
**Lait et produits laitiers — Détermination
des résidus de composés organochlorés
(pesticides) —**

Partie 2:

**Méthodes d'essai pour la purification des
extraits bruts et tests de confirmation**

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

*Milk and milk products — Determination of residues of organochlorine
compounds (pesticides) —*

Part 2: Test methods for crude extract purification and confirmation

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5896a2bc-d881-4463-aff1-b928fcd35d1/iso-3890-2-2000>



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 3890-2:2000

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5896a2bc-d881-4463-aff1-bf928fcd35d1/iso-3890-2-2000>

© 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 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.ch
Web www.iso.ch

Imprimé en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos.....	v
1 Domaine d'application	1
2 Référence normative	1
3 Méthode A: Séparation liquide-liquide à l'aide d'acétonitrile et purification sur colonne de Florisil (voir référence [3])	1
3.1 Principe	1
3.2 Réactifs	2
3.3 Appareillage	3
3.4 Mode opératoire	3
3.5 Chromatographie en phase gazeuse	4
4 Méthode B: Séparation liquide-liquide à l'aide de diméthylformamide (DMF) et purification sur colonne d'alumine (voir références [4] et [5])	4
4.1 Principe	4
4.2 Réactifs	4
4.3 Appareillage	5
4.4 Mode opératoire	5
4.5 Chromatographie en phase gazeuse	6
5 Méthode C: Séparation liquide-liquide à l'aide de diméthylformamide (DMF) et purification sur colonne de Florisil (voir référence [6])	7
5.1 Principe	7
5.2 Réactifs	7
5.3 Appareillage	7
5.4 Mode opératoire	8
5.5 Chromatographie en phase gazeuse	8
6 Méthode D: Chromatographie sur colonne d'oxyde d'aluminium d'activité définie avec précision (voir référence [7])	8
6.1 Principe	8
6.2 Réactifs	9
6.3 Appareillage	10
6.4 Mode opératoire	10
6.5 Chromatographie en phase gazeuse	11
7 Méthode E: Chromatographie sur colonne d'oxyde d'aluminium (voir référence [8])	11
7.1 Principe	11
7.2 Réactifs	11
7.3 Appareillage	12
7.4 Mode opératoire	12
7.5 Chromatographie en phase gazeuse	13
8 Méthode F: Chromatographie sur colonne de Florisil partiellement désactivé (voir références [9], [10], [11])	13
8.1 Principe	13
8.2 Réactifs	13
8.3 Appareillage	13
8.4 Mode opératoire	14
8.5 Chromatographie en phase gazeuse	15
9 Méthode G: Chromatographie sur colonne de gel de silice partiellement désactivé (voir référence [12])	15
9.1 Principe	15
9.2 Réactifs	15

9.3	Appareillage.....	16
9.4	Mode opératoire	16
9.5	Chromatographie en phase gazeuse	17
10	Méthode H: Chromatographie par perméation de gel.....	17
10.1	Principe.....	17
10.2	Réactifs	17
10.3	Appareillage.....	18
10.4	Mode opératoire	18
10.5	Chromatographie en phase gazeuse	18
11	Tests de confirmation et procédé supplémentaire de purification.....	19
11.1	Test de confirmation A: Dosage des composés organochlorés par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire (voir références [14], [15], [16])	19
11.2	Test de confirmation B: Chromatographie en couche mince des composés organochlorés (voir référence [9]).....	20
11.3	Test de confirmation C: Modifications chimiques (voir références [17], [18], [19], [20], [21])	23
11.4	Test de confirmation D: Modifications photochimiques (voir référence [22])	27
12	Procédé supplémentaire de purification	27
12.1	Principe.....	27
12.2	Réactifs	27
12.3	Appareillage.....	28
12.4	Mode opératoire	28
	Bibliographie	29

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 3890-2:2000](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5896a2bc-d881-4463-aff1-bf928fcd35d1/iso-3890-2-2000)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5896a2bc-d881-4463-aff1-bf928fcd35d1/iso-3890-2-2000>

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 partie de l'ISO 3890 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 3890-2 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.

L'ISO 3890 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Lait et produits laitiers — Détermination des résidus de composés organochlorés (pesticides)*:

- *Partie 1: Considérations générales et méthodes d'extraction*
- *Partie 2: Méthodes d'essai pour la purification des extraits bruts et tests de confirmation*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 3890-2:2000

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5896a2bc-d881-4463-aff1-bf928fcd35d1/iso-3890-2-2000>

Lait et produits laitiers — Détermination des résidus de composés organochlorés (pesticides) —

Partie 2:

Méthodes d'essai pour la purification des extraits bruts et tests de confirmation

AVERTISSEMENT — L'utilisation de la présente partie de l'ISO 3890 peut impliquer l'emploi de produits, d'opérations et d'équipements à caractère dangereux. La présente partie de l'ISO 3890 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 partie de l'ISO 3890 spécifie des méthodes d'essai pour la purification des extraits bruts obtenus avec les méthodes générales données dans l'ISO 3890-1. Elle donne également des méthodes recommandées pour la détermination des résidus de composés organochlorés dans le lait et les produits laitiers ainsi que des tests de confirmation et des techniques de purification.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5896a2bc-d881-4463-aff1-bf928fcd35d1/iso-3890-2-2000>

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5896a2bc-d881-4463-aff1-bf928fcd35d1/iso-3890-2-2000>

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 partie de l'ISO 3890. 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 partie de l'ISO 3890 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 3890-1:2000, *Lait et produits laitiers — Détermination des résidus de composés organochlorés (pesticides) — Partie 1: Considérations générales et méthodes d'extraction.*

3 Méthode A: Séparation liquide-liquide à l'aide d'acétonitrile et purification sur colonne de Florisil (voir référence [3])

3.1 Principe

Extraction des composés organochlorés ainsi que de la matière grasse d'un échantillon par l'une des méthodes décrites dans l'ISO 3890-1. Concentration de l'extrait presque jusqu'à sec, puis dissolution dans l'éther de pétrole et séparation des composés organochlorés dans l'acétonitrile. Après mélange de l'acétonitrile avec un excès d'eau, séparation des composés organochlorés dans l'éther de pétrole. Purification de la phase organique par chromatographie sur une colonne de Florisil en utilisant comme éluant un mélange d'éther de pétrole et d'oxyde d'éthyle. Concentration des éluats pour examen par chromatographie en phase gazeuse.

Une méthode particulière est décrite pour les échantillons de fromage.

3.2 Réactifs

Sauf indication différente, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déminéralisée, ou de l'eau de pureté équivalente.

3.2.1 Éther de pétrole, ayant un point d'ébullition compris entre 40 °C et 60 °C.

Distiller sur pastilles d'hydroxyde de potassium ou de sodium.

3.2.2 Acétonitrile (CH₃CN), saturé d'éther de pétrole.

Pour la purification, mélanger 4 l d'acétonitrile avec 1 ml d'acide orthophosphorique et 30 g de pentoxyde de phosphore dans un ballon en verre à fond rond. Ajouter des billes en verre et distiller à une température comprise entre 81 °C et 82 °C. La température ne doit pas dépasser 82 °C.

Mélanger l'acétonitrile avec suffisamment d'éther de pétrole pour qu'une séparation des phases se produise.

3.2.3 Oxyde d'éthyle (C₂H₅OC₂H₅), exempt de peroxydes.

Distiller et stabiliser avec 2,0 % de son volume d'éthanol absolu (C₂H₅OH).

3.2.4 Solvant d'élution A: mélange d'oxyde d'éthyle (3.2.3) et d'éther de pétrole (3.2.1) (6:94 en volume).

Sécher sur 10 g à 25 g de sulfate de sodium anhydre (3.2.6).

3.2.5 Solvant d'élution B: mélange d'oxyde d'éthyle (3.2.3) et d'éther de pétrole (3.2.1) (15:85 en volume).

Sécher sur 10 g à 25 g de sulfate de sodium anhydre (3.2.6).

3.2.6 Sulfate de sodium (Na₂SO₄), en granulés, anhydre.

Chauffer à 500 °C ± 25 °C pendant 4 h. Laisser refroidir et conserver dans un flacon bouché.

3.2.7 Adsorbant: Florisil (Floridin Co¹⁾), 60 mesh à 100 mesh.

Activer l'adsorbant par chauffage à 650 °C ± 25 °C pendant 4 h, le verser immédiatement dans des flacons bien bouchés et le conserver dans l'obscurité. Avant usage, chauffer à 130 °C pendant au moins 5 h.

Il convient de conserver l'adsorbant soit à 130 °C ± 2 °C, soit à la température ambiante dans un dessiccateur. Dans ce dernier cas, cependant, il est recommandé de le chauffer à 130 °C ± 2 °C tous les 2 jours.

Il convient que chaque lot d'adsorbant soit contrôlé de temps en temps de la façon suivante.

Faire passer 1 ml d'une solution hexanique étalon contenant 0,1 mg/l de lindane, d'heptachlore époxyde, d'aldrine et de dieldrine et 0,3 mg/l d'endrine à travers la colonne d'absorption (voir l'ISO 3890-1:2000, 9.3). Éluer et concentrer comme décrit en 3.4.3. Déterminer la récupération par chromatographie en phase gazeuse.

L'adsorbant est satisfaisant si le lindane, l'heptachlore, l'aldrine et l'heptachlore époxyde sont trouvés quantitativement dans le solvant d'élution A (3.2.4) et la dieldrine et l'endrine dans le solvant d'élution B (3.2.5).

3.2.8 Chlorure de sodium (NaCl), solution aqueuse à 2 %.

Chauffer le chlorure de sodium à 500 °C ± 25 °C pendant 4 h avant de préparer la solution.

1) Floridine Co est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente partie de l'ISO 3890 et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

3.2.9 Éthanol (C₂H₅OH), absolu.

3.2.10 Oxalate de sodium (Na₂C₂O₄) ou **oxalate de potassium** (K₂C₂O₄).

3.3 Appareillage

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

3.3.1 Colonnes de chromatographie, ayant un diamètre intérieur de 20 mm et une longueur de 300 mm, munies de robinets en PTFE et de disques en verre fritté ou de tampons de laine de verre.

3.3.2 Évaporateur rotatif (appareil de Kuderna-Danish²) ou équivalent), avec fiole d'évaporation de 500 ml de capacité, et relié à un tube gradué.

3.3.3 Mélangeur à grande vitesse.

3.3.4 Ampoules à décanter, ayant une capacité de 125 ml et 1 000 ml.

3.4 Mode opératoire

3.4.1 Extraction de la matière grasse et des composés organochlorés

3.4.1.1 Méthodes générales

Voir l'ISO 3890-1:2000, annexe A.

3.4.1.2 Méthode particulière pour le fromage

Placer dans un mélangeur à grande vitesse (3.3.3) une quantité suffisante d'échantillon coupé en morceau (pour obtenir 3 g de matière grasse), 2 g environ d'oxalate de sodium ou d'oxalate de potassium (3.2.10) et 100 ml d'éthanol (3.2.9) et mélanger pendant 2 min à 3 min. (Si, par expérience, on sait qu'avec tel ou tel type de produit les émulsions ne sont pas cassées par la centrifugation, ajouter 1 ml d'eau pour 2 g d'échantillon avant de mélanger.) Verser la suspension homogénéisée dans un flacon à centrifuger de 500 ml, ajouter 50 ml d'oxyde d'éthyle (3.2.3) et secouer vigoureusement pendant 1 min. Ajouter 50 ml d'éther de pétrole (3.2.1) et secouer vigoureusement pendant 1 min à 2 min (ou répartir le mélange dans deux flacons de 250 ml et extraire chacun par agitation vigoureuse pendant 1 min à 2 min avec 25 ml d'éther de pétrole). Procéder comme décrit dans l'ISO 3890-1:2000, A.6.3.3.

3.4.2 Séparation liquide-liquide

Peser, à 0,01 g près, 1 g à 3 g de la matière grasse extraite dans une ampoule à décanter de 125 ml (3.3.4) et dissoudre dans 15 ml d'éther de pétrole (3.2.1). Ajouter 30 ml d'acétonitrile saturé d'éther de pétrole (3.2.2) et agiter vigoureusement pendant 1 min à 2 min. Après séparation des phases, faire couler la couche inférieure d'acétonitrile dans une ampoule à décanter de 1 000 ml (3.3.4) contenant 700 ml d'une solution de chlorure de sodium (3.2.8) et 100 ml d'éther de pétrole (3.2.1). Secouer vigoureusement la couche d'éther de pétrole restée dans l'ampoule à décanter de 125 ml par trois fois avec des portions de 30 ml d'acétonitrile saturé d'éther de pétrole (3.2.2).

Rassembler les extraits acétonitrile dans l'ampoule à décanter de 1 000 ml, puis secouer avec précaution. Soutirer la phase aqueuse inférieure dans une seconde ampoule à décanter de 1 000 ml et la secouer pendant 12 s avec 100 ml d'éther de pétrole. Rassembler les phases éther de pétrole provenant des deux ampoules à décanter de 1 000 ml. Laver deux fois avec des portions de 100 ml d'eau ou de solution de chlorure de sodium (3.2.8). Sécher

2) L'évaporateur rotatif de Kuderna-Danish est un exemple d'appareil approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente partie de l'ISO 3890 et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

sur sulfate de sodium (3.2.6) et filtrer dans la fiole d'évaporation de 500 ml de l'évaporateur rotatif (3.3.2), muni d'un tube gradué. Rincer la colonne de sulfate de sodium trois fois avec des portions de 10 ml d'éther de pétrole (3.2.1). Ensuite, concentrer la solution d'éther de pétrole jusqu'à 10 ml à l'aide de l'évaporateur rotatif (3.3.2).

3.4.3 Purification sur colonne de Florisil

Placer dans une colonne chromatographique (3.3.1) une couche d'adsorbant (3.2.7) de 100 mm. Couvrir d'une couche de 10 mm de sulfate de sodium (3.2.6) et rincer le tout avec 40 ml à 50 ml d'éther de pétrole (3.2.1). Introduire sur la colonne (3.3.1), à la pipette, les 10 ml de l'extrait concentré dans l'éther de pétrole obtenu en 3.4.2 et rincer le récipient deux fois avec des portions d'environ 5 ml d'éther de pétrole. Éluer ensuite dans une fiole d'évaporation (3.3.2) munie d'un tube gradué en utilisant 200 ml du solvant d'élution A (3.2.4). Il convient que la vitesse d'élution ne dépasse pas 5 ml/min. Changer les fioles de réception et éluer de la même façon en utilisant 200 ml du solvant d'élution B (3.2.5).

Concentrer les deux éluats séparément jusqu'au petit volume désiré en utilisant l'évaporateur rotatif (3.3.2). Examiner chaque éluat par chromatographie en phase gazeuse. Si une purification supplémentaire se révèle nécessaire, celle-ci peut être conduite sur une seconde colonne d'adsorbant récemment préparé ou comme indiqué dans l'ISO 3890-1:2000, annexe A.

Le premier éluat contient un peu d'HCB, les isomères HCH, l'heptachlore, l'heptachlore époxyde, l'aldrine, le DDE, le TDE et le DDT. Le second éluat contient la dieldrine et l'endrine.

3.5 Chromatographie en phase gazeuse

Voir l'ISO 3890-1:2000, 6.2. Pour les essais préliminaires, etc., voir l'ISO 3890-1:2000, articles 10 à 14.

4 Méthode B: Séparation liquide-liquide à l'aide de diméthylformamide (DMF) et purification sur colonne d'alumine (voir références [4] et [5])

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5896a2bc-d881-4463-aff1-bf928fcd35d1/iso-3890-2-2000>

4.1 Principe

Extraction des composés organochlorés ainsi que de la matière grasse d'un échantillon par la méthode décrite dans l'ISO 3890-1:2000, article A.6, puis séparation des résidus dans la diméthylformamide. Après addition d'une solution de sulfate de sodium, séparation des composés organochlorés dans le *n*-hexane. Chromatographie de la phase organique sur oxyde d'aluminium neutre en utilisant comme éluant le *n*-hexane. Concentration de l'éluat pour examen par chromatographie en phase gazeuse.

Des méthodes particulières sont décrites pour les échantillons de lait et de beurre.

4.2 Réactifs

Sauf indication différente, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déminéralisée, ou de l'eau de pureté équivalente.

4.2.1 *n*-Hexane [CH₃(CH₂)₄CH₃], ayant un point d'ébullition compris entre 68 °C et 70 °C.

Vérifier la pureté par chromatographie en phase gazeuse dans les conditions de travail de la colonne. Si nécessaire, distiller sur hydroxyde de potassium.

4.2.2 Acétone (CH₃COCH₃), d'utilisation courante.

4.2.3 Diméthylformamide (DMF).

Examiner un extrait au *n*-hexane d'une solution aqueuse diluée pour déceler les pics susceptibles d'interférer lors de l'analyse par chromatographie en phase gazeuse. Redistiller le solvant, si nécessaire, et recueillir la fraction dont le point d'ébullition est compris entre 152 °C et 154 °C.

4.2.4 *n*-Hexane, saturé de diméthylformamide.

4.2.5 Diméthylformamide, saturée de *n*-hexane.

4.2.6 Sable, lavé aux acides.

Chauffer pendant 4 h à 500 °C, puis refroidir et conserver dans un flacon bouché.

4.2.7 Sulfate de sodium (Na₂SO₄), en granulés, anhydre.

Chauffer pendant 4 h à 500 °C, puis refroidir et conserver dans un flacon bouché.

4.2.8 Oxyde d'aluminium (Al₂O₃), neutre, activé.

Chauffer l'oxyde d'aluminium pendant 4 h à 500 °C, puis refroidir. Ajouter avec précaution 7 parties d'eau à 93 parties d'oxyde d'aluminium (fraction massique) et mélanger soigneusement dans un récipient fermé pendant au moins 90 min. Maintenir le récipient bien bouché et utiliser l'oxyde d'aluminium dans les 10 jours qui suivent.

4.2.9 Sulfate de sodium, solution aqueuse à 2 %.

4.3 Appareillage

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

4.3.1 Appareil d'extraction Soxhlet.

4.3.2 Évaporateur rotatif (appareil de Kuderna-Danish²) ou équivalent), avec fiole d'évaporation de 500 ml de capacité, et relié à un tube gradué.

4.3.3 Mélangeur à grande vitesse.

4.3.4 Colonnes de chromatographie, ayant un diamètre intérieur de 12 mm et une longueur de 300 mm, munies de robinets en PTFE.

4.3.5 Microcolonnes Snyder³.

4.4 Mode opératoire

4.4.1 Extraction de la matière grasse et des composés organochlorés

4.4.1.1 Méthodes générales

Voir l'ISO 3890-1:2000, annexe A.

4.4.1.2 Méthodes particulières

a) Lait

Introduire, dans l'ordre, 40 ml de lait bien mélangé, 80 ml d'acétone (4.2.2) et 80 ml de *n*-hexane (4.2.1), dans un bécher vortex de 250 ml. Homogénéiser ce mélange pendant 3 min. Le transférer immédiatement dans un tube à centrifuger de 250 ml en lavant les lames du mixer avec 10 ml de *n*-hexane, puis avec 5 ml d'eau, et ajouter les lavages dans le tube.

3) La microcolonne Snyder est un exemple d'appareil approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente partie de l'ISO 3890 et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

Placer le tube dans une centrifugeuse à une fréquence de rotation de $2\,500\text{ min}^{-1}$ pendant 5 min. Recueillir la couche de solvant *n*-hexane et la faire passer à travers une courte colonne de sulfate de sodium anhydre (4.2.7). Laver le contenu du tube avec deux fractions successives de 25 ml de *n*-hexane et faire passer les lavages à travers la colonne. Réduire les extraits rassemblés jusqu'à 15 ml environ dans l'évaporateur rotatif (4.3.2). Transférer la solution dans une ampoule à décanter de 100 ml, graduée à 25 ml, et ajuster le volume à 25 ml. [Voir également la méthode E, 7.4.1.2 b) pour le lait.]

b) Beurre

Dissoudre 5 g de matière grasse butyrique clarifiée (fondue et décantée sur filtre) dans 10 ml de *n*-hexane. Transférer la solution dans une ampoule à décanter de 100 ml à l'aide de trois portions successives de 5 ml de *n*-hexane.

4.4.2 Séparation de la matière grasse et des composés organochlorés à l'aide de DMF

Extraire les 25 ml de la solution hexanique de matière grasse (4.4.1) avec 10 ml de diméthylformamide (DMF) saturée de *n*-hexane (4.2.5) en l'agitant dans une ampoule de décantation. Après 2 min à 3 min, recueillir la couche inférieure de DMF dans une seconde ampoule à décanter de 100 ml (en retenant toute émulsion interfaciale dans la première ampoule à décanter). Répéter l'extraction de la solution de *n*-hexane avec deux portions supplémentaires de 10 ml de DMF (4.2.5). Combiner les extraits DMF et les laver avec 10 ml de *n*-hexane saturé de DMF (4.2.4).

Séparer la fraction de 10 ml de *n*-hexane et la laver avec une nouvelle portion de 10 ml de DMF (4.2.5). Rejeter le *n*-hexane et ajouter les lavages à l'extrait initial de 30 ml de DMF dans une ampoule à décanter de 500 ml (ou de préférence de 350 ml). Ajouter 6 ml de *n*-hexane (4.2.1) et secouer vigoureusement pendant 2 min avec 200 ml de solution de sulfate de sodium (4.2.9).

Laisser reposer pendant 20 min pour laisser à l'hexane le temps de se séparer. Rassembler la phase hexanique par agitation douce en tournant. Éliminer la phase aqueuse, sécher l'ampoule à décanter avec un papier filtre et recueillir le *n*-hexane dans un tube gradué, à col rodé, pouvant contenir 15 ml de solvant. Rincer l'ampoule à décanter avec de petites quantités de *n*-hexane et les ajouter au tube.

Relier le tube à une microcolonne Snyder (4.3.5) et concentrer l'extrait hexanique à environ 2 ml.

4.4.3 Purification sur colonne d'oxyde d'aluminium à l'aide de *n*-hexane

Préparer une suspension de 5 g d'oxyde d'aluminium (4.2.8) dans le *n*-hexane (4.2.1) et la verser dans une colonne de chromatographie (4.3.4) contenant un petit tampon de laine de coton lavé au solvant (voir l'ISO 3890-1:2000, A.5.15). Laisser l'oxyde d'aluminium se déposer et le recouvrir d'une couche de sulfate de sodium anhydre de 30 mm (4.2.7). Laisser s'écouler le *n*-hexane jusqu'à ce que le ménisque du solvant atteigne le haut de la couche de sulfate de sodium. Ajouter l'extrait (4.4.2) au *n*-hexane et laver la colonne avec des portions de 2 ml de *n*-hexane (4.2.1).

Éluer à un débit d'élution n'excédant pas 5 ml/min avec 50 ml de *n*-hexane (4.2.1); recueillir l'éluat dans l'évaporateur rotatif (4.3.2). Concentrer l'éluat à approximativement 5 ml. Détacher le tube gradué, l'adapter sur une microcolonne Snyder (4.3.5) et poursuivre la réduction de l'éluat jusqu'à un volume de 1 ml.

4.5 Chromatographie en phase gazeuse

Voir l'ISO 3890-1:2000, 6.2. Pour les essais préliminaires, etc., voir l'ISO 3890-1:2000, articles 10 à 14.