NORME INTERNATIONALE ISO 3496

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

Viande et produits à base de viande — Détermination de la teneur en L(—)-hydroxyproline (Méthode de référence)

Meat and meat products — Determination of L(—)-hydroxyproline content (Reference method)

Première édition — 1978-07-01

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 3496:1978
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6a47303-6239-4c49-b13c-d305c360e8ed/iso-3496-1978

CDU 637.5 : 547.747 **Réf. nº : ISO 3496-1978 (F)**

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

Prix basé sur 3 pages

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 confiée aux comités techniques de l'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 3496 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, et a été soumise aux comités membres en octobre 1976.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Les comités membres des pays suivants l'ont approuvée :

ISO 3496:1978
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6a47303-6239-4c49-b13c-d305c360f6bf/iso-3496-1978

Afrique du Sud, Rép. d'	Égypte, Rép. arabe d'	Pérou
Allemagne	France	Pologne
Australie	Hongrie	Portugal
Autriche	Inde	Roumanie
Belgique	Iran	Royaume-Uni
Brésil	Israël	Tchécoslovaquie
Bulgarie	Kenya	Yougoslavie
Canada	Mexique	
Chili	Pays-Bas	

Le comité membre du pays suivant l'a désapprouvée pour des raisons techniques :

Nouvelle-Zélande

© Organisation internationale de normalisation, 1978

Imprimé en Suisse

Viande et produits à base de viande — Détermination de la teneur en L(−)-hydroxyproline (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 L(−)-hydroxyproline des viandes et produits à base de viande.

2 RÉFÉRENCE

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

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 3496:1978
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6a47303-6239-4c49-b13c-d305c360e8ed/iso-3496-1978

3 DÉFINITION

teneur en L(−)-hydroxyproline des viandes et produits à base de viande : Teneur en L(−)-hydroxyproline déterminée selon le mode opératoire décrit dans la présente Norme internationale et exprimée en pourcentage en masse.

4 PRINCIPE

Hydrolyse d'une prise d'essai par ébullition continue dans une solution d'acide chlorhydrique contenant du chlorure d'étain(II). Filtration puis dilution de l'hydrolysat. Neutralisation, au moyen de l'hydroxyde de sodium, d'une partie aliquote de l'hydrolysat dilué. Filtration, puis dilution. Oxydation de la L(−)-hydroxyproline par la chloramine T, puis formation d'un composé de couleur rouge avec le *p*-diméthylaminobenzaldéhyde. Mesurage photométrique à une longueur d'onde de 558 nm.

5 RÉACTIFS

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

5.1 Acide chlorhydrique, solution contenant du chlorure d'étain(II).

Dissoudre 7,5 g de chlorure d'étain(II) dihydraté ($SnCl_2.2H_2O$) dans de l'eau, diluer à 500 ml et ajouter 500 ml d'acide chlorhydrique (ρ_{20} 1,19 g/ml).

5.2 Acide chlorhydrique, solution environ 6 M.

Mélanger des volumes égaux d'acide chlorhydrique (ρ_{20} 1,19 g/ml) et d'eau.

5.3 Hydroxyde de sodium, solution environ 10 M.

Dissoudre 40 g d'hydroxyde de sodium dans de l'eau. Refroidir et compléter à 100 ml.

5.4 Hydroxyde de sodium, solution environ 1 M.

Dissoudre 4 g d'hydroxyde de sodium dans de l'eau. Refroidir et compléter à 100 ml.

5.5 Solution tampon, pH 6,0.

Dissoudre dans de l'eau :

50 g d'acide citrique monohydraté ($C_6H_8O_7.H_2O$);

26,3 g d'hydroxyde de sodium;

146,1 g d'acétate de sodium trihydraté [$Na(CH_3CO_2).3H_2O$].

Compléter à 1 000 ml avec de l'eau. Mélanger cette solution avec 200 ml d'eau et 300 ml de propanol-1.

Cette solution reste stable durant plusieurs semaines à 4 °C.

5.6 Réactif à la chloramine T

Dissoudre 1,41 g de *N*-chloro-*p*-toluène sulfonamide, sel de sodium trihydraté (chloramine T) dans 10 ml d'eau, puis ajouter successivement 10 ml de propanol-1 et 80 ml de la solution tampon (5.5).

Cette solution doit être préparée immédiatement avant utilisation.

5.7 Réactif colorimétrique

Dissoudre 10 g de *p*-diméthylaminobenzaldéhyde dans 35 ml d'une solution d'acide perchlorique [60 % (*m/m*)], puis verser lentement 65 ml de propanol-2.

Cette solution doit être préparée le jour de son utilisation.

NOTE — S'il est nécessaire de purifier le *p*-diméthylaminobenzaldéhyde (voir note de 8.5), opérer comme suit :

Préparer, à chaud, une solution saturée de *p*-diméthylaminobenzaldéhyde dans de l'éthanol à 70 % (*V/V*). Refroidir d'abord à la température ambiante et enfin dans un réfrigérateur. Après environ 12 h, filtrer sur un entonnoir de Buchner. Laver avec un peu d'éthanol à 70 % (*V/V*). Dissoudre de nouveau à chaud, dans de l'éthanol à 70 % (*V/V*). Ajouter de l'eau glacée et agiter soigneusement. Poursuivre ces opérations jusqu'à l'obtention d'une quantité suffisante de cristaux blanc laiteux. Laisser 1 nuit au réfrigérateur. Filtrer sur l'entonnoir de Buchner, laver avec de l'éthanol à 50 % (*V/V*), puis sécher sous pression réduite en présence d'oxyde de phosphore(V).

5.8 L(−)-Hydroxyproline, solutions étalons

Préparer une solution mère d'acide hydroxypyrrolidine-α-carbonique (hydroxyproline) en dissolvant 50 mg d'hydroxyproline dans de l'eau. Ajouter 1 goutte de la solution d'acide chlorhydrique (5.2) et compléter à 100 ml avec de l'eau. Cette solution reste stable durant au moins 1 mois à 4 °C.

Le jour de l'emploi, introduire 5 ml de la solution mère dans une fiole jaugée et compléter à 500 ml avec de l'eau. Préparer ensuite quatre solutions étalons en prélevant 10 — 20 — 30 et 40 ml de cette solution et en complétant à 100 ml avec de l'eau, afin d'obtenir respectivement des concentrations en L(−)-hydroxyproline de 0,5 — 1 — 1,5 et 2 µg/ml.

6 APPAREILLAGE

Matériel courant de laboratoire, et notamment :

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

6.2 Ballon à hydrolyse, à fond rond ou à fond plat, à col large, d'environ 200 ml de capacité, muni d'un réfrigérant à air ou à eau.

6.3 Appareil de chauffage électrique (par exemple chauffe-ballon, plaque chauffante, ou bain de sable chauffé électriquement).

6.4 Disques de papier filtre, de 12,5 cm de diamètre.[1)]

6.5 pH-mètre.

6.6 Feuilles d'aluminium ou de plastique.

6.7 Bain d'eau avec thermostat, réglable à 60 ± 0,5 °C.

6.8 Spectrophotomètre, permettant des mesurages à une longueur d'onde de 558 ± 2 nm, ou **colorimètre photoélectrique,** équipé d'un filtre interférentiel avec absorption maximale à 558 ± 2 nm.

6.9 Cuves en verre, de 10 mm de parcours optique.

6.10 Balance analytique.

7 ÉCHANTILLON

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

7.2 Conserver l'échantillon de façon à éviter toute détérioration et tout changement dans sa composition.

8 MODE OPÉRATOIRE

8.1 Préparation de l'échantillon pour essai

8.1.1 *Viandes crues et produits à base de viande crue*

Au moyen d'un couteau bien aiguisé, découper la viande en petits cubes (d'environ 0,5 cm³ de volume, c'est-à-dire d'environ 8 mm de côté) alors qu'elle est encore froide (très légèrement en dessous de 0 °C).

On peut également placer l'échantillon dans un récipient que l'on bouchera hermétiquement, ou l'emballer sous pression réduite dans un sac en plastique thermorésistant; chauffer ensuite de manière à maintenir une température minimale de 70 °C durant au moins 30 min; laisser refroidir et opérer comme en 8.1.2.

Au cours des étapes suivantes de la préparation de l'échantillon pour essai et de la pesée de la prise d'essai, s'assurer que l'échantillon reste bien mélangé, et, en particulier, que la graisse et les portions fluides soient régulièrement réparties.

NOTE — Ce traitement par la chaleur permet d'attendrir le tissu conjonctif cru et de le rendre moins résistant à l'opération d'homogénéisation au moyen du hachoir. Cependant, ce traitement peut également provoquer la séparation d'un liquide contenant de la gélatine. La présence de graisse peut demander également une attention particulière lors de la préparation d'un échantillon homogène.

8.1.2 *Viandes cuites et produits à base de viande cuite*

Rendre l'échantillon homogène par au moins deux passages dans le hachoir à viande (6.1) et mélanger. Garder l'échantillon dans un flacon fermé, étanche et rempli complètement, et le conserver de façon à éviter toute détériotation et tout changement dans sa composition. Analyser l'échantillon dès que possible, mais toujours dans les 24 h.

8.2 Prise d'essai

Peser, à 0,001 g près, dans le ballon à hydrolyse (6.2), environ 4 g de l'échantillon pour essai. S'assurer qu'il ne reste pas de produit adhérant à la paroi latérale du ballon.

1) Par exemple, S et S n° 287, et Whatman GF/A sont convenables.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 3496:1978
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6a47303-c339-4a49-b1b3-d305c9b0e8ed/iso-3496-1978

8.3 Hydrolyse

8.3.1 Introduire, dans le ballon, quelques copeaux de carbure de silicium pour régulariser l'ébullition, puis ajouter 100 ± 1 ml de la solution d'acide chlorhydrique contenant du chlorure d'étain(II) (5.1). Amener jusqu'à ébullition douce au moyen de l'appareil de chauffage (6.3) et la maintenir durant 16 h sous réfrigérant à reflux (1 nuit peut convenir).

NOTE — Si l'analyste le désire, l'hydrolyse peut également être réalisée en deux étapes, de 7 à 8 h chacune, sur 2 jours consécutifs. Il a été prouvé par l'expérience que les résultats obtenus de cette manière ne présentaient pas de différences significatives avec ceux qui étaient obtenus par une seule hydrolyse de 16 h.

8.3.2 Filtrer l'hydrolysat encore chaud sur un disque de papier filtre (6.4), en recueillant le filtrat dans une fiole jaugée de 200 ml. Laver le papier filtre et le ballon trois fois avec des fractions de 10 ml de la solution d'acide chlorhydrique (5.2) chaude, et ajouter les liquides de lavage à l'hydrolysat. Compléter au trait repère avec de l'eau et mélanger.

Poursuivre la détermination dès que possible, mais au plus tard le lendemain de l'hydrolyse.

8.4 Développement de la coloration et mesurage de l'absorbance

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

8.4.1 À l'aide d'une pipette, introduire, dans un bécher, un volume de V ml de l'hydrolysat (8.3.2) permettant d'obtenir, après dilution à 250 ml (voir 8.4.2), une concentration en L(−)-hydroxyproline comprise entre 0,5 et 2 µg/ml.

ISO 3496:1978
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6a47303-6239-4c49-b13c-d305c360e8ed/iso-3496-1978

NOTE — Dans la plupart des cas, V sera de l'ordre de 5 à 25 ml, selon la quantité de tissu conjonctif présent dans l'échantillon.

8.4.2 Au moyen du pH-mètre (6.5), ajuster le pH à 8 ± 0,2 par addition, goutte à goutte, d'abord de solution d'hydroxyde de sodium 10 M (5.3), puis de solution d'hydroxyde de sodium 1 M (5.4) lorsque le pH recherché est presque atteint. Filtrer le contenu du bécher en recueillant le filtrat dans une fiole jaugée de 250 ml. Laver le bécher et le précipité d'hydroxyde d'étain sur le papier filtre au moins trois fois avec des fractions de 30 ml d'eau et en recueillant les eaux de lavage dans la fiole jaugée. Compléter au trait repère avec de l'eau et mélanger.

8.4.3 Introduire 4,00 ml de cette solution dans un tube à essais, puis ajouter 2,00 ml du réactif à la chloramine T (5.6). Mélanger et laisser à la température ambiante durant 20 ± 1 min.

8.4.4 Ajouter 2,00 ml du réactif colorimétrique (5.7), mélanger soigneusement et coiffer le tube avec une feuille d'aluminium ou de plastique (6.6).

8.4.5 Porter rapidement le tube au bain d'eau (6.7) réglé à 60 ± 0,5 °C, et chauffer durant exactement 20 min.

8.4.6 Refroidir durant au moins 3 min au moyen d'eau courante.

8.4.7 Mesurer l'absorbance à 558 ± 2 nm par rapport à l'eau dans une cuve en verre (6.9), au moyen du spectrophotomètre ou du colorimètre photoélectrique équipé d'un filtre interférentiel (6.8).

8.4.8 Soustraire l'absorbance mesurée à partir de l'essai à blanc (8.5) et lire la concentration en L(−)-hydroxyproline de l'hydrolysat dilué sur la courbe d'étalonnage obtenue comme décrit en 8.6.

8.5 Essai à blanc

Effectuer, en double, les opérations décrites de 8.4.3 à 8.4.8 inclus, mais en remplaçant l'hydrolysat dilué par de l'eau.

NOTE — Si l'absorbance de l'essai à blanc dépasse 0,040, préparer un nouveau réactif colorimétrique (5.7) et, si nécessaire, le *p*-diméthylaminobenzaldéhyde doit être purifié (voir note de 5.7).

8.6 Courbe d'étalonnage

8.6.1 Reprendre le mode opératoire décrit de 8.4.3 à 8.4.8 inclus, mais avec 4 ml de chacune des quatre solutions étalons diluées de L(−)-hydroxyproline (5.8) au lieu de l'hydrolysat dilué.

8.6.2 Porter sur un graphique les valeurs des absorbances mesurées et corrigées pour l'essai à blanc, en fonction des concentrations correspondantes des solutions étalons de L(−)-hydroxyproline. Réunir les points et l'origine en traçant une courbe aussi droite que possible.

NOTE — Il est nécessaire d'établir une nouvelle courbe d'étalonnage pour chaque série d'analyses.

8.7 Détermination en double

Effectuer la détermination sur deux prises d'essai.

9 EXPRESSION DES RÉSULTATS

9.1 Mode de calcul et formule

Pour chacune des deux prises d'essai, calculer la teneur en L(−)-hydroxyproline, en pourcentage en masse, à l'aide de la formule

$$\frac{5\,c}{m \times V}$$

où

c est la concentration en L(−)-hydroxyproline, en microgrammes par millilitre, de l'hydrolysat dilué (8.4.2), lue sur la courbe d'étalonnage;

m est la masse, en grammes, de la prise d'essai (8.2);

V est le volume, en millilitres, de la partie aliquote de l'hydrolysat prélevée pour la dilution à 250 ml (voir 8.4.1).

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux valeurs calculées, si la condition de 9.2 est remplie. Exprimer le résultat à 0,01 % près.

9.2 Accord entre les deux valeurs

La différence entre deux valeurs calculées, obtenues simultanément ou rapidement l'une après l'autre par le même analyste, à partir des deux prises d'essai, ne doit pas dépasser 5 % de la moyenne arithmétique.

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.

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 3496:1978
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6a47303-6239-4c49-b13c-d305c360e8ed/iso-3496-1978

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 3496:1978
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6a47303-6239-4c49-b13c-d305c360e8ed/iso-3496-1978

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 3496:1978
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6a47303-6239-4c49-b13c-d305c360e8ed/iso-3496-1978