

---

---

**Lait et lait en poudre — Détermination  
de la teneur en iodure — Méthode  
par chromatographie en phase liquide  
à haute performance**

*Milk and dried milk — Determination of iodide content — Method using  
high-performance liquid chromatography*

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

ISO 14378:2000

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d2142a07-1492-4cf5-aaa3-f286af0b1439/iso-14378-2000>



**PDF – Exonération de responsabilité**

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

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

ISO 14378:2000

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d2142a07-1492-4cf5-aaa3-f286af0b1439/iso-14378-2000>

© ISO 2000

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'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office  
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20  
Tel. + 41 22 749 01 11  
Fax. + 41 22 734 10 79  
E-mail [copyright@iso.ch](mailto:copyright@iso.ch)  
Web [www.iso.ch](http://www.iso.ch)

Imprimé en Suisse

## 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 Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 3.

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.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments de la présente Norme internationale peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

La Norme internationale ISO 14378 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*, en collaboration avec la Fédération internationale de laiterie (FIL) et l'AOAC International (Association des chimistes analytiques officiels); elle sera également publiée par ces deux organisations.

[ISO 14378:2000](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d2142a07-1492-4cf5-aaa3-f286af0b1439/iso-14378-2000)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d2142a07-1492-4cf5-aaa3-f286af0b1439/iso-14378-2000>

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

ISO 14378:2000

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d2142a07-1492-4cf5-aaa3-f286af0b1439/iso-14378-2000>

# Lait et lait en poudre — Détermination de la teneur en iode — Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance

**AVERTISSEMENT** — L'utilisation de la présente Norme internationale peut impliquer l'emploi de produits, d'opérations et d'équipements à caractère dangereux. La présente Norme internationale ne prétend pas aborder tous les problèmes de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité, et de s'assurer du respect de la réglementation nationale en vigueur.

## 1 Domaine d'application

La présente Norme Internationale spécifie une méthode par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) pour déterminer la teneur en iode du lait entier pasteurisé et du lait écrémé en poudre, lorsque ce composé est présent à des niveaux compris entre 0,03 µg/g et 1 µg/g et entre 0,3 µg/g et 10,0 µg/g respectivement.

NOTE 1 Cette méthode a fait l'objet d'une étude interlaboratoires effectuée avec des échantillons de lait entier liquide et de lait écrémé en poudre. Il n'y a pas de raison de supposer que la méthode ne pourrait pas s'appliquer au lait écrémé ou partiellement écrémé aussi bien qu'au lait entier en poudre.

NOTE 2 Cette méthode mesure l'iode libre (ionique). Toutefois, la teneur totale d'iode dans le lait frais et le lait en poudre de bonne qualité, dans lesquels aucune culture microbienne n'a été décelée, peut comprendre une fraction massique de 5 % à 10 % d'iode organique lié. La proportion d'iode organique lié peut être plus élevée dans le lait dans lequel une détérioration microbiologique a pu être observée.

## 2 Référence normative

Le document normatif suivant contient des dispositions qui, par suite de la référence qui y est faite, constituent des dispositions valables pour la présente Norme internationale. Pour les références datées, les amendements ultérieurs ou les révisions de ces publications ne s'appliquent pas. Toutefois, les parties prenantes aux accords fondés sur la présente Norme internationale sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer l'édition la plus récente du document normatif indiqué ci-après. Pour les références non datées, la dernière édition du document normatif en référence s'applique. Les membres de l'ISO et de la CEI possèdent le registre des Normes internationales en vigueur.

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

## 3 Terme et définition

Pour les besoins de la présente Norme internationale, le terme et la définition suivants s'appliquent.

### 3.1

#### **teneur en iode du lait entier pasteurisé ou du lait écrémé en poudre**

fraction massique de substances, déterminée par le mode opératoire décrit dans la présente Norme internationale

NOTE Par convention, la teneur en iode s'exprime en microgrammes par gramme de produit.

## 4 Principe

Dilution d'une prise d'essai avec de l'eau. Élimination des composés insolubles et de haut poids moléculaire par filtration au travers d'une membrane dont le seuil de coupure est de 25 000 D. Séparation de l'iode par CLHP de paires d'ions en phase inverse et détection avec un détecteur électrochimique muni d'une électrode en argent fonctionnant de 0 mV à 50 mV. Les résultats sont représentés quantitativement au moyen d'une courbe d'étalonnage.

## 5 Réactifs

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue ou, si nécessaire, de qualité spéciale pour chromatographie liquide à haute performance (CLHP).

**5.1 Eau**, conforme au grade 2 de l'ISO 3696.

**5.2 Solutions étalons d'iode**

**AVERTISSEMENT** — Les solutions aqueuses d'iode exposées à la lumière sont instables et doivent, par conséquent, être protégées de la lumière.

**5.2.1 Solution mère d'iode**, correspondant à 100 mg d'iode par litre.

Dans une fiole jaugée de 1 000 ml (6.2), dissoudre 130,8 mg d'iode de potassium (KI) dans de l'eau. Compléter au trait de jauge avec de l'eau et mélanger.

Cette solution peut être conservée pendant 1 mois si elle est entreposée à température ambiante et à l'abri de la lumière.

**5.2.2 Solutions de travail d'iode**, correspondant à 20 µg, 50 µg, 150 µg et 250 µg d'iode par litre respectivement.

Dans quatre fioles jaugées de 100 ml (6.2), pipetter respectivement 20 µl, 50 µl, 150 µl et 250 µl de la solution mère d'iode (5.2.1). Dans chaque fiole, ajuster au trait de jauge avec de l'eau et mélanger.

Ces solutions peuvent être conservées pendant 1 semaine si elles sont entreposées à température ambiante et à l'abri de la lumière.

**5.3 Acétonitrile** (CH<sub>3</sub>CN), pour chromatographie CLHP.

**5.4 Chlorure d'hexadécyltriméthylammonium** [CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>15</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Cl], solution aqueuse à 25 % (en masse) pour chromatographie de paires d'ions.

**5.5 Éluant CLHP**: mélange d'hydrogénophosphate disodique et de chlorure d'hexadécyltriméthylammonium en solution dans un mélange eau/acétonitrile (68:32 en volume), pH = 6,8.

Dans une fiole jaugée de 1 000 ml, dissoudre 1,42 g d'hydrogénophosphate disodique (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) dans environ 600 ml d'eau. Ajouter 1,3 ml de la solution de chlorure d'hexadécyltriméthylammonium (5.4) et bien mélanger. Puis ajouter 320 ml d'acétonitrile (5.3) et mélanger à nouveau. Ajuster le pH à 6,8 avec de l'acide phosphorique (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) concentré. Compléter au trait de jauge avec de l'eau et bien mélanger.

Clarifier la solution en filtrant d'abord sur une membrane de filtration de 1,2 µm, puis sur une membrane de filtration de 0,5 µm. Faire tourner la solution pour la mélanger et, simultanément, la dégazer par évacuation ou sonification pendant 2 min avant la première utilisation. L'éluant peut être modifié par addition de petites quantités d'eau ou d'acétonitrile pour effectuer de petits ajustements du temps de rétention de l'iode. S'il est entreposé dans un récipient hermétique, l'éluant peut se conserver pendant 1 an.

**5.6 n-Pentanol**.

## 6 Appareillage

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

- 6.1 Balance analytique**, précise à 0,01 g près, avec une lecture à trois décimales.
- 6.2 Fioles jaugées à un trait**, de 100 ml et 1 000 ml de capacité.
- 6.3 Micropipettes**, permettant de délivrer 20 µl, 50 µl, 150 µl et 250 µl respectivement.
- 6.4 Pipette graduée**, de 2 ml de capacité, avec graduations de 0,1 ml.
- 6.5 Éprouvette graduée**, de 500 ml de capacité.
- 6.6 pH-mètre**, avec électrode combinée en verre.
- 6.7 Membranes de filtration** de 1,2 µm et 0,5 µm, Nylon 6-6<sup>1)</sup> ou équivalent, avec un équipement de filtration pour clarifier l'éluant CLHP.
- 6.8 Centrifugeuse**, pouvant contenir des tubes à centrifuger de 50 ml et produire une force centrifuge de 1 000 g.
- 6.9 Tubes à centrifuger**, de 50 ml de capacité et de 27 mm de diamètre intérieur, coniques, en matière plastique jetable, munis de bouchons vissables.
- 6.10 Supports de membranes coniques**, pour soutenir les membranes coniques (6.11) dans les tubes à centrifuger (6.9) (Amicon CS1A<sup>1)</sup> ou équivalent).

- 6.11 Membranes de filtration coniques**, de seuil de coupure de 25 000 D à 30 000 D (Amicon Centreflo CF-25<sup>1)</sup> ou équivalent).

ISO 14378:2000

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d2142a07-1492-4cf5-aaa3->

Avant utilisation, préparer de nouvelles membranes coniques de la façon suivante. Faire tremper dans un mélange d'éthanol et d'eau (2:8 en volume) pendant 1 h. Retirer le cône et l'égoutter. Le monter sur un support (6.10) et le placer dans un tube à centrifuger de 50 ml. Centrifuger le cône pendant 5 min à 10 min, entre 900 g et 1 000 g.

Retourner le cône pour égoutter tout résidu de solvant. Mettre les cônes ainsi préparés sur des supports dans des tubes à centrifuger (6.9) propres et étiquetés en vue de l'analyse des échantillons. Après chaque utilisation, tremper les cônes immédiatement dans de l'eau chaude, bien rincer à l'eau chaude et conserver dans un mélange d'éthanol et d'eau (1:5 en volume). Éliminer le solvant avant toute nouvelle utilisation comme décrit ci-dessus pour les cônes neufs.

NOTE On peut aussi employer des unités de filtration Millipore Ultrafre-PF<sup>1)</sup> (UPF1, seuil de coupure 10 000 D). Ces filtres à usage unique ne nécessitent aucun prétraitement et la filtration peut être faite sous légère pression ou sous vide; aucune centrifugation n'est nécessaire.

- 6.12 Équipement de CLHP**, se composant des éléments suivants.

**6.12.1 Pompe**, permettant de produire un débit de 2 ml/min.

**6.12.2 Injecteur**, manuel ou automatique, d'une capacité d'injection de 50 µl à 200 µl.

1) Nylon 6-6, Amicon CS1A, Amicon Centreflo CF-25 et Millipore Ultrafre-PF sont des exemples de produits disponibles dans le commerce. 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.

**6.12.3 Colonne analytique**, PARTISPHERE C-18<sup>2)</sup>, 5 µm, de 4,7 mm de diamètre intérieur et de 110 mm de longueur, ou équivalent.

**6.12.4 Colonne de garde** (facultative), cartouche SPHERI 5 C-18<sup>3)</sup>, de 3,2 mm de diamètre intérieur et de 15 mm de longueur, ou équivalent.

**6.12.5 Détecteur électrochimique**, à utiliser en courant continu ou en ampérométrie pulsée, avec une électrode en argent fonctionnant à un potentiel de 0 mV à +50 mV.

**6.12.6 Enregistreur à papier déroulant ou intégrateur**, capable d'effectuer des mesures d'aire de pics; utiliser de préférence un intégrateur électronique ayant une fonction d'intégration des pics négatifs (Spectra Physics<sup>4)</sup> est un exemple de matériel approprié).

## 7 Échantillonnage

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 707.

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

Conserver l'échantillon de façon à éviter toute détérioration ou modification de sa composition.

## 8 Préparation de l'échantillon pour essai

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

### 8.1 Généralités

Éviter toute contamination bactérienne lors de la préparation de l'échantillon.

ISO 14378:2000

https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/14378-2000/iso-14378-2000  
492-4cf5-aaa3-f286af0b1439/iso-14378-2000

### 8.2 Lait

Porter l'échantillon pour essai à 20 °C ± 2 °C et mélanger soigneusement. Si l'on n'obtient pas une dispersion homogène de la matière grasse, chauffer l'échantillon progressivement jusqu'à 40 °C, mélanger doucement par retournements répétés, puis laisser refroidir à 20 °C ± 2 °C.

### 8.3 Lait en poudre

Transférer l'échantillon pour essai dans un récipient dont la capacité est environ le double du volume de l'échantillon et disposant d'un couvercle étanche. Fermer immédiatement le récipient et mélanger soigneusement l'échantillon en agitant et en retournant le récipient à plusieurs reprises.

---

2) PARTISPHERE C-18 est un exemple de produit approprié disponible dans le commerce; il est distribué par la maison Whatman Inc.

3) SPHERI 5 C-18 est un exemple de produit approprié disponible dans le commerce; il est distribué par la maison Brownlee.

4) Spectra Physics est un exemple de produit approprié disponible dans le commerce.

Ces informations sont données à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifient nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif des produits ainsi désignés.

## 9 Mode opératoire

### 9.1 Prise d'essai

#### 9.1.1 Lait

Peser, à 0,1 g près, 45 g  $\pm$  5 g de l'échantillon pour essai dans une fiole jaugée de 100 ml (6.2). Compléter au trait de jauge avec de l'eau et bien mélanger.

#### 9.1.2 Lait en poudre

Peser, à 0,01 g près, 4,2 g  $\pm$  0,2 g de l'échantillon pour essai dans une fiole jaugée de 100 ml (6.2). Ajouter 70 ml à 80 ml d'eau et secouer énergiquement pendant 5 min à 10 min pour homogénéiser complètement la prise d'essai. Ajouter 1 goutte de *n*-pentanol (5.6) pour diminuer la formation de mousse et mélanger. Compléter au trait de jauge avec de l'eau et bien mélanger.

### 9.2 Filtration

À partir de chaque prise d'essai diluée (9.1.1 ou 9.1.2), remplir deux membranes coniques jusqu'à moins de 5 mm du bord et centrifuger pendant 15 min à 20 min entre 900 g et 1 000 g. Les filtrats limpides ainsi obtenus (soit deux solutions d'essai pour chaque échantillon) peuvent être injectés directement dans le système CLHP.

NOTE Pour un autre mode de filtration, voir la note en 6.11.

### 9.3 Détermination par CLHP

iTeH STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

#### 9.3.1 Optimisation des conditions de CLHP

Laver une nouvelle colonne CLHP en y pompant un mélange (1:1 en volume) d'acétonitrile (5.3) et d'eau (5.1), suivi de 30 ml d'éluant CLHP (5.5), puis commencer à recycler l'éluant à 2 ml/min pendant au moins 1 h.

Mettre le détecteur (6.12.5) sous tension (potentiel 0 mV à +50 mV; sortie 10 nA à 20 nA en pleine échelle) et continuer à recycler l'éluant jusqu'à l'obtention d'une ligne de base stable.

Injecter à plusieurs reprises 50  $\mu$ l de la solution étalon de travail, ayant une concentration d'iodure de 250  $\mu$ g/l (5.2.2), jusqu'à ce que le temps de rétention et la hauteur de pic soient constants, c'est-à-dire qu'il y a une différence absolue  $\leq$  3 % entre les résultats de deux injections successives. Le temps de rétention de l'iodure doit se situer entre 4 min et 8 min; si ce n'est pas le cas, ajuster la composition de l'éluant (voir 5.5). Régler le potentiel appliqué à l'électrode entre 0 mV et +50 mV afin d'optimiser la forme et la hauteur du pic (voir Figure 1).

Déterminer le volume d'injection pour la solution étalon de travail ayant une concentration de 250  $\mu$ g/l (5.2.2), donnant une hauteur de pic correspondant à environ 80 % de la pleine échelle. Par la suite, utiliser ce volume d'injection pour toutes les solutions d'essai et toutes les solutions étalons.

L'éluant CLHP (5.5) peut être recyclé entre les analyses d'échantillon ou quand les solutions étalons seules sont injectées. Par contre, ne pas recycler l'éluant au moment de l'injection des solutions d'essai. En routine, recycler l'éluant à 0,2 ml/min pour garder le système prêt à l'emploi. Lors de périodes de repos prolongées entre deux utilisations, rincer le système CLHP avec un mélange 1:1 (en volume) d'acétonitrile (5.3) et d'eau (5.1) et rééquilibrer avec de l'éluant CLHP (5.5) avant l'utilisation suivante.

#### 9.3.2 Mesure

Injecter les quatre solutions étalons de travail (5.2.2). Attendre 5 min après élution de l'iodure avant de procéder à l'injection suivante. Mesurer les hauteurs ou les aires de pics d'iodure des solutions étalons de travail.

Injecter les prises d'essai (en double, comme décrit en 9.2). Attendre une nouvelle fois 5 min après élution de l'iodure avant de procéder à une nouvelle injection. Déterminer les hauteurs ou les aires de pics.