NORME INTERNATIONALE

ISO 3496

Deuxième édition
1994-09-01

Viandes et produits à base de viande — Détermination de la teneur en hydroxyproline

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Meat and meat products — Determination of hydroxyproline content

ISO 3496:1994
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6acbd80-ed6a-46bd-9d62-acbbd29d6786/iso-3496-1994

NORME ISO

Numéro de référence
ISO 3496:1994(F)

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.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

La Norme internationale ISO 3496 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 6, *Viande et produits à base de viande*.

ISO 3496:1994
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6acbd80-ed6a-46bd-9d62-

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 3496:1978), qui a fait l'objet d'une révision technique.

L'annexe A de la présente Norme internationale est donnée uniquement à titre d'information.

© ISO 1994
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

Imprimé en Suisse

Viandes et produits à base de viande — Détermination de la teneur en hydroxyproline

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale prescrit une méthode pour la détermination de la teneur en hydroxyproline de toutes sortes de viandes et produits à base de viande, y compris la volaille.

La méthode est applicable aux viandes et produits à base de viande ne contenant pas plus de 0,5 % (*m/m*) d'hydroxyproline.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 3496:1994
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6ac0d80-ed0a-40bd-9d62-
ac0b0a2d0d06/iso-3496-1994

2 Définition

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

2.1 teneur en hydroxyproline des viandes et produits à base de viande: Teneur en hydroxyproline déterminée selon le mode opératoire décrit dans la présente Norme internationale.

Elle est exprimée en pourcentage en masse.

3 Principe

Hydrolyse d'une prise d'essai par l'acide sulfurique à 105 °C. Filtration, puis dilution de l'hydrolysat. Oxydation de l'hydroxyproline par la chloramine T, puis formation d'un composé de couleur rouge avec le *p*-diméthylaminobenzaldéhyde. Mesurage photométrique à la longueur d'onde de 558 nm.

4 Réactifs

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déminéralisée ou de l'eau de pureté au moins équivalente.

4.1 Acide sulfurique, solution $c(H_2SO_4) \approx 3$ mol/l.

Ajouter 750 ml d'eau dans une fiole jaugée de 2 l. Ajouter lentement, en agitant, 320 ml d'acide sulfurique concentré ($\rho_{20} = 1{,}84$ g/ml). Refroidir à température ambiante et compléter au trait repère avec de l'eau.

4.2 Solution tampon, pH = 6,8, composée de

26,0 g d'acide citrique monohydraté ($C_6H_8O_7,H_2O$);

14,0 g d'hydroxyde de sodium;

78,0 g d'acétate de sodium anhydre [$Na(CH_3CO_2)$].

Dissoudre les réactifs dans 500 ml d'eau, et les transférer quantitativement dans une fiole jaugée de 1 l. Ajouter 250 ml de propanol-1 et ajuster au trait avec de l'eau.

Cette solution reste stable durant plusieurs semaines, si elle est conservée à 4 °C à l'abri de la lumière.

4.3 Réactif à la chloramine T

Dissoudre 1,41 g de *N*-chloro-*p*-toluène sulfonamide, sel de sodium trihydraté (chloramine T) dans 100 ml de la solution tampon (4.2).

Cette solution doit être préparée immédiatement avant utilisation.

4.4 Réactif colorimétrique

Dissoudre 10,0 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.

S'il est nécessaire de purifier le *p*-diméthylaminobenzaldéhyde (voir note 3 en 8.4), 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 une 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).

4.5 Hydroxyproline, solutions étalons.

Dans une fiole jaugée de 100 ml, préparer une solution mère en dissolvant 50 mg d'acide hydroxypyrrolidine-α-carbonique (hydroxyproline) dans de l'eau. Ajouter 1 goutte de la solution d'acide sulfurique (4.1) et compléter au trait repère avec de l'eau. Cette solution reste stable durant au moins 1 mois à 4 °C.

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

5 Appareillage

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

5.1 Hachoir électrique à viande, à lames horizontales à rotation rapide.

5.2 Ballon à hydrolyse, à fond rond ou à fond plat, à col large, d'environ 200 ml de capacité.

5.3 Étuve de séchage, réglable à 105 °C ± 1 °C.

5.4 Disques de papier filtre, de 12,5 cm de diamètre.

5.5 pH-mètre.

5.6 Feuilles d'aluminium ou **de plastique opaques**.

5.7 Bain d'eau, réglable à 60 °C ± 0,5 °C.

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

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

5.10 Balance analytique, précise à ± 0,001 g près.

5.11 Fioles jaugées, de 250 ml de capacité.

5.12 Verres de montre, de 5 cm à 6 cm de diamètre.

6 Échantillonnage

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

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 3496:1994
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ccc1b400-ce6a-46bd-9d62-ea6b29d6786/iso-3496-1994

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale. Une méthode d'échantillonnage recommandée est donnée dans l'ISO 3100-1.

Opérer sur un échantillon représentatif d'au moins 200 g.

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

7 Préparation de l'échantillon pour essai

7.1 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 cm^3 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).

Placer l'échantillon dans un récipient que l'on bouchera hermétiquement, ou bien l'emballer sous pression réduite dans un sac en plastique thermorésistant. Chauffer ensuite le récipient et l'échantillon de manière à maintenir une température minimale de 70 °C pendant au moins 30 min. Laisser refroidir et opérer comme en 7.2.

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 1 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.

7.2 Viandes cuites et produits à base de viande cuite

Homogénéiser l'échantillon dans le hachoir à viande (5.1). Garder l'échantillon homogénéisé dans un flacon fermé, étanche et rempli complètement, et le conserver de façon à éviter toute détérioration et tout changement dans sa composition. Analyser l'échantillon dès que possible, mais toujours dans les 24 h.

8 Mode opératoire

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 3496:1994
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6cb180a46c46b4b9d62acbbd29d6786/iso-3496-1994

8.1 Prise d'essai

Peser à 0,001 g près, dans le ballon à hydrolyse (5.2), environ 4 g de l'échantillon pour essai. S'assurer qu'il ne reste pas de produit adhérant à la paroi latérale du ballon.

8.2 Hydrolyse

8.2.1 Ajouter 30 ml ± 1 ml de solution d'acide sulfurique (4.1) dans le ballon. Le recouvrir avec un verre de montre (5.12) et placer l'ensemble dans l'étuve (5.3) pendant 16 h (une nuit) à 105 °C.

8.2.2 Filtrer l'hydrolysat encore chaud sur un disque de papier filtre (5.4), en recueillant le filtrat dans une fiole jaugée de 250 ml (5.11). Laver le papier filtre et le ballon trois fois avec des fractions de 10 ml de la solution d'acide sulfurique (4.1) chaude, et ajouter les liquides de lavage à l'hydrolysat. Compléter au trait repère avec de l'eau et mélanger.

8.3 Développement de la coloration et mesurage de l'absorbance

8.3.1 À l'aide d'une pipette, introduire, dans une fiole jaugée de 250 ml (5.11), un volume V de l'hydrolysat (8.2.2) permettant d'obtenir, après dilution à 250 ml, une concentration en hydroxyproline comprise entre 0,5 µg/ml et 2 µg/ml. Ajuster au trait repère avec de l'eau.

NOTE 2 Dans la plupart des cas, V sera de l'ordre de 5 ml à 25 ml, selon la quantité de tissu conjonctif présente dans l'échantillon.

8.3.2 Introduire 4,00 ml de cette solution (8.3.1) dans un tube à essais, puis ajouter 2,00 ml du réactif à la chloramine T (4.3). Mélanger et laisser à la température ambiante durant 20 min ± 1 min.

8.3.3 Ajouter 2,00 ml du réactif colorimétrique (4.4), mélanger soigneusement et coiffer le tube avec une feuille d'aluminium ou de plastique (5.6).

8.3.4 Porter rapidement le tube dans le bain d'eau (5.7) réglé à 60 °C, et chauffer pendant 20 min exactement.

8.3.5 Refroidir le tube pendant au moins 3 min à l'eau courante, et le laisser à la température ambiante pendant 30 min.

8.3.6 Mesurer l'absorbance à 558 nm ± 2 nm par rapport à l'eau dans une cuve en verre (5.9), au moyen du spectromètre ou du colorimètre photoélectrique équipé d'un filtre interférentiel (5.8).

8.3.7 Soustraire l'absorbance mesurée à partir de l'essai à blanc (8.4) et lire la concentration en hydroxyproline de l'hydrolysat dilué sur la courbe d'étalonnage obtenue comme décrit en 8.5.

8.4 Essai à blanc

Effectuer, en double, les opérations décrites de 8.3.2 à 8.3.7 inclus, mais en remplaçant l'hydrolysat dilué par de l'eau.

NOTE 3 Si l'absorbance de l'essai à blanc dépasse 0,040, préparer un nouveau réactif colorimétrique (4.4) et, si nécessaire, purifier le *p*-diméthylaminobenzaldéhyde (voir 4.4).

8.5 Courbe d'étalonnage

8.5.1 Reprendre le mode opératoire décrit de 8.3.2 à 8.3.7 inclus, mais avec 4,00 ml de chacune des quatre solutions étalons diluées d'hydroxyproline (4.5) au lieu de l'hydrolysat dilué.

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

Établir une nouvelle courbe d'étalonnage pour chaque série d'analyse.

9 Calcul

Pour chaque prise d'essai, calculer la teneur en hydroxyproline, en pourcentage en masse, à l'aide de la formule

$$w_h = \frac{6{,}25c}{m \times V}$$

où

w_h est la teneur en hydroxyproline, exprimée en pourcentage en masse, obtenue à partir de la formule;

c est la concentration en hydroxyproline, en microgrammes par millilitre, de l'hydrolysat dilué, lue sur la courbe d'étalonnage;

m est la masse, en grammes, de la prise d'essai (8.1);

V est le volume, en millilitres, de la partie aliquote de l'hydrolysat prélevée pour la dilution à 250 ml (voir 8.3.1).

Exprimer le résultat à 0,01 % près.

10 Fidélité

La fidélité de cette méthode a été établie par un essai interlaboratoires réalisé selon l'ISO 5725.

Le niveau de probabilité de 95 % a été retenu pour obtenir les valeurs de répétabilité et de reproductibilité.

10.1 Répétabilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai indépendants, obtenus à l'aide de la même méthode sur un matériau identique soumis à l'essai dans le même laboratoire et par le même opérateur utilisant le même appareillage et dans un court intervalle de temps, ne doit pas être supérieure à la valeur de r donnée par la formule

$$r = 0{,}013\,1 + 0{,}032\,2\,\overline{w}_h$$

où $\overline{w}_h$ est la moyenne des deux résultats d'essai, pour la teneur en hydroxyproline, exprimée en pourcentage en masse.

Rejeter les deux résultats si la différence dépasse la valeur indiquée ci-dessus, et réaliser deux nouvelles déterminations.

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 la valeur de R donnée par la formule

$$R = 0{,}019\,5 + 0{,}052\,9\,\overline{w}_h$$

où $\overline{w}_h$ est la moyenne des deux résultats d'essai, pour la teneur en hydroxyproline, exprimée en pourcentage en masse.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 3496:1994
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6acbd80-ed6a-46bd-9d62-acbbd29d6786/iso-3496-1994

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 résultat d'essai obtenu, 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 résultat d'essai.

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

Annexe A
(informative)

Bibliographie

[1] ISO 3100-1:1991, *Viandes et produits à base de viande — Échantillonnage et préparation des échantillons pour essai — Partie 1: Échantillonnage.*

[2] ISO 5725:1986, *Fidélité des méthodes d'essai — Détermination de la répétabilité et de la reproductibilité d'une méthode d'essai normalisée par essais interlaboratoires.*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 3496:1994
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6acbd80-ed6a-46bd-9d62-acbbd29d6786/iso-3496-1994

© ISO

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 3496:1994
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6acbd80-ed6a-46bd-9d62-acbbd29d6786/iso-3496-1994

ICS 67.120.10

Descripteurs: produit agricole, produit animal, produit alimentaire, viande, produit à base de viande, analyse chimique, dosage, hydroxyproline, méthode par hydrolyse, méthode spectrométrique.

Prix basé sur 5 pages