
**Produits dérivés de l'amidon —
Détermination de la composition des sirops
de glucose, des sirops de fructose, et des
sirops de glucose hydrogénés — Méthode
par chromatographie en phase liquide à
haute performance**

iTeh STANDARD PREVIEW

*Starch derivatives — Determination of the composition of glucose syrups,
fructose syrups and hydrogenated glucose syrups — Method using high-
performance liquid chromatography*

[ISO 10504:1998](#)

<https://standards.itih.ai/catalog/standards/sist/5e782bc4-86dc-478e-a2df-646ce462c6db/iso-10504-1998>



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.

La Norme internationale ISO 10504 a été élaborée par le comité technique TC/ISO 93, *Amidon (amidon, féculés), dérivés et sous-produits*.

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

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5e782bc4-86dc-478e-a2df-646ce462c6db/iso-10504-1998>

© ISO 1998

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
Internet iso@iso.ch

Imprimé en Suisse

Produits dérivés de l'amidon — Détermination de la composition des sirops de glucose, des sirops de fructose, et des sirops de glucose hydrogénés — Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode d'analyse par chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) pour déterminer la composition de solutions de dextrose, de sirops de glucose, de sirops contenant du fructose, de sirops de glucose hydrogénés, de sorbitol, de mannitol et de maltitol. Les constituants sont, en particulier, le glucose, le maltose, le maltotriose, le fructose, le sorbitol, le mannitol, le maltitol et les malto-oligosaccharides.

L'utilisation d'une colonne remplie de résines échangeuses de cations est indispensable.

ISO 10504:1998

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5e782bc4-86dc-478e-a2df-646ce462c6db/iso-10504-1998>

2 Références normatives

Les normes suivantes contiennent des dispositions qui, par suite de la référence qui en est faite, constituent des dispositions valables pour la présente Norme internationale. Au moment de la publication, les éditions indiquées étaient en vigueur. Toute norme est sujette à révision et les parties prenantes des accords fondés sur la présente Norme internationale sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer les éditions les plus récentes des normes indiquées ci-après. Les membres de la CEI et de l'ISO possèdent le registre des Normes internationales en vigueur à un moment donné.

ISO 3696:1987, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai.*

ISO 5381:1983, *Produits d'hydrolyse de l'amidon ou de la fécule — Dosage de l'eau — Méthode Karl Fischer modifiée.*

3 Principe

Les différents saccharides sont séparés par chromatographie en phase liquide à haute performance. La séparation est obtenue en utilisant une colonne échangeuse de cations avec de l'eau comme éluant. Les éluats sont détectés par un réfractomètre différentiel et quantifiés à l'aide d'un intégrateur électronique.

4 Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique reconnue.

4.1 Eau distillée spéciale

L'eau utilisée peut être de l'eau bidistillée de qualité 1 selon l'ISO 3696. La mieux adaptée est l'eau déminéralisée, qui évite la contamination de la résine échangeuse d'ions.

Il convient de filtrer l'eau sur membrane de 0,22 µm. Il est également recommandé de la dégazer par un traitement sous vide, ou à l'aide d'un appareil de dégazage monté en ligne. Il convient de conserver l'eau sous atmosphère inerte et, de préférence, à une température de 70 °C pour inhiber la croissance microbienne.

NOTE Certains modules brevetés de purification d'eau produisent de l'eau filtrée et dégazée.

4.2 Solutions étalons de départ

Préparer des solutions (voir annexe A) dont la teneur en matière sèche est inférieure ou égale à 10 %, en fonction de la sensibilité du réfractomètre, et dont les compositions sont aussi proches que possible de celles des échantillons à analyser.

NOTE Les produits de référence appropriés pour les éléments énumérés dans l'article 1 peuvent être obtenus auprès d'industries chimiques reconnues.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

4.3 Résines échangeuses d'ions, pour la déminéralisation des échantillons à l'extérieur

Les sels présents dans l'échantillon coélueront de la colonne et seront détectés par le réfractomètre, faussant ainsi la détermination. Ces sels doivent d'abord être éliminés par échanges d'ions. La meilleure façon est d'utiliser un système de cartouches (5.5) constituant une pré-colonne de déminéralisation montée en amont de la colonne chromatographique, mais cela peut aussi être réalisé à l'extérieur en utilisant les résines suivantes:

a) Type cation:

- résine de polystyrène divinylbenzène, réticulé à 4 %, fortement échangeuse de cations sous forme H⁺;
- granulométrie sous forme de poudre: 200 mesh à 400 mesh.

b) Type anion:

- résine de polystyrène divinylbenzène faiblement basique, réticulé à 4 %, faiblement échangeuse d'anions et contenant des groupes amines tertiaires, sous forme base libre;
- granulométrie sous forme de poudre: 200 mesh à 400 mesh.

NOTE Bien que de nombreuses résines répondant à ces spécifications soient proposées par divers fournisseurs, leurs performances sont variables. L'expérience a montré dans divers laboratoires que les résines vendues par Bio-Rad (AG50W - X4, AG3 - X4)¹⁾ donnent des résultats satisfaisants.

1) Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif des produits ainsi désignés. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

5 Appareillage

5.1 Chromatographe en phase liquide, équipé

- d'une pompe péristaltique à débit constant à la vitesse requise;
- d'un détecteur réfractométrique différentiel thermostaté;
- d'un four pour colonne à contrôle thermostatique, capable de maintenir la colonne à des températures allant jusqu'à 95 °C, à $\pm 0,5$ °C.

5.2 Injecteur d'échantillon, comprenant une boucle d'échantillonnage (manuelle ou faisant partie du système automatique d'échantillonnage) ayant une capacité de 20 μl ou moins.

5.3 Intégrateur électronique, dont la capacité de calcul et d'enregistrement est compatible avec la tension à la sortie du détecteur.

5.4 Colonne de séparation, comprenant une colonne pré-remplie échangeuse de cations, sous la forme la mieux adaptée à l'analyse envisagée.

La résine recommandée est un polystyrène divinylbenzène sulfoné réticulé de 6 % à 8 %, le diamètre des particules étant compris entre 9 μm et 25 μm .

NOTE On peut se procurer des colonnes de qualité acceptable auprès des principaux fournisseurs.

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

5.5 Pré-colonne: système de cartouches doubles préparé sur mesure, monté en ligne et non chauffé, pour déminéraliser l'échantillon.

[ISO 10504:1998](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5e782bc4-86dc-478e-a2df)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5e782bc4-86dc-478e-a2df>

NOTE Les systèmes disponibles sur le marché sont peu nombreux et leur efficacité est variable. Les cartouches Bio-Rad 125-0118²⁾ ont montré dans différents laboratoires qu'elles permettaient d'obtenir les meilleurs résultats à tout point de vue.

5.6 Système de filtration de l'échantillon, comprenant une seringue sur laquelle peuvent être adaptées des membranes filtrantes circulaires appropriées.

Il convient que leur porosité soit d'environ 0,45 μm .

NOTE Les sirops existant sur le marché sont en général très raffinés, et un filtre de 0,45 μm de porosité suffit. Cependant, si le chromatographe s'obture trop souvent, il est recommandé d'utiliser un filtre de 0,22 μm de porosité.

6 Mode opératoire

6.1 Choix de la colonne

Pour les applications générales, il convient d'utiliser une colonne échangeuse de cations sous forme calcium, et ce particulièrement s'il s'agit de sirops de fructose et de glucose hydrogénés. Cependant, la séparation maltose/maltotriose est difficile lorsque la teneur en maltotriose est égale ou supérieure à 6 %. Dans ce cas, la résolution est meilleure avec une résine échangeuse de cations sous forme potassium ou sodium.

2) Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif des produits ainsi désignés. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

6.2 Mise en marche du système

Installer la colonne dans le four et connecter en amont (si elle est utilisée) la pré-colonne de déminéralisation (5.5). Il n'est pas nécessaire de chauffer les précolonnes. Raccorder l'injecteur à l'entrée de la colonne (ou de la pré-colonne si elle est utilisée) et raccorder l'entrée du détecteur à la sortie de la colonne. Disposer la sortie du détecteur pour que l'effluent soit évacué et éliminé.

Mettre en marche la pompe à un débit de 0,1 ml/min et injecter le solvant dans la colonne. Thermostater la colonne à la température préconisée par le fournisseur. Entrer les paramètres de commande de l'intégrateur. Lorsque la température est stabilisée, augmenter le débit du solvant à 0,5 ml/min et purger la cellule de référence. Suivre les instructions d'emploi du réfractomètre pour régler le détecteur afin d'obtenir des mesurages corrects du signal de la cellule de l'échantillon. Régler l'atténuation comme spécifié.

6.3 Étalonnage

6.3.1 Conformément à la méthode spécifiée dans l'ISO 5381, déterminer la teneur en eau de chaque substance individuelle entrant dans la préparation des solutions étalons mixtes de départ (voir annexe A).

Les étalons pour les polyols supérieurs (tri-itol et supérieurs) ne sont pas disponibles dans le commerce.

6.3.2 Préparer une solution étalon à partir de chaque substance individuelle (voir 4.2) et injecter à plusieurs reprises, dans des conditions identiques à celles de l'analyse, une partie aliquote dans la colonne. Pour le constituant principal, il convient que l'écart entre trois résultats au moins, basés sur la réponse de l'intégrateur, ne dépasse pas $\pm 0,1$ %. Effectuer, pour chaque élément, la moyenne des résultats d'analyse.

NOTE Pour les substances individuelles de départ, on admet que la réponse relative est la même pour chaque sucre, et que les valeurs normalisées de surface en pourcentage reflètent exactement l'analyse. Pour obtenir le niveau requis de composés de poids moléculaire supérieur, une dextrine ou une fraction d'hydrolysat d'amidon spécialement préparée peut être utilisée.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5e782bc4-86dc-478e-a2df-646ce462c6db/iso-10504-1998>

6.3.3 Préparer, à partir des substances individuelles, des mélanges dont la composition soit aussi proche que possible de celle des échantillons à analyser. Il convient qu'ils soient préparés à la concentration choisie (voir 4.2).

NOTE Voir l'exemple donné dans l'annexe A.

6.3.4 Injecter deux fois la partie aliquote choisie dans le chromatographe. Le volume injecté doit être suffisant pour que les constituants mineurs puissent être détectés, sachant que le résultat pour le constituant principal doit se situer dans le domaine de réponse linéaire du détecteur.

6.3.5 Vérifier l'aire de chaque pic apparaissant sur le chromatogramme. Il convient que l'écart entre les aires des pics de deux chromatogrammes au moins ne dépasse pas $\pm 0,2$ %.

Le facteur de réponse, r_x , pour le constituant x , est calculé comme suit:

$$r_x = \frac{m_x}{a_x}$$

où

m_x est la concentration réelle, en pourcentage, du constituant x dans la solution étalon;

a_x est l'aire, en pourcentage, du pic correspondant au constituant x sur le chromatogramme.

En général, les facteurs de réponse sont à peu près équivalents à l'unité. Pour tout écart observé supérieur à 2 % en valeur relative, il convient de vérifier le système de chromatographie, et en particulier les paramètres d'intégration.

6.4 Préparation de l'échantillon

6.4.1 Lorsqu'un système de cartouches de déminéralisation monté en ligne est utilisé, diluer à la concentration choisie (voir 4.2) et filtrer sur une membrane de 0,45 µm de porosité.

À défaut d'un tel système, l'échantillon doit alors être traité à l'extérieur (voir 6.4.2 et 6.4.3).

6.4.2 Mélanger les résines échangeuses d'ions en proportion telle qu'on obtienne une capacité d'échange équivalente. Bien laver le mélange de résines à l'eau (4.1), puis éliminer l'excès d'eau en s'assurant que les résines demeurent humides. Elles peuvent être conservées ainsi pendant plusieurs mois.

6.4.3 Ajouter 1,0 g à 1,5 g de résine mélangée à un volume de 15 ml à 20 ml d'échantillon liquide contenant 25 % à 30 % de matière sèche. Mélanger doucement pendant 15 min, puis éliminer la résine par filtration. Diluer à la concentration choisie et filtrer sur une membrane de 0,45 µm de porosité.

Voir la note en 5.6.

6.5 Analyse de l'échantillon

Injecter la partie aliquote choisie de l'échantillon dans le chromatographe et effectuer l'analyse comme décrit en 6.3.4. Il convient d'effectuer ces analyses en double. Consigner les valeurs des aires en pourcentage de la réponse totale du détecteur.

ISO 10504:1998

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5e782bc4-86dc-478e-a2df-646ce462c6db/iso-10504-1998>

7 Calcul

Calculer la quantité du constituant x à l'aide de l'équation suivante:

$$c_x = r_x \cdot a_x$$

où

c_x est le pourcentage calculé du constituant x dans l'échantillon pour essai;

r_x est le facteur de réponse calculé en 6.3.5;

a_x est l'aire, en pourcentage, du pic correspondant au constituant x sur le chromatogramme.

Arrondir les résultats à la première décimale.

Si le système fonctionne de façon optimale, les valeurs de pourcentage d'aire correspondant à la solution étalon composite sont en corrélation si étroite avec la composition connue de l'étalon qu'un facteur de réponse égal à l'unité peut être appliqué à tous les constituants. Si tel est le cas, le pourcentage du constituant est égal au pourcentage d'aire du constituant.

8 Fidélité

8.1 Répétabilité

Il convient que la différence absolue entre deux résultats d'essai individuels et indépendants, obtenus suivant la même méthode sur un matériau identique dans le même laboratoire par le même opérateur utilisant le même matériel à des intervalles de temps rapprochés, n'excédera que dans 5 % des cas au plus la limite de répétabilité (g/100 g) établie pour les types de sirops énumérés dans le tableau 1.

Tableau 1 — Limites de répétabilité

Type de sirop	Composition approximative des sirops g/100 g	Analyte	Limite de répétabilité, <i>r</i> g/100 g
Dextrose	Dextrose 95	Dextrose Maltose	0,90 0,17
Dextrose	Dextrose 45	Dextrose Maltose	1,40 0,70
Maltose	Maltose 80	Maltose	0,36
Maltose	Maltose 48	Maltose	0,39
Fructose	Fructose 42	Fructose Dextrose	0,43 0,23
Fructose	Fructose 9	Fructose Dextrose	0,22 0,55
Sorbitol	Sorbitol 98	Sorbitol	0,81
Maltitol	Maltitol 75	Maltitol Maltotri-itol	0,19 0,12

8.2 Reproductibilité

Il convient que la différence absolue entre deux résultats individuels, obtenus suivant la même méthode sur un matériau d'essai identique dans des laboratoires différents par des opérateurs différents utilisant un matériel différent, n'excédera que dans 5 % des cas au plus la limite de reproductibilité (g/100 g) établie pour les types de sirops énumérés dans le tableau 2.

Tableau 2 — Limites de reproductibilité

Type de sirop	Composition approximative des sirops g/100 g	Analyte	Limite de reproductibilité, <i>R</i> g/100 g
Dextrose	Dextrose 95	Dextrose Maltose	1,70 0,55
Dextrose	Dextrose 45	Dextrose Maltose	4,0 1,20
Maltose	Maltose 80	Maltose	3,50
Maltose	Maltose 48	Maltose	2,10
Fructose	Fructose 42	Fructose Dextrose	1,0 0,98
Fructose	Fructose 9	Fructose Dextrose	0,57 1,40
Sorbitol	Sorbitol 98	Sorbitol	1,70
Maltitol	Maltitol 75	Maltitol Maltotri-itol	0,87 0,21

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5e782bc4-86dc-478e-a2df-646ce462c6db/iso-10504-1998>