



Norme internationale

ISO 11816-1

FIL 155-1

Lait et produits laitiers — Détermination de l'activité de la phosphatase alcaline —

Partie 1: Méthode fluorimétrique pour le lait et les boissons à base de lait

Milk and milk products — Determination of alkaline phosphatase activity —

Part 1: Fluorimetric method for milk and milk-based drinks

Quatrième édition
2024-01

iTeh Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

ISO 11816-1:2024

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/a612a896-3beb-4268-9822-62351c9c332d/iso-11816-1-2024>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO et FIL 2024

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, 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, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée 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 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Genève
Tél.: +41 22 749 01 11

E-mail: copyright@iso.org
Web: www.iso.org

Publié en Suisse

International Dairy Federation
Silver Building • Bd Auguste Reyers 70/B
B-1030 Brussels
Tél.: + 32 2 325 67 40
Fax: + 32 2 325 67 41
E-mail: info@fil-idf.org
Web: www.fil-idf.org

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	1
5 Réactifs	2
6 Appareillage	3
7 Échantillonnage	4
8 Préparations	4
8.1 Lait exempt de phosphatase alcaline	4
8.2 Préparation de l'échantillon pour essai	4
8.2.1 Généralités	4
8.2.2 Échantillons pour essai pasteurisés	4
8.2.3 Dilution des échantillons pour essai présentant des valeurs ALP élevées	4
9 Mode opératoire	4
9.1 Vérification des performances de l'instrument	4
9.1.1 Généralités	4
9.1.2 Essais de contrôle quotidien des instruments	5
9.1.3 Utilisation du FLM200	5
9.1.4 Utilisation du FLM300	5
9.1.5 Contrôles	5
9.2 Contrôles de réactifs pour évaluer l'adéquation du substrat de travail prêt à l'emploi (5.3)	6
9.3 Étalonnage	6
9.3.1 Généralités	6
9.3.2 Utilisation du FLM200	7
9.3.3 Utilisation du FLM300	7
9.4 Détermination	7
9.5 Contrôles relatifs aux échantillons pour essai	8
9.5.1 Essais recommandés de contrôle négatif et positif	8
9.5.2 Essai de substance interférente	8
9.5.3 Essai de contrôle de la phosphatase alcaline microbienne stable à la chaleur	8
10 Calcul et expression des résultats	9
10.1 Rapport d'étalonnage	9
10.2 Calcul	9
10.3 Expression des résultats d'essai	9
11 Fidélité	10
11.1 Essai interlaboratoires	10
11.2 Répétabilité	10
11.3 Reproductibilité	10
12 Rapport d'essai	10
Annexe A (informative) Essai interlaboratoires	11
Bibliographie	14

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 (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier, de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

L'ISO attire l'attention sur le fait que la mise en application du présent document peut entraîner l'utilisation d'un ou de plusieurs brevets. L'ISO ne prend pas position quant à la preuve, à la validité et à l'applicabilité de tout droit de brevet revendiqué à cet égard. À la date de publication du présent document, l'ISO n'avait pas reçu notification qu'un ou plusieurs brevets pouvaient être nécessaires à sa mise en application. Toutefois, il y a lieu d'avertir les responsables de la mise en application du présent document que des informations plus récentes sont susceptibles de figurer dans la base de données de brevets, disponible à l'adresse www.iso.org/brevets. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié tout ou partie de tels droits de brevet.

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir www.iso.org/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*, et par la Fédération Internationale du Lait (FIL), en collaboration avec le comité technique CEN/TC 302, *Lait et produits laitiers — Méthodes d'échantillonnage et d'analyse*, du Comité européen de normalisation (CEN), conformément à l'accord de coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne). Il est publié conjointement par l'ISO et la FIL.

Cette quatrième édition annule et remplace la troisième édition (ISO 11816-1 | FIL 155-1:2013), qui a fait l'objet d'une révision technique.

Les principales modifications sont les suivantes:

- le FLM200 (qui a été abandonné) a été remplacé par la version FLM300;
- les instructions d'utilisation de l'instrument et le flux de ces instructions ont été révisés conformément au FLM300, qui dispose d'une interface utilisateur et d'un système électronique améliorés (l'essai ou la procédure d'essai n'ont pas été modifiés à la suite des modifications apportées au logiciel et à l'interface);
- le bloc chauffant, qui était un élément séparé, fait désormais partie de l'instrument.

Une liste de toutes les parties de la série ISO 11816 | FIL 155 se trouve sur le site web de l'ISO.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

ISO 11816-1:2024(fr)
FIL 155-1:2024(fr)

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.

La FIL attire l'attention sur le fait que la mise en application du présent document peut entraîner l'utilisation d'un ou de plusieurs brevets. La FIL ne prend pas position quant à la preuve, à la validité et à l'applicabilité de tout droit de brevet revendiqué à cet égard. À la date de publication du présent document, la FIL n'avait pas reçu notification qu'un ou plusieurs brevets pouvaient être nécessaires à sa mise en application. Toutefois, il y a lieu d'avertir les responsables de la mise en application du présent document que des informations plus récentes sont susceptibles de figurer dans la base de données de brevets, disponible à l'adresse www.iso.org/brevets. La FIL ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié tout ou partie de tels droits de propriété.

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Le présent document a été élaboré par le *Comité permanent* de la FIL chargé des *Méthodes d'analyse pour les auxiliaires technologiques et indicateurs* et par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*. Il est publié conjointement par l'ISO et la FIL.

L'ensemble des travaux a été confié au groupe de travail mixte ISO/FIL P19 du *Comité permanent chargé des Méthodes d'analyse pour les auxiliaires technologiques et indicateurs*, sous la conduite de son chef de projet, M. Rick Zampa (États-Unis).

ISO 11816-1:2024

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/a612a896-3beb-4268-9822-62351c9c332d/iso-11816-1-2024>

Lait et produits laitiers — Détermination de l'activité de la phosphatase alcaline —

Partie 1:

Méthode fluorimétrique pour le lait et les boissons à base de lait

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie une méthode fluorimétrique pour la détermination de l'activité de la phosphatase alcaline (ALP) (EC 3.1.3.1) dans les laits crus et traités thermiquement entiers, demi-écrémés, écrémés et les laits aromatisés.

La méthode est applicable au lait et aux boissons à base de lait de vache, de brebis et de chèvre. Elle est également applicable au lait en poudre après reconstitution.

L'instrument utilisé pour la détermination de l'ALP peut lire des activités jusqu'à 7 000 mU/l (milliunités par litre). Si l'activité est supérieure à 7 000 mU/l, une dilution avec du lait exempt d'ALP est effectuée de façon à obtenir un mesurage ne dépassant pas 7 000 mU/l.

2 Références normatives

Le présent document ne contient aucune référence normative.

3 Termes et définitions

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

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

- ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: disponible à l'adresse <https://www.electropedia.org/>

3.1

activité de la phosphatase alcaline

activité ALP

activité de l'enzyme présente dans le produit, déterminée suivant le mode opératoire spécifié

Note 1 à l'article: L'activité ALP est exprimée en milliunités d'activité enzymatique par litre d'échantillon (mU/l).

4 Principe

L'activité ALP de l'échantillon se mesure en effectuant un essai cinétique direct fluorimétrique continu. Un substrat d'ester monophosphorique aromatique non fluorescent, 2'-[2-benzothiazolyl]-6'-hydroxybenzothiazole phosphate, en présence d'ALP issue de l'échantillon, subit une hydrolyse de son radical phosphate et produit un composé hautement fluorescent. Le mesurage fluorimétrique de l'activité ALP est effectué à 38 °C

sur une période de 3 min lorsque l'on utilise un Fluorophos^{®1)}. Ce mesurage comprend la préincubation du substrat et de l'échantillon, suivie de plusieurs lectures cinétiques de la vitesse de réaction.

NOTE Bien que l'essai dure 3 min, la première minute est une période d'équilibrage afin de s'assurer que l'échantillon est à 38 °C. Les mesurages d'activité sont en effet réalisés du début de la deuxième minute à la fin de la troisième minute (c'est-à-dire sur une période de 2 min).

5 Réactifs

Au cours de l'analyse, sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déminéralisée ou de l'eau de pureté équivalente.

Les réactifs spécifiés en 5.1 à 5.5 et les appareils spécifiés en 6.1 à 6.4 (sauf 6.3.3) comprennent le Fluorophos[®] Test System²⁾. La configuration des emballages fournis avec le Fluorophos[®] Test System peut être modifiée par le fabricant. Il convient que l'utilisateur se réfère aux instructions du fabricant pour la préparation des réactifs s'ils se révèlent différents de ceux spécifiés dans le présent document.

5.1 Substrat Fluorophos[®] en flacons, contenant chacun 144 mg de poudre de substrat Fluorophos[®], masse molaire de 580 g/mol.

Il s'agit d'un substrat d'ester monophosphorique aromatique non fluorescent, 2'-[2-benzothiazolyl]-6'-hydroxybenzothiazole phosphate (Fluorophos[®]).

Le substrat Fluorophos[®] reste stable pendant 2 ans après sa date de fabrication lorsqu'il est conservé, dans le flacon non ouvert, entre 2 °C et 8 °C. Garder à l'abri de la lumière.

5.2 Solution tampon de substrat, solution tampon de diéthanolamine (DEA), $c(\text{DEA}) = 2,4 \text{ mol/l}$, valeur de pH de 10,0, en flacons de 240 ml.

La solution tampon de substrat reste stable pendant deux ans après sa date de fabrication lorsqu'elle est conservée, dans le flacon non ouvert, entre 2 °C et 8 °C. Garder à l'abri de la lumière.

5.3 Substrat de travail

Amener le substrat Fluorophos[®] (5.1) et la solution tampon de substrat (5.2) à température ambiante. Ajouter le contenu d'un flacon de solution tampon de substrat (240 ml) (5.2) à un flacon de substrat Fluorophos[®] (144 mg) (5.1), puis mélanger avec soin en retournant le récipient pendant 3 min pour créer une solution d'environ 1,0 mmol (valeur de pH 10). Utiliser un verre ambré pour protéger de la lumière.

Laisser la solution ainsi obtenue reposer à température ambiante pendant au moins 30 min avant utilisation.

Utiliser l'essai analogique/numérique (A/D) donné en 9.2 pour vérifier que le substrat de travail prêt pour utilisation est bon. Ne pas utiliser le substrat de travail en cas d'obtention d'une valeur supérieure à 1 200 FLU (unités de fluorescence).

Le substrat de travail reste stable pendant 60 jours lorsqu'il est conservé à l'abri de la lumière entre 2 °C et 8 °C, ou pendant 8 h lorsqu'il est conservé à 38 °C.

NOTE Le volume de substrat de travail obtenu (240 ml) suffit pour effectuer environ 115 essais.

1) Fluorophos[®] est la marque déposée d'un produit distribué par Advanced Instruments, LLC. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuve l'emploi du produit ainsi désigné. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils aboutissent aux mêmes résultats.

2) Le Fluorophos[®] Test System est l'appellation commerciale d'un produit distribué par Advanced Instruments, LLC. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuve l'emploi du produit ainsi désigné. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils aboutissent aux mêmes résultats.

5.4 Solutions étalons, Fluoroyellow^{®3)} (FY) [2'-(2-benzothiazolyl)-6'-hydroxybenzothiazole] dans une solution tampon de substrat (5.2).

Les solutions étalons restent stables pendant 18 mois après leur date de fabrication lorsqu'elles sont conservées dans des flacons non ouverts entre 2 °C et 8 °C. Mélanger doucement avant utilisation pour obtenir des résultats optimaux.

5.4.1 Solution étalon A, contenant 0 µmol/l de Fluoroyellow[®].

5.4.2 Solution étalon B, contenant $17,24 \times 10^{-3}$ µmol/l de Fluoroyellow[®].

5.4.3 Solution étalon C, contenant $34,48 \times 10^{-3}$ µmol/l de Fluoroyellow[®].

5.5 Solution de contrôle quotidien des instruments, contenant $34,48 \times 10^{-3}$ µmol/l de Fluoroyellow[®].

La solution de contrôle quotidien des instruments reste stable pendant 18 mois après sa date de fabrication lorsqu'elle est conservée dans des flacons non ouverts entre 2 °C et 8 °C. Mélanger doucement avant utilisation pour obtenir des résultats optimaux.

6 Appareillage

Utiliser le matériel courant de laboratoire et, en particulier, ce qui suit.

6.1 Fluorimètre à filtre, avec un support de cuvettes à contrôle thermostatique, capable de fonctionner à 38 °C ±1 °C et avec une optique à angle droit, permettant une excitation à une longueur d'onde de 440 nm et une émission entre 520 nm et 560 nm [instrument Fluorophos[®]] par exemple].

6.2 Cuvettes, jetables, en verre non fluorescent, de 12 mm de diamètre et de 75 mm de longueur.

6.3 Pipettes

6.3.1 Pipette à volume fixe, permettant de délivrer 2,0 ml.

6.3.2 Pipette à déplacement positif ou pipette à piston, de 0,075 ml de capacité.

Suivre à la lettre les instructions de la technique de pipetage, car cette étape est cruciale pour l'obtention de résultats précis. Veiller à bien immobiliser le piston de l'alésage de la pipette avant utilisation.

6.3.3 Pipettes, de 2 ml et 3 ml de capacité.

6.4 Bloc d'incubation, pouvant maintenir une température de 38 °C ±1 °C et pouvant contenir des cuvettes.

6.5 Film plastique de paraffine (par exemple Parafilm^{®4)}) ou autre film approprié de qualité pour laboratoire.

6.6 Agitateur Vortex

3) Fluoroyellow[®] est la marque déposée d'un produit distribué par Advanced Instruments, LLC. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuvent ou recommandent l'emploi exclusif des produits ainsi désignés. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils aboutissent aux mêmes résultats.

4) Parafilm[®] est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuve l'emploi du produit ainsi désigné.

6.7 Bain d'eau, pouvant maintenir une température de $63\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ et $95\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.

6.8 Fioles jaugées à un trait, de 100 ml de capacité.

7 Échantillonnage

Il convient qu'un échantillon représentatif ait été envoyé au laboratoire. Il convient qu'il n'ait été ni endommagé ni modifié au cours du transport ou du stockage.

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans le présent document. Une méthode d'échantillonnage recommandée est fournie dans l'ISO 707 | FIL 50.

8 Préparations

8.1 Lait exempt de phosphatase alcaline

Préparer du lait exempt d'ALP, du même type que l'échantillon à analyser, en versant avec soin la quantité de lait voulue dans un tube à essai ou dans un récipient adapté, en veillant à ce que le lait ne touche pas le bord ou les côtés du récipient.

Placer le tube ou le récipient contenant le lait dans le bain d'eau (6.7) réglé à 95 °C . Préchauffer le lait à 95 °C avant de démarrer la période de chauffage de 5 min à cette température. Contrôler la température à l'aide d'un thermomètre ou d'une sonde à thermistance, placée au centre du tube ou du récipient. Lorsque la température du lait atteint 95 °C , démarrer immédiatement son temps de chauffage de 5 min. Refroidir rapidement le lait à la fin du temps de chauffage.

Soumettre à essai le lait ainsi traité afin de s'assurer que son activité ALP est inférieure à 10 mU/l.

8.2 Préparation de l'échantillon pour essai

8.2.1 Généralités

Mélanger soigneusement tous les échantillons pour essai avant utilisation.

NOTE Il est généralement inutile de préchauffer les échantillons pour essai.

8.2.2 Échantillons pour essai pasteurisés

Utiliser les échantillons pour essai pasteurisés tels que livrés, dans les quantités requises.

8.2.3 Dilution des échantillons pour essai présentant des valeurs ALP élevées

Préparer des dilutions des échantillons de lait en utilisant du lait exempt d'ALP (8.1), de manière à ce que leurs niveaux d'ALP se situent dans la plage analytique de l'essai ($< 7\,000\text{ mU/l}$). Mélanger soigneusement les solutions diluées.

9 Mode opératoire

9.1 Vérification des performances de l'instrument

9.1.1 Généralités

Il est important de vérifier les performances de l'instrument en matière d'écarts, de lumière parasite et de stabilité avant de procéder à l'analyse des échantillons pour essai. Veiller à utiliser le fluorimètre à filtre (6.1) conformément aux principes de bonnes pratiques de laboratoire.