

---

# NORME INTERNATIONALE 4133

---

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

---

## Viandes et produits à base de viande — Détermination de la teneur en glucono-delta-lactone (Méthode de référence)

*Meat and meat products — Determination of glucono-delta-lactone content (Reference method)*

Première édition — 1979-02-15

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

[ISO 4133:1979](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8d574e5b-d533-41bc-8db4-1cab5727cc09/iso-4133-1979)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8d574e5b-d533-41bc-8db4-1cab5727cc09/iso-4133-1979>

---

CDU 637.5 : 543.8

Réf. no : ISO 4133-1979 (F)

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

## 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 4133 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, et a été soumise aux comités membres en juin 1977.

Les comités membres des pays suivants l'ont approuvée : [ISO 4133:1979](#)

Afrique du Sud, Rép. d'	Éthiopie	<a href="https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8d574e5b-d533-41bc-8db4-1cab5727cc97/iso-4133-1979">https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8d574e5b-d533-41bc-8db4-1cab5727cc97/iso-4133-1979</a>
Allemagne, R.F.	France	Nouvelle-Zélande
Autriche	Hongrie	Pays-Bas
Australie	Inde	Philippines
Bulgarie	Iran	Pologne
Chili	Irlande	Royaume-Uni
Corée, Rép. de	Israël	Tchécoslovaquie
Égypte, Rép. arabe d'	Kenya	Turquie
Espagne	Mexique	U.R.S.S.
		Yougoslavie

Aucun comité membre ne l'a désapprouvée.

# Viandes et produits à base de viande — Détermination de la teneur en glucono-delta-lactone (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 glucono-delta-lactone des viandes et produits à base de viande.

## 2 RÉFÉRENCES

ISO 1442, *Viandes et produits à base de viande — Détermination de l'humidité.*

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

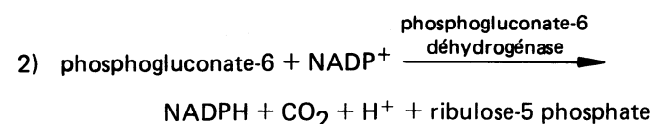
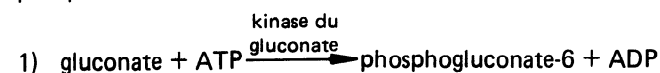
## 3 DÉFINITION

**teneur en glucono-delta-lactone des viandes et produits à base de viande** : Teneur en glucono-delta-lactone déterminée selon la méthode décrite dans la présente Norme internationale et exprimée en pourcentage en masse.

## 4 PRINCIPE

Extraction de la glucono-delta-lactone présente dans une prise d'essai au moyen d'une solution d'acide perchlorique refroidie par de la glace. Centrifugation, décantation et filtration, suivies d'une hydrolyse de la glucono-delta-lactone en gluconate d'une partie du filtrat, par action de l'hydroxyde de potassium.

Transformation du gluconate de l'extrait selon les réactions suivantes 1), avec du triphosphate d'adénosine-5 (ATP), et 2), avec réduction simultanée d'un montant équivalent de phosphate dinucléotide nicotinamide adénine (NADP) :



Mesurage photométrique de la quantité de phosphate dinucléotide nicotinamide adénine (réduit) (NADPH) obtenue.

## 5 RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique. Toutes les solutions, sauf les solutions des composés minéraux (5.1 et 5.2), doivent être conservées dans des récipients

fermés en verre brun, soigneusement nettoyés puis traités à la vapeur ou stérilisés. L'eau utilisée doit être de l'eau bidistillée ou déminéralisée, et l'eau distillée doit être obtenue en réalisant la distillation finale dans un appareil entièrement en verre.

NOTE — L'eau distillée une seule fois peut contenir des traces d'ions métalliques et l'eau déminéralisée peut contenir des micro-organismes. Les ions métalliques peuvent provoquer une diminution de l'activité des enzymes, tandis que les micro-organismes peuvent donner lieu à une activité enzymatique secondaire non spécifique qui pourrait affecter dans l'autre sens les résultats de l'analyse.

### 5.1 Acide perchlorique, solution 0,4 M.

Diluer 17,3 ml d'acide perchlorique à 70 % (m/m),  $\rho_{20}$  1,67 g/ml, à 500 ml avec de l'eau.

### 5.2 Hydroxyde de potassium, solution 2 M.

Dissoudre 56,1 g d'hydroxyde de potassium dans de l'eau et compléter à 500 ml avec de l'eau.

### 5.3 Solution tampon.

Dissoudre 2,64 g de glycylglycine ( $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_3$ ) et 0,284 g de chlorure de magnésium hexahydraté ( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) dans 150 ml d'eau. Ajuster le pH à 8,0 avec la solution d'hydroxyde de potassium (5.2), en se servant d'un pH-mètre. Diluer à 200 ml avec de l'eau.

Cette solution peut être conservée pendant au moins 4 semaines à 4 °C.

### 5.4 Phosphate dinucléotide nicotinamide adénine (NADP), solution.

Peser 50 mg de sel disodique de l'acide dinucléotide nicotinamide adénine phosphorique (NADP- $\text{Na}_2$ ) dans une fiole étroite bouchée et ajouter 5,0 ml d'eau.

Cette solution peut être conservée pendant au moins 4 semaines à 4 °C.

### 5.5 Triphosphate d'adénosine-5 (ATP), solution.

Peser 250 mg de sel disodique de l'acide adénosine-5 triphosphorique (ATP- $\text{Na}_2$ ) et 250 mg d'hydrogénéocarbonate de sodium ( $\text{NaHCO}_3$ ) dans une fiole étroite bouchée, et ajouter 5,0 ml d'eau.

Cette solution peut être conservée pendant au moins 4 semaines à 4 °C.

**5.6 Phosphogluconate-6 déhydrogénase (6-PGDH) (EC\* 1.1.1.44)**, suspension contenant 2,0 mg de 6-PGDH de levure par millilitre et pas plus de 0,05 % respectivement de la kinase du gluconate et de la forme réduite de l'oxydase de l'acide dinucléotide nicotinamide adénine phosphorique.

Cette suspension est fournie telle quelle et peut être conservée pendant au moins 6 mois à 4 °C.

**5.7 Kinase du gluconate (GK) (EC\* 2.7.1.12)**, suspension contenant 1,0 mg de GK d'*E. coli* par millilitre et pas plus de 0,05 % de la forme réduite de l'oxydase de l'acide dinucléotide nicotinamide adénine phosphorique.

Cette suspension est fournie telle quelle et peut être conservée pendant au moins 6 mois à 4 °C.

## 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 Mélangeur de laboratoire.**

**6.3 Centrifugeuse de laboratoire**, munie de tubes de centrifugeuse de 50 ou 100 ml.

**6.4 pH-mètre.**

**6.5 Papier filtre plissé**, de diamètre 15 cm environ.

**6.6 Fioles jaugées à un trait**, de capacités 100 et 200 ml, conformes à l'ISO 1042, classe A.

**6.7 Pipettes à un trait**, de capacités 100 et 25 ml, conformes à l'ISO 648, classe A.

**6.8 Pipettes graduées**, permettant de délivrer 2,5 — 0,2 — 0,1 — 0,05 et 0,01 ml, conformes à l'ISO/R 835, classe A.

**6.9 Spatule étroite**, en plastique, courbée à 90°, destinée à mélanger le contenu de la cuve du photomètre.

**6.10 Colorimètre photoélectrique**, muni d'un filtre ayant une absorbance maximale à 365 nm, ou **spectrophotomètre**.

**6.11 Cuves de photomètre**, de 10 mm de parcours optique.

## 7 ÉCHANTILLONNAGE ET ÉCHANTILLON POUR LABORATOIRE

### 7.1 Échantillonnage

Voir ISO 3100.

### 7.2 Échantillon pour laboratoire

Opérer à partir d'un échantillon représentatif d'au moins 200 g.

Stocker 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

Homogénéiser l'échantillon par passage au moins deux fois dans le hachoir à viande (6.1) et par mélange. Conserver l'échantillon dans un récipient étanche à l'air rempli complètement; le stocker, si nécessaire, de façon à éviter toute détérioration et tout changement dans sa composition.

Analyser l'échantillon aussitôt que possible, mais toujours dans les 24 h.

### 8.2 Prise d'essai

Peser à 10 mg près, environ 50 g de l'échantillon pour essai (8.1) et transférer la prise d'essai dans le récipient du mélangeur de laboratoire (6.2).

### 8.3 Préparation de l'extrait

**8.3.1** Ajouter 100 ml de la solution d'acide perchlorique (5.1) refroidie par de la glace, et homogénéiser.

**8.3.2** Transférer une partie du produit homogénéisé dans un tube de la centrifugeuse (6.3). Centrifuger durant 10 min à 3 000 min<sup>-1</sup>\*\* et, après avoir soigneusement mis de côté la couche de matière grasse, décanter le liquide surnageant sur un papier filtre plissé (6.5) et recueillir le filtrat dans une fiole conique de 200 ml, en rejetant les premiers 10 ml du filtrat.

**8.3.3** Transvaser 50 ml de la solution (qui doit être seulement légèrement trouble) dans un bécher de 100 ml et ajuster le pH à 10 avec la solution d'hydroxyde de potassium (5.2).

\* Le numéro EC se réfère au «Enzyme Classification Number» tel qu'il est donné dans :

— The International Union of Biochemistry, «Enzyme nomenclature», Elsevier Publ. Co. Amsterdam 1965.

\*\* Une fréquence de rotation de 3 000 min<sup>-1</sup> correspond à 3 000 tours par minute.

**8.3.4** Transvaser quantitativement le contenu du bécher dans une fiole jaugée de 100 ml, compléter au trait repère avec de l'eau et agiter.

**8.3.5** Refroidir la solution dans la glace durant 20 min et filtrer sur un papier filtre plissé (6.5), en rejetant les premiers 10 ml du filtrat.

**8.3.6** Introduire 25 ml ou un autre volume approprié ( $V$  ml) du filtrat, prélevés à la pipette, dans une fiole jaugée de 250 ml et compléter au trait repère avec de l'eau.

NOTE — Le volume  $V$  doit être choisi de façon à ce que la concentration en D-(+)-gluconate soit inférieure à 400 mg/l.

## 8.4 Détermination

**8.4.1** Introduire, dans chacune des deux cuves de photomètre (6.11), 2,50 ml de la solution tampon (5.3), 0,10 ml de la solution de NADP (5.4) et 0,10 ml de la solution d'ATP (5.5), prélevés à la pipette.

Ajouter, à la pipette, 0,20 ml de l'extrait (8.3.6) dans l'une des cuves; la solution obtenue est la solution d'essai.

Ajouter, à la pipette, 0,20 ml d'eau dans l'autre cuve; la solution obtenue est la solution à blanc.

Prélever à la pipette, sur la spatule en plastique (6.9), 0,05 ml de la suspension de 6-PGDH (5.6). Mélanger soigneusement avec le contenu de l'une des cuves, en agitant de haut en bas avec la spatule.

Recommencer cette opération sur la seconde cuve.

Au bout de 5 min, lire l'absorbance de chaque cuve, à 365 nm, par rapport à l'air.

Noter les absorbances de la façon suivante :

$A_1$  = absorbance de la solution d'essai;

$A_{1B}$  = absorbance de la solution à blanc.

**8.4.2** Prélever à la pipette, sur la spatule en plastique (6.9), 0,01 ml de la suspension de GK (5.7). Mélanger avec le contenu de l'une des cuves, en agitant de haut en bas avec la spatule.

Recommencer cette opération sur la seconde cuve.

Au bout de 10 à 15 min, lire l'absorbance de chaque cuve, à 365 nm, et ensuite toutes les 2 min jusqu'à l'obtention d'une augmentation constante de l'absorbance. Tracer un graphique en portant l'absorbance en fonction du temps. Obtenir par extrapolation les valeurs de l'absorbance au moment du début de la réaction (voir l'annexe).

Noter ces valeurs extrapolées de la façon suivante :

$A_2$  = absorbance de la solution d'essai;

$A_{2B}$  = absorbance de la solution à blanc.

## 8.5 Détermination en double

Effectuer deux déterminations séparées en commençant par les prises d'essai prélevées à partir du même échantillon pour essai (8.1).

## 9 EXPRESSION DES RÉSULTATS

### 9.1 Mode de calcul et formule

Calculer la teneur en glucono-delta-lactone de l'échantillon, exprimée en pourcentage en masse, à l'aide de la formule

$$0,908 \Delta A \times \frac{2,96 \times 196,1}{\kappa \times 0,2 \times 1\,000} \times \frac{100}{1\,000} \times \frac{100}{V} \times \left( \frac{100 + \frac{M \times m}{100}}{50} \right) \times \frac{100}{m}$$

$$= 52,705 \times \frac{\Delta A}{\kappa \times V \times m} \times \left( 100 + \frac{M \times m}{100} \right)$$

où

$$\Delta A = (A_2 - A_1) - (A_{2B} - A_{1B})$$

196,1 est la masse moléculaire relative de l'acide D-(+)-gluconique;

$\kappa = 3,5 \text{ cm}^2/\mu\text{mol}$  à 365 nm, et  $6,23 \text{ cm}^2/\mu\text{mol}$  à 340 nm;

$V$  est le volume, en millilitres, du filtrat prélevé en 8.3.6;

$M$  est l'humidité de l'échantillon, déterminée selon l'ISO 1442;

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

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations si les conditions de répétabilité (voir 9.2) sont remplies. Exprimer le résultat, à 0,01 g près, en glucono-delta-lactone pour 100 g d'échantillon.

### 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 dépasser 10 % de leur moyenne arithmétique.

## 10 NOTES SUR LE MODE OPÉRATOIRE

**10.1** Les mesurages peuvent également être effectués à 340 nm.

**10.2** Les sels minéraux (phosphate, ions sodium, potassium et ammonium) peuvent retarder la réaction enzymatique. Dans ces cas, il est nécessaire d'ajouter plus d'enzyme. Normalement cependant, pour les produits à base de viande auxquels du phosphate a été ajouté, il n'est pas nécessaire d'augmenter la quantité d'enzyme ajoutée.

10.3 La stabilité de l'enzyme est garantie la plupart du temps par le producteur jusqu'à expiration de la date mentionnée sur l'étiquette.

Les préparations d'enzyme et la solution tampon doivent être stockées au réfrigérateur. Les solutions d'enzyme doivent également être maintenues froides sur la paillasse du laboratoire. Cela peut être réalisé en refroidissant avec de la glace un bloc de métal percé de trous dans lesquels les flacons contenant les solutions d'enzyme seront placés.

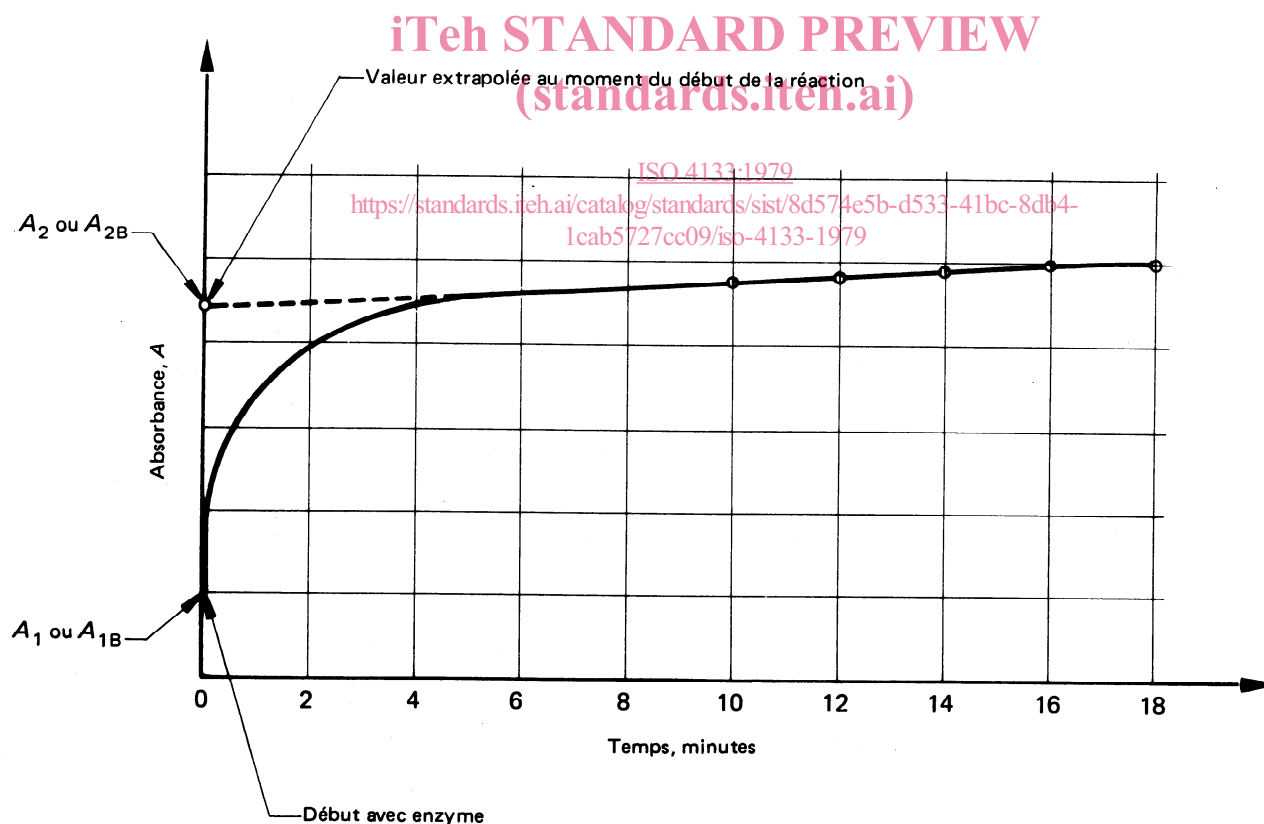
### 11 PROCÈS-VERBAL D'ESSAI

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.

### ANNEXE

#### EXEMPLE DE TRACÉ ET EXTRAPOLATION DES VALEURS DE L'ABSORBANCE



Page blanche

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

ISO 4133:1979

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8d574e5b-d533-41bc-8db4-1cab5727cc09/iso-4133-1979>

Page blanche

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

ISO 4133:1979

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8d574e5b-d533-41bc-8db4-1cab5727cc09/iso-4133-1979>