la solution.

4.4 Hydroxyde de sodium, solution C, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$.

Dissoudre 4,0 g d'hydroxyde de sodium dans l'eau dans une fiole jaugée de 1 000 ml (5.5) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau. Mélanger la solution.

4.5 Chlorure de zinc, solution

Dissoudre 0,80 g de chlorure de zinc (ZnCl_2) dans l'eau dans une fiole jaugée de 1 000 ml (5.5) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau. Mélanger la solution.

4.6 Solution tampon, de pH = 7,8.

Dissoudre 71,3 g de glycyglycine ($\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CONHCH}_2\text{CO}_2\text{H}$) dans environ 700 ml d'eau dans une fiole jaugée de 1 000 ml (5.5). Ajuster à pH 7,8 avec la solution A d'hydroxyde de sodium (4.2). Ajouter 100 ml de solution de chlorure de zinc (4.5) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau. Mélanger la solution.

Cette solution peut être conservée pendant 4 semaines si elle est conservée au réfrigérateur entre 0 °C et + 8 °C.

4.7 Hydrogénocarbonate de sodium, solution

Dissoudre 4,0 g d'hydrogénocarbonate de sodium (NaHCO_3) dans l'eau dans une fiole jaugée de 1 000 ml (5.5) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau. Mélanger la solution.

4.8 Solution de nicotinamide-adenine-dinucléotide réduit (NADH)

Dissoudre 50 mg de sel disodique de nicotinamide-adenine-dinucléotide réduit ($\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_7\text{O}_{14}\text{P}_2\text{Na}_2$) et 100 mg d'hydrogénocarbonate de sodium (NaHCO_3) dans 10 ml d'eau.

Cette solution peut être conservée pendant 4 semaines si elle est conservée au réfrigérateur entre 0 °C et + 8 °C.

4.9 Sulfate d'ammonium, solution, $c[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4] = 3,2 \text{ mol/l}$.

Dissoudre 422,4 g de sulfate d'ammonium dans l'eau dans une fiole jaugée de 1 000 ml (5.5) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau. Mélanger la solution.

4.10 Suspension de malate déshydrogénase/lactate déshydrogénase (MDH/LDH)

Mélanger des quantités équivalentes de malate déshydrogénase [MDH extraite de cœur de porc; suspension dans une solution de sulfate d'ammonium (4.9); pH d'environ 6; EC 1.1.1.37¹⁾] et de lactate déshydrogénase [LDH de muscle de lapin; suspension dans une solution de sulfate d'ammonium (4.9); pH d'environ 7; EC 1.1.1.27¹⁾] et diluer avec la solution de sulfate d'ammonium de manière à obtenir une suspension contenant environ 600 unités²⁾ de MDH par millilitre et 1 400 unités de LDH par millilitre.

Cette suspension peut être conservée pendant un an si elle est conservée au réfrigérateur entre 0 °C et + 8 °C.

¹⁾ Le nombre EC renvoie au nombre de la Classification des Enzymes, tel qu'il figure dans la publication [1].

²⁾ Cette unité (appelée fréquemment unité internationale ou unité standard) équivaut à la quantité d'enzymes nécessaire pour catalyser la transformation de 1 μmol de substrat par minute dans des conditions normalisées.

4.11 Citrate lyase, solution

Dissoudre suffisamment de citrate lyase [lyophilisat (CL) provenant d'*Aerobacter aerogenes*; EC 4.1.3.6] dans de l'eau glacée, de manière à obtenir une solution contenant 40 unités de CL par millilitre.

Cette solution peut être conservée pendant une semaine entre 0 °C et + 8 °C et pendant 4 semaines à – 20 °C.

4.12 Acide citrique, solution étalon

Dissoudre 1,600 g d'acide citrique monohydraté ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) dans de l'eau dans une fiole jaugée de 1 000 ml (5.5) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau. Mélanger la solution.

Il est important de tenir compte des dates de fabrication et de péremption des réactifs données par le fabricant.

NOTES

1 Si une suspension enzymatique est utilisée à une activité différente de celle prescrite, il convient que le volume de suspension indiqué dans le schéma 8.5.1 soit augmenté ou diminué proportionnellement.

2 Les réactifs tels que décrits en 4.5 à 4.12 inclus peuvent être obtenus dans le commerce sous forme d'un ensemble pour essais.

5 Appareillage

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

5.1 **Balance analytique**, précise à $\pm 0,1$ mg.

5.2 **pH-mètre**, précis à $\pm 0,1$ unité de pH à 25 °C.

5.3 **Béchers en verre**, de 50 ml de capacité.

5.4 **Homogénéisateur**, avec bécher adapté (l'Ultra-Turax[®] ou un équivalent convient).

5.5 **Fioles jaugées à un trait**, de 1 000 ml et 100 ml de capacité.

5.6 **Pipettes**, de 25 ml, 10 ml, 5 ml, 2 ml, 1 ml, 0,1 ml et 0,02 ml de capacité.

5.7 **Pipettes graduées**, de 10 ml de capacité, graduées en 0,1 ml.

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

5.9 **Entonnoir à filtre**, d'environ 7 cm de diamètre.

5.10 **Papier filtre**, de porosité moyenne, d'environ 15 cm de diamètre.

5.11 **Spectromètre**, capable d'effectuer des mesures à 340 nm et équipé de **cellules** en verre ou en quartz de 1 cm de parcours optique.

5.12 **Spatules en plastique**, destinées à agiter le mélange échantillon pour essai/enzyme dans la cellule du spectromètre.

^{a)} Ultra-Turax est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

5.13 Bain d'eau, réglable entre 20 °C et 25 °C, équipé d'un support adéquat pour maintenir la cellule du spectromètre (5.11) durant la période d'incubation (facultatif; voir 8.5.1).

NOTE 3 L'incubation des cellules dans le bain d'eau n'est nécessaire que si la température de la pièce est en dessous de 20 °C.

6 Échantillonnage

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

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode prescrite dans la présente Norme internationale. Une méthode d'échantillonnage recommandée est donnée dans l'ISO 707^[2].

7 Préparation de l'échantillon pour essai

7.1 Préparer un échantillon pour essai homogène, en évitant des pertes d'humidité, en utilisant l'une des méthodes suivantes.

a) **Fromage**

Enlever la croûte ou la surface moisie du fromage de manière à obtenir un échantillon représentatif du fromage tel qu'il est ordinairement consommé. Moudre ou râper l'échantillon avec un instrument approprié. Mélanger rapidement la masse moulue ou râpée et, si possible, moudre ou râper une seconde fois et mélanger bien à nouveau en agitant et en malaxant énergiquement.

b) **Fromage fondu**

Prélever un échantillon représentatif du produit. Mélanger rapidement la masse de l'échantillon et le moudre, si nécessaire, avec un instrument approprié. Mélanger bien en malaxant énergiquement.

c) **Fromage fondu contenant des morceaux d'autres aliments** (par exemple jambon, fruits, noix, fines herbes)
Constater si l'objectif de l'analyse est de doser l'acide citrique dans le fromage fondu proprement dit ou dans le produit entier. Procéder avec le produit entier comme dans le cas du fromage fondu, b). Dans le premier cas, séparer les morceaux de l'autre aliment et procéder comme dans le cas du fromage fondu, b).

7.2 Placer l'échantillon dans un récipient pourvu d'un couvercle parfaitement étanche à l'air, pour le conserver avant l'analyse. Fermer le récipient immédiatement. Il convient d'effectuer l'analyse le plus vite possible après la préparation de l'échantillon.

8 Mode opératoire

NOTE 4 S'il y a lieu de vérifier si l'expérience de répétabilité est satisfaite, effectuer deux déterminations séparées conformément à 8.2, 8.4 et 8.5 dans les conditions de répétabilité.

8.1 Essai de contrôle

8.1.1 Lorsqu'un nouveau lot de réactifs (4.5 à 4.12) est utilisé, ou lorsque ces réactifs ont été conservés au réfrigérateur sans utilisation pendant plus de 2 semaines, ou lorsque les analyses sont reprises après une période d'inactivité, ou chaque fois que les conditions peuvent le justifier, procéder à un essai de contrôle de l'acide citrique de la façon suivante.

8.1.2 Introduire, au moyen d'une pipette, dans chacune des deux fioles jaugées de 100 ml (5.5), respectivement 5,0 ml et 10,0 ml de la solution étalon d'acide citrique (4.12). Ajouter dans chaque fiole 10 ml de solution d'acide trichloroacétique (4.1). Compléter le contenu de chaque fiole à 100 ml avec de l'eau et mélanger. Déterminer la teneur en acide citrique de chacune des deux solutions comme décrit en 8.4.3 à 8.5.3 inclus.

L'essai doit être répéter jusqu'à obtenir des résultats satisfaisants.

8.2 Prise d'essai

Peser, à 0,1 mg près, 1 g ou plus de l'échantillon pour essai préparé (article 7) dans le bécher de l'homogénéisateur (5.4).

8.3 Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc en double, en procédant comme décrit en 8.4 et 8.5, en utilisant tous les réactifs, mais sans la prise d'essai.

8.4 Préparation de la suspension et défécation

8.4.1 Mettre en suspension la prise d'essai dans environ 50 ml d'eau chaude (40 °C à 50 °C) en utilisant l'homogénéisateur (5.4). Transférer quantitativement le contenu du bécher dans une fiole jaugée de 100 ml (5.5). Refroidir le contenu de la fiole jusqu'à environ 20 °C.

8.4.2 Ajouter à la suspension 10 ml d'acide trichloroacétique (4.1). Compléter au volume avec de l'eau, mélanger vigoureusement et laisser la préparation reposer pendant 30 min. Ne pas remélanger le contenu de la fiole avant la filtration.

8.4.3 Filtrer le liquide surnageant à travers un papier filtre (5.10), en rejetant les premiers millilitres du filtrat.

8.4.4 Prélever, à la pipette, 25 ml de filtrat dans un bécher (5.3) et ajuster le pH à environ 4 par addition de la solution B d'hydroxyde de sodium (4.3) et ensuite ajuster le pH à environ 8 par addition de la solution C d'hydroxyde de sodium (4.4) en utilisant le pH-mètre (5.2).

Transférer quantitativement le contenu du bécher dans une fiole jaugée de 100 ml (5.5). Compléter au volume avec de l'eau et mélanger.

8.4.5 Filtrer à travers un papier filtre (5.10), en rejetant les premiers millilitres de filtrat.

8.5 Détermination <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/564188f9-f427-4248-b8be-0e2a5ec237ac/iso-2963-1997>

8.5.1 Effectuer la détermination selon le schéma ci-dessous, en ayant soin d'amener la solution tampon (4.6) et l'eau à la température ambiante juste avant d'être utilisés.

a) Pipeter dans les cellules du spectromètre

	Pour la détermination de la prise d'essai ou pour l'essai de contrôle	Pour l'essai à blanc
Solution tampon (4.6)	1,00 ml	1,00 ml
Solution de NADH (4.8)	0,10 ml	0,10 ml
Suspension de MDH/LDH (4.10)	0,02 ml	0,02 ml
Filtrat de la prise d'essai ou de l'essai de contrôle	2,00 ml	–
Filtrat de l'essai à blanc	–	2,00 ml

b) Mélanger le contenu des cellules en utilisant les spatules en plastique (5.12) et incuber les solutions dans le bain d'eau (5.13) pendant 5 min à une température comprise entre 20 °C et 25 °C. Mesurer l'absorbance A_0 de la solution dans chaque cellule par rapport à l'air à l'aide du spectromètre (5.11) à une longueur d'onde de 340 nm.

- c) Ajouter 0,02 ml de solution de citrate lyase (4.11) pour la détermination de la prise d'essai ou de l'essai de contrôle ou de l'essai à blanc.
- d) Mélanger le contenu des cellules et incuber les solutions pendant 10 min à une température comprise entre 20 °C et 25 °C.
- e) Mesurer l'absorbance A_{10} de la solution dans chaque cellule par rapport à l'air.

8.5.2 Calculer l'absorbance A du contenu de chaque cellule, valeur nécessaire pour le calcul de la teneur en acide citrique (9.1) au moyen de l'équation (1).

$$A = A_0 - A_{10} \quad \dots(1)$$

où

A_0 est l'absorbance mesurée avant addition de citrate lyase;

A_{10} est l'absorbance mesurée après addition de citrate lyase et incubation de 10 min.

8.5.3 Si la diminution d'absorbance excède 0,800, répéter le mode opératoire décrit en 8.5.1 et 8.5.2, en utilisant une dilution aqueuse appropriée des filtrats provenant à la fois de la prise d'essai (8.4) et de l'essai à blanc (8.3).

9 Calculs et expression des résultats

9.1 Essai de contrôle

9.1.1 Calculer la teneur en acide citrique monohydraté, w_1 , de la solution étalon (4.12) selon l'équation (2), en utilisant les valeurs suivantes:

$M = 210,1$ g/mol (masse molaire de l'acide citrique monohydraté)

$V_5 = 1\ 000$ ml (4.12)

$V_6 = 5$ ml and 10 ml respectivement (voir 8.1.2)

$V_7 = 100$ ml (voir 8.1.2)

9.1.2 En tenant compte de la pureté de l'acide citrique monohydraté, la récupération pour chacune des deux dilutions (8.1.2) doit être de (100 ± 5) %.

Si les récupérations ne se situent pas dans ces limites, les réactifs, le mode opératoire, la précision des pipettes et les conditions d'emploi du spectromètre devront être vérifiés, et tout devra être fait pour obtenir des résultats satisfaisants.

9.2 Prise d'essai

Calculer la teneur en acide citrique, w , exprimée en pourcentage en masse d'acide citrique anhydre, au moyen de l'équation (2):

$$w = \frac{(A_s - A_r)M}{k l m} \times \frac{V_1 V_3 V_5}{V_2 V_4} \times \frac{V_7}{V_6} \times 100 \%$$

$$= \frac{1,915(A_s - A_r)}{m} \times \frac{V_7}{V_6} \%$$

...(2)

où

- A_s est la valeur numérique de l'absorbance mesurée pour la prise d'essai ou l'essai de contrôle;
- A_r est la valeur numérique de l'absorbance moyenne mesurée pour l'essai à blanc;
- M est la valeur numérique de la masse molaire de l'acide citrique (pour l'acide citrique anhydre $M = 192,1$);
- k est la valeur numérique du coefficient d'absorption molaire du NADH à 340 nm (c'est-à-dire $6,3 \times 10^6 \text{ cm}^2/\text{mol}$);
- l est la valeur numérique de la longueur du parcours optique des cellules du spectromètre ($l = 1 \text{ cm}$);
- m est la valeur numérique de la masse, en grammes, de la prise d'essai (8.2);
- V_1 est la valeur numérique du volume total du liquide dans la cellule du spectromètre ($V_1 = 3,14 \text{ ml}$);
- V_2 est la valeur numérique du volume du filtrat (8.4.5) dans la cellule du spectromètre ($V_2 = 2,00 \text{ ml}$);
- V_3 est la valeur numérique du volume de la solution déféquée et filtrée (8.4.3), après ajustement du pH à 8 et dilution (8.4.4) ($V_3 = 100 \text{ ml}$);
- V_4 est la valeur numérique du volume de la solution déféquée et filtrée (8.4.3), avant ajustement du pH à 8 (8.4.4) ($V_4 = 25 \text{ ml}$);
- V_5 est la valeur numérique du volume de la solution en 8.4.2 ($V_5 = 100 \text{ ml}$);
- V_6 est la valeur numérique du volume, en millilitres, du filtrat (8.4.5) avant dilution (8.5.3), si nécessaire;
- V_7 est la valeur numérique du volume, en millilitres, de la solution d'essai (8.4.5) après dilution (8.5.3), si nécessaire.
- <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5641889-f427-4248-b8be-0e2a5ec237ac/iso-2963-1997>

9.3 Expression des résultats

Exprimer les résultats à deux décimales. Il convient d'exprimer les résultats inférieurs ou égaux à 1 % à trois décimales.

10 Fidélité

Les valeurs de répétabilité et de reproductibilité ont été obtenues par des essais interlaboratoires effectués conformément à l'ISO 5725^{[3][4]}. Ces résultats font l'objet de l'annexe B.

10.1 Répétabilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels indépendants, obtenus à l'aide de la même méthode sur un matériau identique soumis à l'essai dans le même laboratoire par le même opérateur utilisant le même appareillage dans un court intervalle de temps, ne doit pas être supérieure à 5 % de la moyenne arithmétique des résultats.

10.2 Reproductibilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels, obtenus à l'aide de la même méthode sur un matériau identique soumis à l'essai dans des laboratoires différents par des opérateurs différents utilisant des appareillages différents, ne doit pas être supérieure à 8 % de la moyenne arithmétique des résultats.

11 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit indiquer:

- la méthode selon laquelle l'échantillonnage a été effectué, si elle est connue;
- la méthode utilisée;
- le(s) résultat(s) d'essai obtenu(s); et
- si la répétabilité a été vérifiée, le résultat final cité qui a été obtenu.

Il doit, en outre, mentionner tous les détails opératoires non prévus dans la présente Norme internationale, ou facultatifs, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur le(s) résultat(s) d'essai.

Le rapport d'essai doit donner tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 2963:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/564188f9-f427-4248-b8be-0e2a5ec237ac/iso-2963-1997)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/564188f9-f427-4248-b8be-0e2a5ec237ac/iso-2963-1997>

Annexe A (normative)

Règles de bonnes pratiques de laboratoire (BPL) relatives aux analyses enzymatiques

Les règles de bonnes pratiques de laboratoire pour les analyses enzymatiques sont souvent moins bien connues que celles relatives aux autres analyses chimiques. Il est à conseiller d'accorder une attention particulière à ces règles, afin d'obtenir des résultats d'une précision et d'une fidélité satisfaisantes.

Par conséquent, avant de procéder à une analyse, les règles de BPL qui figurent ci-après doivent être étudiées consciencieusement.

A.1 Réactifs

A.1.1 Utiliser uniquement des enzymes de la qualité prescrite (activité spécifique, concentration, contaminants possédant des activités enzymatiques, solvant).

A.1.2 Utiliser uniquement des coenzymes de la qualité prescrite (degré de pureté, sous forme de sel ou d'acide, contaminants).

A.1.3 Tous les autres réactifs doivent être de qualité analytique.

A.1.4 L'eau utilisée pour la préparation des solutions d'enzymes et des autres réactifs doit être bidistillée dans le verre.

A.1.5 L'eau utilisée pour la préparation des solutions d'échantillons doit être distillée dans le verre ou désionisée.

A.1.6 Conserver les réactifs ainsi que les solutions/suspensions d'enzymes selon les instructions du fabricant (en général, à une température comprise entre 0 °C et + 8 °C).

A.1.7 Ne pas congeler les suspensions d'enzymes.

A.1.8 Lorsque la date de péremption d'un réactif est dépassée, éliminer le réactif en question ou le soumettre à une vérification, en examinant des solutions étalons contenant des quantités variables de produit à analyser. Les absorbances obtenues doivent être proportionnelles aux concentrations.

A.1.9 Porter à la température ambiante les solutions tampons à la sortie du réfrigérateur, avant de les ajouter aux mélanges d'essai.

A.2 Cellules photométriques et spectrométriques

A.2.1 Utiliser des cellules en verre ou en matière plastique, dont le parcours optique est de 1 cm.

NOTE 5 Par rapport aux cellules en verre, les cellules en matière plastique présentent certains avantages:

- elles sont meilleur marché (non récupérables);
- un nombre plus élevé d'analyses est possible;
- les cellules en matière plastique provenant d'un même lot présentent entre elles une grande similarité en matière d'absorbance.

A.2.2 Avant l'emploi d'un nouveau lot de cellules, contrôler la longueur du parcours optique de ces cellules en la comparant à celle d'une cellule de précision (par exemple cellule en quartz) de la façon suivante: