

---

# Norme internationale



# 5377

---

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

---

## Produits d'hydrolyse de l'amidon ou de la fécule — Détermination du pouvoir réducteur et de l'équivalent en dextrose — Méthode Lane et Eynon à titre constant

*Starch hydrolysis products — Determination of reducing power and dextrose equivalent — Lane and Eynon constant titre method*

**iTeh STANDARD PREVIEW**

Première édition — 1981-12-15 (standards.iteh.ai)

[ISO 5377:1981](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bc310607-e8a2-44f1-be43-69f5174fe631/iso-5377-1981)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bc310607-e8a2-44f1-be43-69f5174fe631/iso-5377-1981>

---

CDU 664.28 : 664.162.036 : 543.24

Réf. n° : ISO 5377-1981 (F)

Descripteurs : amidon, essai, détermination, perte de masse, matière sèche, détermination du titre.

## 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 5377 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 93, *Amidon (amidons, féculés), dérivés et sous-produits*, et a été soumise aux comités membres en novembre 1980.

Les comités membres des pays suivants l'ont approuvée : [ISO 5377:1981](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bc310607-e8a2-44f1-be43-69f5174fe631/iso-5377-1981)  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bc310607-e8a2-44f1-be43-69f5174fe631/iso-5377-1981>

Afrique du Sud, Rép. d'	Iran
Australie	Pays-Bas
Autriche	Roumanie
Égypte, Rép. arabe d'	URSS
France	USA

Aucun comité membre ne l'a désapprouvée.

# Produits d'hydrolyse de l'amidon ou de la fécule — Détermination du pouvoir réducteur et de l'équivalent en dextrose — Méthode Lane et Eynon à titre constant

## 1 Objet et domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie la méthode Lane et Eynon à titre constant, pour la détermination du pouvoir réducteur et de l'équivalent en dextrose pour tous les produits d'hydrolyse de l'amidon ou de la fécule.

## 2 Références

ISO 385/1, *Verrerie de laboratoire — Burettes — Partie 1: Spécifications générales.*<sup>1)</sup>

ISO 385/2, *Verrerie de laboratoire — Burettes — Partie 2: Burettes sans temps d'attente.*<sup>1)</sup>

ISO 648, *Verrerie de laboratoire — Pipettes à un trait.*

ISO 1042, *Verrerie de laboratoire — Fioles jaugées à un trait.*

ISO 1741, *Dextrose cristallisé — Détermination de la perte de masse à la dessiccation — Méthode par étuvage sous pression réduite.*

ISO 1742, *Sirops de glucose — Détermination de la matière sèche — Méthode par étuvage sous pression réduite.*

ISO 1743, *Sirup de glucose et dextrose cristallisé — Détermination de la teneur en matière sèche — Méthode réfractométrique.*

ISO 1773, *Verrerie de laboratoire — Fioles coniques et ballons (à col étroit).*

ISO 5809, *Amidons, féculés, dérivés et sous-produits — Détermination des cendres sulfatées.*<sup>2)</sup>

## 3 Définitions

**3.1 pouvoir réducteur** : Teneur en sucres réducteurs, exprimée en grammes de D-glucose anhydre pour 100 g de produit, déterminée selon la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale.

**3.2 équivalent en dextrose** : Teneur en sucres réducteurs, exprimée en grammes de D-glucose anhydre pour 100 g de

matière sèche dans le produit, déterminée selon la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale.

## 4 Principe

Titration d'un volume connu de solution de Fehling par une solution d'une prise d'essai dans des conditions spécifiées, en utilisant le bleu de méthylène comme indicateur interne.

## 5 Réactifs

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

### 5.1 Solutions de Fehling de réserve

Préparer les solutions suivantes en utilisant l'appareillage décrit dans le chapitre 6.

#### 5.1.1 Solution de réserve A

Sulfate de cuivre(II) pentahydraté (CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O)	69,3 g
Eau, en quantité suffisante pour	1 000,0 ml

#### 5.1.2 Solution de réserve B

Tartrate de sodium-potassium tétrahydraté (KNaC <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>6</sub> ·4H <sub>2</sub> O)	346,0 g
Hydroxyde de sodium (NaOH)	100,0 g
Eau, en quantité suffisante pour	1 000,0 ml

Avant utilisation, décanter la solution limpide de tout sédiment pouvant se former.

#### 5.1.3 Solution mixte de Fehling

Verser dans un flacon de réserve sec, dans l'ordre suivant, 100 ml de la solution A (5.1.1) et 100 ml de la solution B (5.1.2). Bien mélanger.

NOTE — Ne pas conserver la liqueur de Fehling. Préparer cette solution mixte juste avant utilisation, et l'étalonner comme spécifié en 7.1.

1) Actuellement au stade de projet. (Révision partielle de l'ISO/R 385.)

2) Actuellement au stade de projet.

**5.2 D-Glucose anhydre**, conforme aux exigences suivantes :

a) une solution contenant 400 g/l doit être exempte de brume et sédiment et ne doit pas être plus colorée que l'eau utilisée pour sa préparation lorsqu'elle est examinée de haut en bas dans des tubes de Nessler de 50 ml (6.5) remplis jusqu'au trait repère;

b) la teneur en cendres sulfatées ne doit pas dépasser 0,01 % (*m/m*) lorsqu'elles sont déterminées selon la méthode spécifiée dans l'ISO 5809, mais modifiée de la façon suivante :

- 1) la masse de la prise d'essai doit être portée à 20 g,
- 2) pour l'incinération, uniquement une nacelle en platine doit être utilisée,
- 3) la nacelle en platine doit être pesée à 0,1 mg près avant et après incinération;

c) la teneur en maltose et/ou isomaltose ne doit pas dépasser 0,1 % (*m/m*), et on ne doit pas détecter de sucre de masse moléculaire relative supérieure.

**5.3 D-Glucose**, solution étalon de référence.

**5.3.1** Déterminer la teneur en matière sèche du D-glucose anhydre selon la méthode spécifiée dans l'ISO 1741.

**5.3.2** Peser, à 0,1 mg près, une masse de D-glucose anhydre (5.2) contenant 0,600 g de solides, les dissoudre dans de l'eau, transvaser quantitativement la solution dans une fiole jaugée de 100 ml (6.4), ajuster au trait repère avec de l'eau et mélanger.

Préparer fraîchement cette solution chaque jour d'utilisation.

**5.4 Bleu de méthylène** ( $C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot 2H_2O$ ), solution d'indicateur à 1 g/l.

## 6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et notamment :

**6.1 Fiole à col étroit**, de 250 ml de capacité, conforme aux spécifications de l'ISO 1773.

**6.2 Burette**, de 25 ml de capacité, graduée en 0,05 ml, conforme aux spécifications de l'ISO 385/2, classe A.

**6.3 Pipettes à un trait**, de 1 ml et 25 ml de capacités, conformes aux spécifications de l'ISO 648, classe A.

**6.4 Fioles jaugées à un trait**, de 100 ml, 500 ml et 1 000 ml de capacités, conformes aux spécifications de l'ISO 1042, classe A.

**6.5 Tubes de Nessler**, de 50 ml de capacité.

**6.6 Dispositif de chauffage**, convenant pour maintenir l'ébullition comme préconisé en 7.1.4 sans nécessairement enlever la fiole du dispositif de chauffage.

**6.7 Chronomètre.**

## 7 Mode opératoire

### NOTES

1 Un régularisateur d'ébullition (par exemple billes de verre) peut être ajouté si on le désire, pour éviter une surchauffe.

2 Isoler la burette de la source de chaleur (6.6) pendant toute la détermination.

### 7.1 Étalonnage de la solution mixte de Fehling (5.1.3)

**7.1.1** À l'aide d'une pipette (6.3), introduire 25 ml de la solution mixte de Fehling (5.1.3) dans la fiole (6.1) propre et sèche.

**7.1.2** Remplir la burette (6.2) jusqu'au zéro avec la solution étalon de référence de D-glucose (5.3).

**7.1.3** Introduire, de la burette dans la fiole, 18,0 ml de la solution de D-glucose (5.3). Agiter la fiole pour mélanger son contenu.

**7.1.4** Mettre la fiole sur le dispositif de chauffage (6.6) préalablement réglé de façon que l'ébullition commence en  $120 \pm 15$  s comptées au chronomètre (6.7).

Ne pas modifier le réglage du dispositif de chauffage par la suite. Cela assure, une fois l'ébullition commencée, l'évolution vive et continue de vapeur pendant toute la durée du titrage, empêchant ainsi au maximum l'entrée d'air dans la fiole de titrage, ce qui réoxyderait son contenu.

**7.1.5** Porter à l'ébullition le contenu de la fiole et l'y maintenir durant 120 s (comptées au chronomètre). À la fin de ce temps, ajouter 1 ml de la solution de bleu de méthylène (5.4). Puis commencer d'ajouter la solution de D-glucose de la burette dans la fiole par fractions de 0,5 ml jusqu'à décoloration du bleu de méthylène, en maintenant l'ébullition pendant toute la durée du titrage.

Noter le volume total de la solution de D-glucose ajouté ( $V$  ml), en y incluant le pénultième ajout de 0,5 ml.

NOTE — La disparition de la couleur du bleu de méthylène est mieux observée en regardant la partie supérieure et le ménisque du contenu de la fiole de titrage, si celle-ci est relativement exempte de précipité rouge d'oxyde de cuivre(II). La décoloration est plus facilement perçue en utilisant un éclairage indirect. Une plaque blanche placée derrière la fiole de titrage est très utile.

**7.1.6** Répéter 7.1.1 et 7.1.2.

**7.1.7** Verser, de la burette dans la fiole, un volume de la solution de D-glucose égal à ( $V - 0,3$ ) ml.

**7.1.8** Répéter 7.1.4.

**7.1.9** Porter à l'ébullition le contenu de la fiole et l'y maintenir durant 120 s (comptées au chronomètre). À la fin de ce temps, ajouter 1 ml de la solution de bleu de méthylène. Puis commencer d'ajouter la solution de D-glucose de la burette dans la fiole, par fractions de 0,2 ml au début puis goutte à goutte, jusqu'à la première décoloration du bleu de méthylène (5.4), en maintenant l'ébullition pendant toute la durée du titrage.

Vers la fin de cette opération, ajouter les fractions successives de la solution de D-glucose à des intervalles de 10 à 15 s. Compléter ces additions dans un temps maximal de 60 s, ce qui donne un temps total d'ébullition ne dépassant pas 180 s.

Un troisième titrage avec une addition initiale légèrement plus importante, convenablement ajustée, de la solution de D-glucose peut s'avérer nécessaire pour y arriver.

**7.1.10** Noter le volume de la solution de D-glucose utilisé pour arriver au point final du titrage final.

**7.1.11** Il est essentiel que le titre soit compris entre 19,0 et 21,0 ml de la solution de D-glucose. S'il est en dehors de ces limites, ajuster en conséquence la concentration de la solution de Fehling de réserve A (5.1.1) et recommencer l'étalonnage.

**7.1.12** Répéter 7.1.6 à 7.1.10 et calculer la moyenne des deux titres ( $V_1$  ml).

**7.1.13** Pour l'étalonnage au jour le jour de la solution mixte de Fehling, si  $V_1$  est connu avec précision, un simple titrage est seulement nécessaire en utilisant une addition initiale de ( $V_1 - 0,5$ ) ml de la solution de D-glucose.

NOTE — Le facteur personne influant, il est essentiel que chaque manipulateur effectue son propre étalonnage et utilise sa propre valeur pour  $V_1$  dans les calculs (8.1.1).

**7.2 Détermination****7.2.1 Préparation de l'échantillon pour essai**

Si l'échantillon se présente sous forme de poudre ou de cristaux, le retirer de son récipient, casser les quelques morceaux, mélanger de manière appropriée et mettre dans un récipient hermétique.

Si l'échantillon se présente sous forme solide compacte, par exemple glucose massé, le faire fondre en le plaçant dans un récipient fermé immergé dans un bain d'eau réglé de 60 à 70 °C, laisser refroidir à la température ambiante et agiter un nombre de fois sans enlever le couvercle pour mélanger l'humidité condensée à l'intérieur.

Si l'échantillon se présente sous forme liquide, le mélanger par agitation dans son récipient, après avoir enlevé la peau éventuelle qui a pu se former à sa surface.

**7.2.2** Si la teneur en sucres réducteurs de l'échantillon est inconnue, déterminer une valeur approximative par titrage

préalable, en procédant en général comme spécifié en 7.1.1 à 7.1.5, mais avec les modifications suivantes :

a) Ajouter 10,0 ml de solution d'essai à la place de la solution de D-glucose (5.3) ajoutée en 7.1.3.

b) Après 7.1.4

1) Dès le début de l'ébullition, ajouter 1 ml de la solution de bleu de méthylène et commencer d'ajouter la solution d'essai de la burette dans la fiole par fractions de 1,0 ml à 10 s d'intervalle jusqu'à décoloration du bleu de méthylène. Si la couleur bleue disparaît avant l'addition de quelques fractions de 1,0 ml de solution d'essai, diminuer la concentration de la solution d'essai et recommencer le titrage.

2) Noter le volume total de solution d'essai ajouté ( $V'$  ml), en y incluant le pénultième ajout.

$V'$  ne doit pas dépasser 50 ml. Si c'est le cas, augmenter la concentration de la solution d'essai et recommencer le titrage.

3) Le pouvoir réducteur approximatif (voir 3.1) (ARP) de l'échantillon pour essai est donné par la formule

$$\text{ARP} = \frac{F \times 100 \times 500}{V' \times m_0}$$

$$= \frac{50\,000 \times F}{V' \times m_0}$$

$$= \frac{300 \times V_1}{V' \times m_0}$$

où

$$F = (0,6 \times V_1) / 100$$

$$= 0,006 \times V_1$$

$m_0$  est la masse, en grammes, de la prise d'essai contenue dans 500 ml de solution d'essai.

La masse, en grammes, de la prise d'essai à prélever est

$$\frac{100 \times 3}{\text{ARP}} = \frac{300}{\text{ARP}}$$

**7.2.3 Prise d'essai**

Peser, à 1 mg près, une masse de l'échantillon pour essai ( $m$  g) contenant entre 2,85 et 3,15 g de sucres réducteurs (exprimés en D-glucose anhydre).

**7.2.4 Solution d'essai**

Dissoudre la prise d'essai (7.2.3) dans de l'eau, transvaser quantitativement la solution dans une fiole jaugée de 500 ml (6.4), ajuster au trait repère avec de l'eau et mélanger.

**7.2.5 Titrage**

**7.2.5.1** Répéter 7.1.1 à 7.1.9 en utilisant la solution d'essai (7.2.4) à la place de la solution de D-glucose (5.3).

**7.2.5.2** Noter le volume ( $V_2$ ) de la solution d'essai (7.2.4) utilisé pour arriver au point final du titrage final.

**7.2.5.3** Il est essentiel que  $V_2$  soit compris entre 19,0 et 21,0 ml de la solution d'essai (7.2.4). Si  $V_2$  est en dehors de ces limites, ajuster en conséquence la concentration de la solution d'essai et recommencer 7.2.5.1 et 7.2.5.2.

**7.2.5.4** Effectuer deux déterminations sur le même échantillon pour essai.

**7.3 Teneur en matière sèche**

Déterminer la teneur en matière sèche [DMC % ( $m/m$ )] de l'échantillon pour essai en procédant de la façon suivante :

- a) Pour les sirops de glucose déshydratés, utiliser la méthode spécifiée dans l'ISO 1742.
- b) Pour le dextrose (anhydre et monohydraté), utiliser la méthode spécifiée dans l'ISO 1741.
- c) Pour les sirops de glucose, utiliser la méthode spécifiée dans l'ISO 1743.

**8 Expression des résultats**

**8.1 Mode de calcul et formules**

**8.1.1 Pouvoir réducteur (Lane et Eynon) (voir 3.1)**

$$RP = \frac{0,600 \times V_1}{100} \times \frac{500}{V_2} \times \frac{100}{m}$$

$$= \frac{300 \times V_1}{V_2 \times m}$$

**8.1.2 Équivalent en dextrose (Lane et Eynon) (voir 3.2)**

$$DE = \frac{RP \times 100}{DMC}$$

où

$V_1$  est le volume, en millilitres, de la solution de D-glucose (5.3), utilisé pour l'étalonnage de la solution mixte de Fehling (7.1);

$V_2$  est le volume, en millilitres, de la solution d'essai (7.2.4), utilisé pour la détermination (7.2.5);

$m$  est la masse, en grammes, de la prise d'essai (7.2.3) contenue dans les 500 ml de solution d'essai (7.2.4);

DMC est la teneur en matière sèche de l'échantillon pour essai, exprimée en pourcentage en masse (voir 7.3).

**8.1.3** Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations si la condition de répétabilité (voir 8.2) est remplie.

**8.2 Répétabilité**

Les résultats de deux déterminations, effectuées rapidement l'une après l'autre par le même analyste, ne doivent pas différer de plus de 1 % de leur moyenne arithmétique.

**8.3 Reproductivité**

Les résultats reportés par deux laboratoires différents, sur le même échantillon pour essai, ne doivent pas différer de plus de 1,5 % de leur moyenne arithmétique.

**9 Procès-verbal d'essai**

Le procès-verbal d'essai doit contenir tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon, la date de l'essai, le numéro de la présente Norme internationale, la méthode utilisée, les résultats obtenus et tous les détails opératoires non prévus dans la présente Norme internationale, ou facultatifs, ainsi que les incidents susceptibles d'avoir agi sur les résultats.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/43-10007-0002-44f1-be43-69f5174fe631/iso-5377-1981>  
 ISO 5377:1981  
 (standards.iteh.ai)  
 44f1-be43-69f5174fe631/iso-5377-1981

## Annexe

### Méthode pour tester le D-glucose anhydre étalon de référence conformément aux exigences de 5.2 c)

(Cette annexe est donnée uniquement à titre indicatif.)

#### A.1 Principe

Séparation du maltose et des sucres de masse moléculaire relative supérieure d'une quantité connue d'échantillon de D-glucose anhydre par chromatographie sur papier.

Détection des sucres séparés comme taches colorées par immersion du chromatogramme développé dans une solution formant une réaction colorée, et séchage.

Vérification que la teneur en maltose (anhydre) ne dépasse pas 0,10 % (*m/m*) par comparaison visuelle des intensités de tache du maltose et dextrose avec une tache de maltose étalon. Estimation visuelle par les taches de la présence de sucres autres que le D-glucose et le maltose.

NOTE — Le maltose et l'*isomaltose* ne sont pas résolus par la méthode spécifiée; par conséquent, les références au «maltose» devront être considérées comme «maltose et/ou *isomaltose*».

#### A.2 Réactifs

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

**A.2.1 Papier pour chromatographie :** Cellulose pur coton, 185 g/m<sup>2</sup>, ayant une teneur en  $\alpha$ -cellulose supérieure à 97 % (*m/m*) et une teneur en cendres d'au moins 0,06 % (*m/m*) (teneurs rapportées à la matière sèche), et ayant pour dimensions minimales 140 mm de largeur  $\times$  420 mm de longueur dans le sens de migration du solvant.

NOTE — Le papier Whatman n° 3 pour chromatographie convient.

#### A.2.2 Solvant de développement

<i>n</i> -Propanol	7 volumes
Acétate d'éthyle	1 volume
Eau	2 volumes

Préparer fraîchement chaque jour d'utilisation.

#### A.2.3 Réactif de coloration

Diphénylamine	1 g
Aniline	1 ml
Acétone	100 ml
Acide orthophosphorique (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ) 88 % ( <i>m/m</i> )	6 ml

Dissoudre la diphénylamine et l'aniline dans l'acétone, ajouter l'acide orthophosphorique et mélanger.

Préparer fraîchement chaque jour d'utilisation.

#### A.2.4 Maltose hydraté

10  $\mu$ l d'une solution contenant 20 g de maltose anhydre par litre ne devront pas faire apparaître de taches autres que celle du maltose lorsqu'on effectue la détermination comme décrit en A.4.4, A.4.5 et A.4.6.

Les sucres autres que le maltose sont alors présents en quantités ne dépassant pas 1 % (*m/m*) (en maltose anhydre) (voir A.5.3).

**A.2.5 Maltose**, solution étalon correspondant à 5 g de maltose anhydre par litre.

Peser, à 1 mg près, 0,526 g de maltose hydraté (A.2.4), équivalent à 0,500 g de maltose anhydre, les dissoudre dans de l'eau, transvaser quantitativement la solution dans une fiole jaugée de 100 ml (A.3.1), ajuster au trait repère avec de l'eau et mélanger.

1 ml de cette solution étalon contient 0,005 g de maltose anhydre.

Préparer fraîchement cette solution chaque jour d'utilisation.

**A.2.6 Maltose**, solution étalon correspondant à 0,5 g de maltose anhydre par litre.

À l'aide d'une pipette (A.3.2), introduire 10,0 ml de la solution étalon de maltose (A.2.5) dans une fiole jaugée de 100 ml (A.3.1), ajuster au trait repère avec de l'eau et mélanger.

1 ml de cette solution étalon contient 0,5 mg de maltose anhydre.

Préparer fraîchement cette solution chaque jour d'utilisation.

#### A.3 Appareillage

**A.3.1 Fioles jaugées à un trait**, de 100 ml de capacité, conformes aux spécifications de l'ISO 1042, classe B.

**A.3.2 Pipettes à un trait**, de 10 ml de capacité, conformes aux spécifications de l'ISO 648, classe B.

**A.3.3 Micropipettes**, permettant de délivrer 10  $\mu$ l.

**A.3.4 Sèche-cheveux** ou autre source d'air tiède à une température ne dépassant pas 40 °C.

**A.3.5 Cuve de chromatographie**, pour développement descendant.

**A.3.6 Cuvette**, convenant pour l'immersion du papier pour chromatographie (A.4.6.1) dans le réactif de coloration (A.2.3).

**A.3.7 Étuve à circulation forcée d'air chaud**, de taille permettant le chauffage du papier pour chromatographie (A.4.6.3) et réglable à  $80 \pm 1$  °C.

## A.4 Mode opératoire

### A.4.1 Préparation de l'échantillon pour essai

Mélanger soigneusement l'échantillon.

### A.4.2 Solution d'essai

Préparer fraîchement chaque jour d'utilisation une solution contenant 250 g de l'échantillon pour essai (A.4.1) par litre.

### A.4.3 Préparation du papier pour chromatographie

**A.4.3.1** Tracer au crayon noir sur le papier pour chromatographie (A.2.1) une ligne de base parallèle à 140 mm du bord et 80 mm de lui.

NOTE — La distance de 80 mm peut être modifiée selon les particularités de la cuve de chromatographie (A.3.5) qui sera utilisée.

**A.4.3.2** Marquer sur cette ligne, au crayon noir, cinq taches d'origines (A, B, C, D et E) en commençant à 30 mm du bord sur le côté mesurant 420 mm, et espacées chacune de 20 mm.

### A.4.4 Application de la solution d'essai et des solutions étalons de maltose

**A.4.4.1** À chaque tache d'origine B et D (A.4.3.2), appliquer, à l'aide d'une micropipette (A.3.3), deux fractions de 10 µl (contenant 5 000 µg de D-glucose anhydre) de la solution d'essai (A.4.2) en séchant les taches dans un courant d'air tiède (voir A.3.4) immédiatement après chaque application.

**A.4.4.2** À chaque tache d'origine A, C et E, appliquer, à l'aide d'une micropipette (A.3.3), 10 µl (contenant 5 µg de maltose anhydre) de la solution étalon de maltose (A.2.6) en séchant chaque tache dans un courant d'air tiède immédiatement après l'application de la solution.

### A.4.5 Développement du chromatogramme

**A.4.5.1** Placer le papier taché (A.4.4) dans la cuve équilibrée (A.3.5) contenant le solvant de développement (A.2.2).

NOTE — La cuve de chromatographie doit être à l'obscurité, à l'abri des courants d'air, maintenue de préférence à température constante.

**A.4.5.2** Laisser le chromatogramme se développer durant 8 h. Ce temps convient pour une température de 20 °C mais doit être diminué si la température est nettement supérieure. Il

est essentiel que le centre de la tache de D-glucose (voir A.4.6) soit déplacé d'au moins 50 mm par rapport à son origine, mais ne doit pas être enlevé par le lavage du chromatogramme.

**A.4.5.3** Retirer le papier de la cuve de chromatographie et le sécher dans un courant d'air tiède.

NOTE — Le papier peut aussi être séché dans une étuve appropriée maintenue à une température ne dépassant pas 40 °C.

### A.4.6 Détection des taches de sucres

**A.4.6.1** Passer le chromatogramme sec et développé (A.4.5.3) à vitesse uniforme dans la cuvette (A.3.6) contenant le réactif de coloration (A.2.3).

**A.4.6.2** Égoutter le chromatogramme et le sécher dans un courant d'air tiède (voir A.3.4) ou dans une étuve appropriée (voir la note en A.4.5.3).

**A.4.6.3** Placer le chromatogramme sec (A.4.6.2) dans l'étuve à circulation forcée d'air chaud (A.3.7).

**A.4.6.4** Examiner le chromatogramme au bout de 5 min, puis à intervalles fréquents. Le retirer de l'étuve lorsque les taches colorées sont clairement définies mais que le chromatogramme dans son ensemble reste non coloré.

### A.4.7 Examen du chromatogramme

**A.4.7.1** Estimer visuellement les intensités relatives de coloration des taches de maltose des taches d'origines B et D (A.4.4.1, solution d'essai) et les taches de maltose des taches d'origines A, C et E (A.4.4.2, solution étalon de maltose).

**A.4.7.2** Examiner visuellement le chromatogramme pour mettre en évidence des sucres autres que le D-glucose et le maltose des taches B et D.

## A.5 Estimation des résultats

**A.5.1** Si les taches du maltose des taches d'origines B et D (A.4.4.1) n'ont pas une couleur plus intense que celles des taches d'origines A, C et E (A.4.4.2), la teneur en maltose (en maltose anhydre) de l'échantillon de D-glucose anhydre ne dépasse pas 0,1 % (*m/m*).

**A.5.2** Si seulement les taches colorées des taches d'origines B et D (A.4.4.1) sont celles du D-glucose et du maltose et que le reste du chromatogramme soit exempt de coloration, alors l'échantillon de D-glucose anhydre satisfait les exigences d'absence de sucres de masse moléculaire relative supérieure à celle du maltose.

## A.6 Sensibilité de la méthode

La plus faible masse de maltose anhydre qui donnera une tache colorée visible est 2 µg.