

# NORME INTERNATIONALE 3495

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

## Lait sec — Détermination de la teneur en acide lactique et en lactates

*Dried milk — Determination of lactic acid and lactates content*

Première édition — 1975-10-15

A annuler  
(ait devenue  
ISO 8069-1986)  
IPG

CDU 637.143 : 547.472.3

Réf. n° : ISO 3495-1975 (F)

Descripteurs : produit agricole, produit laitier, lait en poudre, analyse chimique, dosage, acide lactique, lactate.

Prix basé sur 3 pages

## 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 3495 a été établie par le Comité Technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, et soumise aux Comités Membres en avril 1974.

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

Afrique du Sud, Rép. d'	Espagne	<del>Pays-Bas</del>
Allemagne	Éthiopie	Pologne
Autriche	France	Roumanie
Belgique	Ghana	Tchécoslovaquie
Bulgarie	Hongrie	Thaïlande
Canada	Inde	Turquie
Chili	Iran	U.R.S.S.
Égypte, Rép. arabe d'	Israël	Yougoslavie

Les Comités Membres des pays suivants ont désapprouvé le document pour des raisons techniques :

Nouvelle-Zélande  
Royaume-Uni

---

Cette Norme Internationale a été élaborée conjointement avec la FIL (Fédération Internationale de Laiterie) et l'AOAC (Association des Chimistes Analytiques Officiels, U.S.A.). Le texte, approuvé par les organisations susmentionnées, a été également publié par la FIL (Norme FIL n° 69) et par l'AOAC (Official Methods of Analysis).

# Lait sec — Détermination de la teneur en acide lactique et en lactates

## 1 OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

La présente Norme Internationale spécifie une méthode colorimétrique pour la détermination de la teneur en acide lactique et en lactates du lait sec.

La méthode est applicable au lait sec entier, ou écrémé, ou partiellement écrémé.

## 2 RÉFÉRENCES

ISO/R 707, *Lait et produits laitiers — Méthode d'échantillonnage.*

ISO/R 1736, *Lait sec — Détermination de la teneur en matière grasse (Méthode de référence).*

ISO . . . , *Lait sec — Détermination de la teneur en eau.*<sup>1)</sup>

## 3 DÉFINITION

**teneur en acide lactique et en lactates du lait sec :** Quantité de substances déterminée par la méthode décrite. La teneur en acide lactique et en lactates est exprimée en milligrammes d'acide lactique pour 100 g de matière sèche dégraissée.

## 4 PRINCIPE

4.1 Après reconstitution du lait liquide, à partir d'une prise d'essai de lait sec, élimination simultanée de la matière grasse, des protéines et du lactose par addition de sulfate de cuivre(II) et d'hydroxyde de calcium, puis filtration.

4.2 Transformation en acétaldéhyde de l'acide lactique contenu dans le filtrat, au moyen d'une solution sulfurique de sulfate de cuivre(II).

4.3 Détermination de l'acétaldéhyde formé par photométrie en présence de *p*-hydroxydiphényle.

## 5 RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée dans un appareil en verre ou de l'eau de pureté au moins équivalente, exempte de matières organiques.

### 5.1 Sulfate de cuivre(II), solution.

Dissoudre 250 g de sulfate de cuivre(II) ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) dans de l'eau et compléter jusqu'au trait repère dans une fiole jaugée de 1 000 ml.

### 5.2 Hydroxyde de calcium, suspension.

Broyer 300 g d'hydroxyde de calcium [ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ] avec un total de 900 ml d'eau dans un mortier. Conserver la suspension dans un flacon bouché hermétiquement.

### 5.3 Sulfate de cuivre(II), solution sulfurique.

Ajouter 0,5 ml de la solution de sulfate de cuivre (5.1) à 300 ml d'acide sulfurique de 95,5 à 97,0 % (*m/m*) de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

### 5.4 *p*-hydroxydiphényle ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$ ), solution.

Dissoudre, par agitation et en chauffant légèrement, 0,75 g de *p*-hydroxydiphényle dans 5 ml d'une solution contenant 50 g/l d'hydroxyde de sodium, et compléter avec de l'eau, jusqu'au trait repère, dans une fiole jaugée de 50 ml.

Conserver la solution dans un flacon en verre brun, à l'obscurité et au frais. Ne pas utiliser cette solution si sa couleur change ou s'il se produit un trouble.

5.5 **Lactate de lithium** ( $\text{CH}_3\text{CHOHCOOLi}$ ), solution étalon correspondant à 0,1 mg d'acide lactique par millilitre.

Dissoudre, peu de temps avant l'emploi, 0,106 7 g de lactate de lithium dans l'eau et compléter jusqu'au trait repère dans une fiole jaugée de 1 000 ml.

### 5.6 Lait reconstitué, préparé en opérant selon 8.3.

Analyser au préalable, selon le mode opératoire décrit dans la présente Norme Internationale, plusieurs échantillons de lait sec de très bonne qualité.

Pour l'établissement de la courbe d'étalonnage, sélectionner l'échantillon ayant la teneur la plus faible en acide lactique, au maximum 30 mg d'acide lactique pour 100 g de matière sèche dégraissée.

1) En préparation.

## 6 APPAREILLAGE

Pour appliquer convenablement cette méthode, il est indispensable que toute la verrerie soit parfaitement propre. N'utiliser que de la verrerie réservée exclusivement à cette méthode.

Matériel courant de laboratoire et, notamment, les appareils énumérés ci-après.

**6.1 Spectrophotomètre ou photocolorimètre**, permettant la lecture à une longueur d'onde de 570 nm. Dans le cas d'utilisation d'un colorimètre à filtres, choisir le filtre permettant la lecture aussi proche que possible de cette longueur d'onde.

**6.2 Bain d'eau**, à  $30 \pm 2$  °C.

**6.3 Bain d'eau bouillante.**

**6.4 Papier filtre** (Whatman nos 1, S et S 595 ou équivalent).

**6.5 Tubes à essais**, en verre résistant à la chaleur (dimensions 25 mm X 150 mm).

**6.6 Fioles jaugées**, capacités 50 ml et 1 000 ml, conformes à l'ISO 1042, ou **tubes en verre**, jaugés à 50 ml et munis de bouchons.

**6.7 Pipettes**, permettant de délivrer 1, 2, 3, 4 et 5 ml, conformes à l'ISO/R 648 ou l'ISO/R 835.

**6.8 Pipette**, capable de délivrer 6,0 ml avec une précision de  $\pm 0,05$  ml. Une pipette automatique convient ou, à défaut, une pipette de 10 ml conforme à l'ISO/R 835, classe A, ou une burette de 10 ml conforme à l'ISO/R 385, classe A.

## 7 ÉCHANTILLONNAGE

Voir ISO/R 707.

## 8 MODE OPÉRATOIRE

NOTE — Au cours de l'exécution du mode opératoire, éviter toute contamination de l'échantillon par des impuretés, notamment par la salive et la transpiration.

### 8.1 Préparation de l'échantillon pour essai

Transvaser l'échantillon pour laboratoire dans un récipient propre et sec (muni d'un bouchon étanche) d'une capacité d'environ deux fois le volume de l'échantillon. Fermer le récipient immédiatement et mélanger soigneusement le produit en secouant à plusieurs reprises et en retournant le récipient. Pendant la préparation de l'échantillon pour essai, éviter, dans toute la mesure du possible, d'exposer le produit à l'atmosphère, afin de réduire au minimum l'absorption d'humidité.

### 8.2 Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc en même temps que l'analyse de l'échantillon en versant 35 ml d'eau dans une fiole jaugée de 50 ml ou dans un tube en verre (6.6) et en traitant cette fiole comme décrit de 8.4.2 à 8.4.9 inclus, puis mesurer l'absorbance par rapport à l'eau.

Si le résultat de l'essai à blanc dépasse l'équivalent de 20 mg d'acide lactique pour 100 g de matière sèche dégraissée, vérifier les réactifs et remplacer le (ou les) réactif(s) impur(s).

### 8.3 Prise d'essai

**8.3.1** Calculer le pourcentage en masse,  $a$ , de matière sèche dégraissée de l'échantillon à l'aide de la formule

$$a = 100 - (G + H)$$

où

$G$  est la teneur en matière grasse de l'échantillon pour essai, selon l'ISO/R 1736;

$H$  est la teneur en eau de l'échantillon pour essai, selon l'ISO...

NOTE — En attendant la publication d'une Norme Internationale appropriée, la méthode utilisée pour la teneur en eau doit être précisée dans le procès-verbal d'essai.

**8.3.2** Peser, à 0,1 g près, une quantité de l'échantillon pour essai égale à  $\frac{1\ 000}{a - 10}$  g. Ajouter cette quantité à 100 ml d'eau et mélanger soigneusement.

### 8.4 Détermination

**8.4.1** Au moyen d'une pipette (6.7), introduire dans une fiole jaugée de 50 ml ou dans un tube en verre jaugé (6.6) 5 ml de la solution obtenue et diluer avec de l'eau jusqu'à environ 35 ml.

**8.4.2** Ajouter, lentement et en agitant, 5 ml de la solution de sulfate de cuivre(II) (5.1) et laisser reposer durant 10 min.

**8.4.3** Ajouter, lentement et en agitant, 5 ml de la suspension d'hydroxyde de calcium (5.2) et laisser reposer durant 10 min.

**8.4.4** Compléter jusqu'au trait repère avec de l'eau, agiter vigoureusement et filtrer. Rejeter les premières gouttes du filtrat.

**8.4.5** Introduire, dans le fond d'un tube à essais (6.5), 1 ml de filtrat prélevé au moyen d'une pipette (6.7).

**8.4.6** Ajouter au contenu du tube, au moyen d'une pipette automatique ou d'un autre dispositif convenable (6.8), 6,0 ml de la solution sulfurique de sulfate de cuivre(II) (5.3). Mélanger.

**8.4.7** Chauffer le tube à essais au bain d'eau bouillante (6.3) durant 5 min. Refroidir ensuite à la température ambiante au moyen d'eau courante.

**8.4.8** Ajouter 2 gouttes de la solution de *p*-hydroxy-diphényle (5.4), et agiter vigoureusement pour répartir uniformément le réactif dans tout le liquide. Placer le tube à essais dans le bain d'eau à  $30 \pm 2$  °C (6.2), et l'y maintenir durant 15 min en agitant de temps en temps.

**8.4.9** Placer le tube à essais dans le bain d'eau bouillante (6.3) durant 90 s. Refroidir ensuite à la température ambiante au moyen d'eau courante.

**8.4.10** Dans un délai de 3 h, mesurer l'absorbance par rapport à l'essai à blanc (8.2), en opérant au spectrophotomètre ou au photocolorimètre (6.1) à la longueur d'onde de 570 nm ou, si l'on utilise un colorimètre à filtres, à une longueur d'onde aussi proche que possible de cette valeur.

**8.4.11** Si le chiffre obtenu pour l'absorbance dépasse le point le plus élevé de la courbe d'étalonnage (8.5), répéter la détermination en opérant sur une dilution appropriée du filtrat obtenu comme décrit en 8.4.4.

## 8.5 Courbe d'étalonnage

**8.5.1** Introduire respectivement, dans cinq fioles jaugées de 50 ml, ou dans cinq tubes en verre jaugés (6.6), 5 ml de lait reconstitué (5.6) prélevés à la pipette.

Ajouter respectivement, dans ces fioles ou dans ces tubes, 0, 1, 2, 3 et 4 ml de la solution étalon de lactate de lithium (5.5), correspondant à 0, 20, 40, 60 et 80 mg d'acide lactique ajouté pour 100 g de matière sèche dégraissée.

**8.5.2** Diluer chaque étalon jusqu'à 35 ml environ et opérer comme décrit de 8.4.2 à 8.4.10.

**8.5.3** Porter sur un graphique les absorbances mesurées en fonction des masses d'acide lactique.

Tracer la droite la plus satisfaisante correspondant à ces points. La courbe d'étalonnage est obtenue en traçant une droite parallèle passant par l'origine.

## 9 EXPRESSION DES RÉSULTATS

### 9.1 Mode de calcul

Au moyen de la courbe d'étalonnage (8.5.3), convertir l'absorbance, mesurée comme indiqué en 8.4.10 ou 8.4.11, en milligrammes d'acide lactique pour 100 g de matière sèche dégraissée dans l'échantillon pour essai. Si le filtrat a été dilué selon 8.4.11, multiplier la valeur obtenue par le facteur de dilution correspondant.

### 9.2 Répétabilité

La différence entre les résultats de deux déterminations, effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre par le même analyste utilisant le même appareillage, ne doit pas dépasser 8 mg d'acide lactique par 100 g de matière sèche dégraissée pour des teneurs allant jusqu'à 80 mg. Pour des valeurs plus élevées, cette différence ne doit pas dépasser 10 % de la valeur inférieure.

## 10 PROCÈS-VERBAL D'ESSAI

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et le résultat 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 résultat. (Voir également la note en 8.3.1.)

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

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

ISO 3495:1975

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/0796b506-f08b-47e8-b0b0-7a6ad9f2313e/iso-3495-1975>



**NORME INTERNATIONALE ISO 3495-1975 (F)/AMENDEMENT**

Publié 1975-11-01

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

**Lait sec — Détermination de la teneur en acide lactique et en lactates**

**AMENDEMENT**

*Avant-propos (Page de couverture intérieure)*

Le Comité Membre du Brésil vient d'approuver la présente Norme Internationale. En conséquence, le Brésil doit figurer dans la liste des pays dont les Comités Membres ont approuvé le document.