
NORME INTERNATIONALE



3091

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION • МЕЖДУНАРОДНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ • ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION

Viandes et produits à base de viande — Détermination de la teneur en nitrates (Méthode de référence)

Meat and meat products — Determination of nitrate content (Reference method)

iTeh STANDARD PREVIEW

Première édition — 1975-09-01

(standards.iteh.ai)

[ISO 3091:1975](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c61692c8-ae30-4ef9-86d4-fba26e9b1787/iso-3091-1975)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c61692c8-ae30-4ef9-86d4-fba26e9b1787/iso-3091-1975>

CDU 637.5 : 546.175

Réf. n° : ISO 3091-1975 (F)

Descripteurs : viande, produit à base de viande, analyse chimique, dosage, nitrate.

AVANT-PROPOS

L'ISO (Organisation Internationale de Normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (Comités Membres ISO). L'élaboration de Normes Internationales est confiée aux Comités Techniques ISO. Chaque Comité Membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du Comité Technique correspondant. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO, participent également aux travaux.

Les Projets de Normes Internationales adoptés par les Comités Techniques sont soumis aux Comités Membres pour approbation, avant leur acceptation comme Normes Internationales par le Conseil de l'ISO.

La Norme Internationale ISO 3091 a été établie par le Comité Technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, et soumise aux Comités Membres en mai 1974.

ITeCh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Elle a été approuvée par les Comités Membres des pays suivants :

Afrique du Sud, Rép. d'	Éthiopie	Roumanie
Allemagne	France	Royaume-Uni
Australie	Hongrie	Tchécoslovaquie
Autriche	Inde	Thaïlande
Bulgarie	Irlande	Turquie
Danemark	Israël	U.R.S.S.
Égypte, Rép. arabe d'	Pays-Bas	Yougoslavie
Espagne	Pologne	

Le Comité Membre du pays suivant a désapprouvé le document pour des raisons techniques :

Canada

Viandes et produits à base de viande – Détermination de la teneur en nitrates (Méthode de référence)

1 OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

La présente Norme Internationale spécifie une méthode de référence pour la détermination de la teneur en nitrates des viandes et produits à base de viande.

2 RÉFÉRENCES

ISO 2918, *Viandes et produits à base de viande – Détermination de la teneur en nitrites (Méthode de référence)*.

ISO 3100, *Viandes et produits à base de viande – Échantillonnage*.

3 DÉFINITION

teneur en nitrates des viandes et produits à base de viande :
Teneur en nitrates déterminée suivant le mode opératoire décrit dans la présente Norme Internationale et exprimée en milligrammes de nitrate de potassium par kilogramme (parties par million).

4 PRINCIPE

Extraction à l'eau chaude d'une prise d'essai, précipitation des protéines et filtration.

Réduction des nitrates extraits dans le filtrat en nitrites, par du cadmium métallique. Obtention d'une coloration rouge par addition de chlorure de sulfanilamide et de chlorure de naphthyléthylènediamine au filtrat et mesurage photométrique à une longueur d'onde de 538 nm.

5 RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de pureté au moins équivalente.

5.1 Zinc en baguettes, d'environ 15 cm de longueur et 5 à 7 mm de diamètre.

5.2 Solutions utilisées pour la précipitation des protéines

5.2.1 Réactif I

Dissoudre 106 g d'hexacyanoferrate de potassium trihydraté $[K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O]$ dans de l'eau et compléter à 1 000 ml.

5.2.2 Réactif II

Dissoudre 220 g d'acétate de zinc dihydraté $[Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O]$ et 30 ml d'acide acétique cristallisable dans de l'eau et compléter à 1 000 ml.

5.2.3 Borax, solution saturée.

Dissoudre 50 g de tétraborate de sodium décahydraté $(Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O)$ dans 1 000 ml d'eau tiède et laisser refroidir à la température du laboratoire.

5.3 Sulfate de cadmium, solution à 30 g/l.

Dissoudre 37 g de sulfate de cadmium $(3CdSO_4 \cdot 8H_2O)$ dans de l'eau et compléter à 1 000 ml.

5.4 Acide chlorhydrique, solution environ 0,1 N.

Diluer 8 ml d'acide chlorhydrique concentré (ρ_{20} 1,19 g/ml) dans de l'eau et compléter à 1 000 ml.

5.5 Solution tampon ammoniacale, pH 9,6 à 9,7.

Diluer 20 ml d'acide chlorhydrique concentré (ρ_{20} 1,19 g/ml) avec 500 ml d'eau. Mélanger, ajouter 10 g de sel disodique de l'acide éthylène diamine tétracétique $[CH_2N(CH_2COOH)CH_2COONa]_2 \cdot 2H_2O$ et 55 ml d'hydroxyde d'ammonium concentré (ρ_{20} 0,88 g/ml). Compléter à 1 000 ml avec de l'eau et mélanger. Contrôler le pH.

5.6 Nitrite de sodium, solutions étalons.

Dissoudre 1,000 g de nitrite de sodium ($NaNO_2$) dans de l'eau et compléter à 100 ml dans une fiole jaugée. Transférer, à la pipette, 5 ml de cette solution dans une fiole jaugée de 1 000 ml. Ajuster au trait repère.

Préparer une série de solutions étalons en transférant, à la pipette, 5 ml, 10 ml et 20 ml de cette solution dans des fioles jaugées de 100 ml et en complétant au trait repère avec de l'eau. Ces solutions étalons contiennent respectivement 2,5 μ g, 5,0 μ g, et 10,0 μ g de nitrite de sodium par millilitre.

Les solutions étalons, ainsi que la solution de nitrite de sodium (à 0,05 g/l) dont elles proviennent, doivent être préparées le jour de leur utilisation.

5.7 Solutions pour le développement de la coloration

5.7.1 Solution I

Dissoudre par chauffage au bain d'eau 2 g de sulfanilamide ($\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$) dans 800 ml d'eau. Refroidir, filtrer, si nécessaire, et ajouter, en agitant, 100 ml d'acide chlorhydrique concentré (ρ_{20} 1,19 g/ml). Compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

5.7.2 Solution II

Dissoudre, dans l'eau, 0,25 g de chlorure de *N* naphthyl-1-éthylènediamine ($\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot 2\text{HCl}$). Compléter à 250 ml avec de l'eau.

Garder la solution dans un flacon brun foncé, bien fermé et la conserver au réfrigérateur, une semaine au maximum.

5.7.3 Solution III

Diluer à 1 000 ml, avec de l'eau, 445 ml d'acide chlorhydrique concentré (ρ_{20} 1,19 g/ml).

5.8 Nitrate de potassium, solution étalon.

Dissoudre 1,465 g de nitrate de potassium (KNO_3) dans de l'eau et compléter à 100 ml dans une fiole jaugée. Transférer, à la pipette, 5 ml de la solution dans une autre fiole jaugée de 1 000 ml et ajuster au trait repère.

Cette solution contient 73,25 $\mu\text{g/ml}$ de nitrate de potassium.

Cette solution étalon doit être préparée le jour même de son utilisation.

6 APPAREILLAGE

Matériel courant de laboratoire, et notamment :

6.1 Hachoir mécanique à viande, type de laboratoire, muni d'une plaque dont les trous ont un diamètre ne dépassant pas 4 mm.

6.2 Balance analytique.

6.3 Fioles jaugées, de 100 ml, 200 ml et 1 000 ml, conformes à l'ISO/R 1042, classe B.

6.4 Pipettes à un trait, de 20 ml et 10 ml et, si nécessaire, d'une autre capacité, selon le prélèvement aliquote (8.8.1), conformes à l'ISO/R 648, classe A.

6.5 Bain d'eau bouillante.

6.6 Papier filtre à plis, de 15 cm de diamètre environ, exempt de nitrites et de nitrates.

6.7 Appareil en verre, destiné à la réduction des nitrates (voir figure).

6.8 Colorimètre photoélectrique ou **spectrophotomètre** avec des cellules de 1 cm de parcours optique.

6.9 Fiole conique, de 300 ml.

7 ÉCHANTILLON

7.1 Opérer sur un échantillon représentatif d'au moins 200 g. Voir ISO 3100.

7.2 Préparer immédiatement l'échantillon pour essai (8.1) ou, si cela n'est pas possible, conserver l'échantillon, à une température comprise entre 0 et 5 °C, durant 4 jours au maximum.

8 MODE OPÉRATOIRE

8.1 Préparation de l'échantillon pour essai

Rendre l'échantillon homogène par au moins deux passages dans le hachoir à viande (6.1), et mélanger. Le conserver au froid dans un flacon étanche rempli complètement.

Analyser l'échantillon pour essai le plus rapidement possible, mais toujours dans les 24 h.

NOTE – Dans le cas des produits non cuits, analyser l'échantillon immédiatement après homogénéisation.

8.2 Préparation de la colonne de cadmium

8.2.1 Placer 3 à 5 baguettes de zinc (5.1) dans la solution de sulfate de cadmium (5.3) contenue dans un bécher (1 l de solution de sulfate de cadmium suffit pour préparer une colonne de cadmium).

8.2.2 Enlever, toutes les 1 ou 2 h, le cadmium métallique spongieux déposé sur les baguettes de zinc, en remuant celles-ci dans la solution ou en les frottant l'une contre l'autre.

8.2.3 Finalement, après 6 à 8 h, décanter la solution et laver le dépôt deux fois avec 1 l d'eau distillée, en prenant soin que le cadmium soit continuellement recouvert d'une couche de liquide.

8.2.4 Transvaser le dépôt de cadmium au moyen de 400 ml de la solution d'acide chlorhydrique (5.4) dans un appareil mélangeur pour laboratoire et mélanger durant 10 s.

Remettre le contenu du mélangeur dans le bécher.

8.2.5 Agiter de temps en temps le dépôt de cadmium à l'aide d'une baguette de verre. Laisser reposer durant une nuit dans la solution d'acide chlorhydrique, puis remuer encore une fois, afin d'éliminer toutes les bulles d'air du cadmium.

8.2.6 Décanter la solution et laver la bouillie de cadmium deux fois avec 1 l d'eau à chaque fois.

8.2.7 Adapter un tampon en fibre de verre au fond de la colonne en verre destinée à contenir le cadmium (voir figure).

8.2.8 Transvaser et laver le cadmium dans la colonne en verre en utilisant de l'eau jusqu'à ce que la hauteur de cadmium atteigne environ 17 cm. Vider la colonne de temps en temps pendant le remplissage, mais en prenant soin que le niveau du liquide ne tombe pas au-dessous du sommet du lit de cadmium. Éliminer les inclusions de gaz (par exemple à l'aide d'une aiguille à tricoter). Le liquide doit s'écouler avec une vitesse maximale de 3 ml/min.

8.3 Prise d'essai

Peser, à 0,001 g près, 10 g de l'échantillon pour essai.

8.4 Déprotéination

8.4.1 Transvaser quantitativement la prise d'essai dans la fiole conique (6.9) et ajouter, successivement, 5 ml de la solution saturée de borax (5.2.3) et 100 ml d'eau à une température minimale de 70 °C.

8.4.2 Chauffer la fiole durant 15 min au bain d'eau bouillante (6.5) et agiter à plusieurs reprises.

8.4.3 Laisser refroidir à la température ambiante la fiole et son contenu et ajouter successivement 2 ml du réactif I (5.2.1) et 2 ml du réactif II (5.2.2). Mélanger soigneusement après chaque addition.

8.4.4 Transvaser dans une fiole jaugée de 200 ml (6.3). Compléter jusqu'au trait repère avec de l'eau et mélanger. Laisser reposer durant 30 min à la température ambiante.

8.4.5 Laisser décanter soigneusement le liquide sur-nageant et filtrer sur un papier filtre à plis (6.6), afin d'obtenir une solution limpide.

NOTE – Dans le cas où il est demandé de déterminer à la fois la teneur en nitrites et en nitrates, sur le même échantillon, le même filtrat déprotéiné peut être utilisé pour les deux dosages.

8.5 Pré-traitement de la colonne de cadmium

Laver la colonne de cadmium successivement avec 25 ml de la solution d'acide chlorhydrique (5.4), 50 ml d'eau et 25 ml de la solution tampon ammoniacale (5.5) diluée à 1 + 9. Éviter que le niveau du liquide dans l'entonnoir ne tombe au-dessous du sommet du tube adducteur capillaire de la colonne.

8.6 Contrôle du pouvoir réducteur de la colonne de cadmium

8.6.1 Prélever 20 ml de la solution étalon de nitrate de potassium (5.8) avec une pipette, les verser dans le réservoir au sommet de la colonne, et ajouter, en même temps, 5 ml de la solution tampon ammoniacale (5.5). Recueillir l'effluent dans une fiole jaugée de 100 ml (6.3).

8.6.2 Lorsque le réservoir est presque vide, laver les parois avec environ 15 ml d'eau et répéter la même opération avec une autre fraction de 15 ml d'eau.

Lorsque cette fraction s'est écoulée dans la colonne, remplir le réservoir complètement avec de l'eau.

8.6.3 Après avoir recueilli presque 100 ml de liquide, enlever la fiole de la colonne. Ajuster au trait repère avec de l'eau.

8.6.4 Introduire, à la pipette, 10 ml d'éluat dans une fiole jaugée de 100 ml (6.3) et poursuivre selon les indications de 8.8.2 à 8.8.4.

8.6.5 Si la concentration de l'éluat en nitrites, déterminée à partir de la courbe d'étalonnage (voir 8.10), est inférieure à 0,9 µg de nitrite de sodium par millilitre (c'est-à-dire 90 % de la valeur théorique), la colonne de cadmium doit être rejetée.

8.7 Réduction des nitrates en nitrites

8.7.1 Introduire, à la pipette, dans le réservoir situé au sommet de la colonne, 20 ml du filtrat (8.4.5) et, en même temps, 5 ml de la solution tampon ammoniacale (5.5).

Recueillir l'effluent de la colonne dans une fiole jaugée de 100 ml (6.3).

8.7.2 Procéder comme spécifié en 8.6.2 et 8.6.3.

8.8 Colorimétrie

8.8.1 Introduire, à la pipette, dans une fiole jaugée de 100 ml (6.3), une partie aliquote de l'éluat (V ml) ne dépassant pas 25 ml et ajouter de l'eau de façon à obtenir un volume de 60 ml environ.

8.8.2 Ajouter 10 ml de la solution I (5.7.1) puis 6 ml de la solution III (5.7.3), mélanger et laisser la solution durant 5 min à la température ambiante, à l'obscurité.

8.8.3 Ajouter 2 ml de la solution II (5.7.2), mélanger et laisser la solution durant 3 à 10 min à la température ambiante, à l'obscurité. Compléter au trait repère avec de l'eau.

8.8.4 Mesurer l'absorbance de la solution au colorimètre photoélectrique ou au spectrophotomètre (6.8) dans une cellule de 1 cm de parcours optique à une longueur d'onde d'environ 538 nm.

NOTE – Si l'absorbance de la solution colorée obtenue à partir de la prise d'essai est supérieure à celle de la solution étalon la plus concentrée, recommencer les opérations décrites en 8.8 en diminuant la quantité d'éluat prélevée à la pipette en 8.8.1.

8.9 Nombre de déterminations

Effectuer deux déterminations indépendantes à partir de différentes portions prélevées sur l'échantillon pour essai.

8.10 Courbe d'étalonnage

8.10.1 Transférer, à la pipette, respectivement dans quatre fioles jaugées de 100 ml (6.3), 10 ml d'eau et 10 ml de chacune des trois solutions étalons de nitrite de sodium (5.6), représentant 2,5 µg, 5,0 µg et 10,0 µg de nitrite par millilitre.

8.10.2 Dans chaque fiole, ajouter de l'eau pour obtenir un volume de 60 ml environ, et procéder comme décrit de 8.8.2 à 8.8.4.

8.10.3 Tracer la courbe d'étalonnage en portant les absorbances mesurées en fonction des concentrations, en microgrammes par millilitre, de solution étalon de nitrite de sodium.

9 EXPRESSION DES RÉSULTATS

9.1 Mode de calcul et formule

Calculer la teneur en nitrate de l'échantillon, exprimée en milligrammes de nitrate de potassium par kilogramme, à l'aide de la formule

$$KNO_3 = 1,465 \left(c \times \frac{10\,000}{m \times V} - NaNO_2 \right)$$

où

m est la masse, en grammes, de la prise d'essai;

V est le volume, en millilitres, de la partie aliquote d'éluat (voir 8.8.1);

c est la concentration de nitrite de sodium, en microgrammes par millilitre, lue sur la courbe d'étalonnage, correspondant à l'absorbance de la solution préparée à partir de la prise d'essai (voir 8.8.4);

NaNO₂ est la teneur en nitrite de l'échantillon, exprimée en milligrammes de nitrite de sodium et déterminée par kilogramme, conformément aux prescriptions de l'ISO 2918.

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations si les conditions de répétabilité (voir 9.2) sont remplies. Exprimer le résultat, à 1 mg près, par kilogramme de produit.

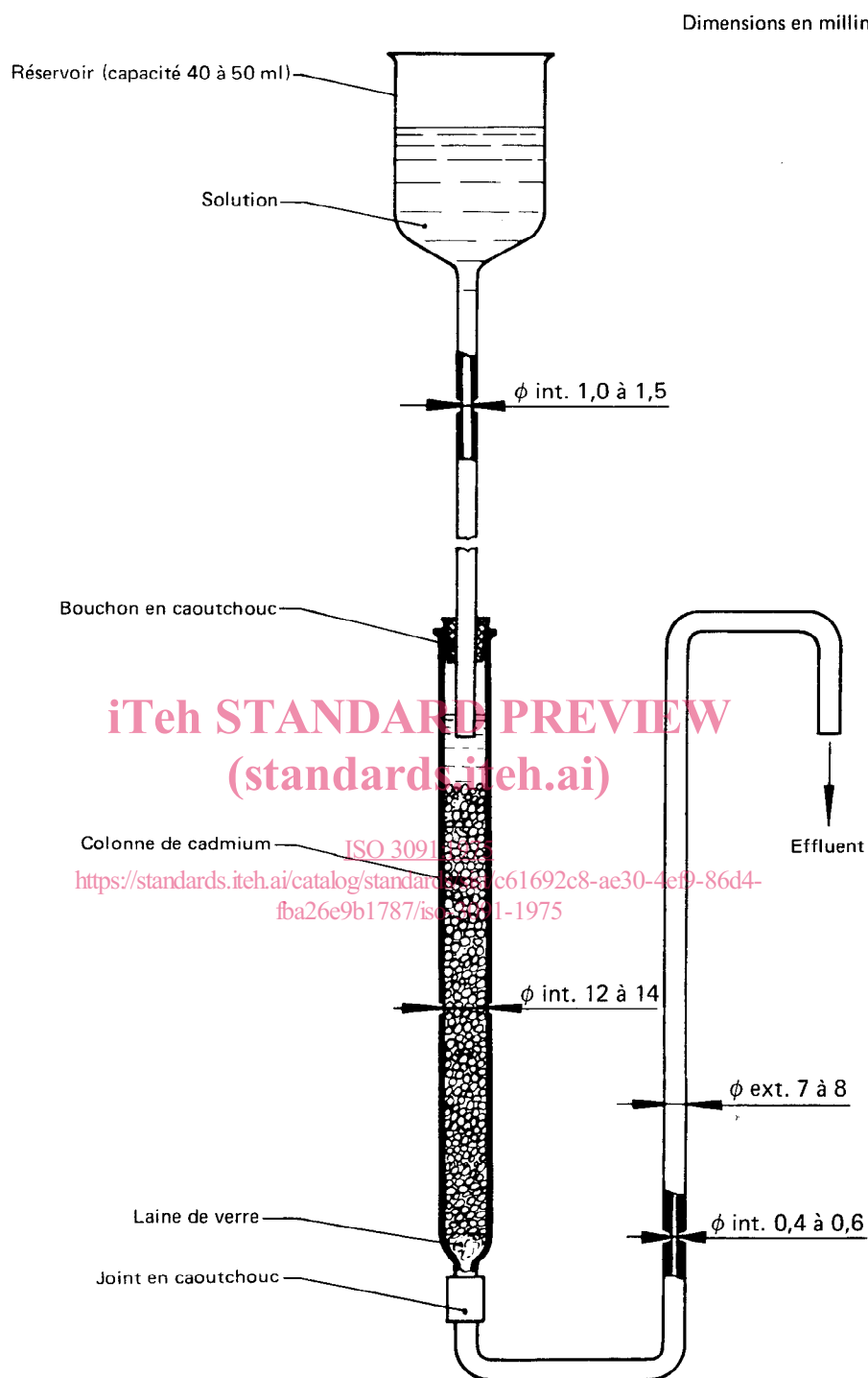
9.2 Répétabilité

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre, par le même analyste, ne doit pas être supérieure à 10 % de la valeur moyenne.

10 PROCÈS-VERBAL D'ESSAI

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et les résultats obtenus; 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 les résultats.

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



NOTE — Il est possible d'utiliser un raccord flexible entre le bas de la colonne et le tube capillaire effluent, afin de pouvoir ajuster la hauteur du capillaire et, en conséquence, la vitesse d'écoulement.

FIGURE — Appareil de réduction des nitrates

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 3091:1975

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c61692c8-ae30-4ef9-86d4-fba26e9b1787/iso-3091-1975>