
**Lait traité thermiquement —
Détermination de la teneur en lactulose —
Méthode par chromatographie liquide à
haute performance**

*Heat-treated milk — Determination of lactulose content — Method using
high-performance liquid chromatography*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 11868:2007](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/00b2650b-fd01-45c3-bede-fccd1d95ecd6/iso-11868-2007)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/00b2650b-fd01-45c3-bede-fccd1d95ecd6/iso-11868-2007>



Numéros de référence
ISO 11868:2007(F)
FIL 147:2007(F)

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 et la FIL déclinent 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 et les comités nationaux de la FIL. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central de l'ISO à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 11868:2007](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/00b2650b-fd01-45c3-bede-fccd1d95ecd6/iso-11868-2007)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/00b2650b-fd01-45c3-bede-fccd1d95ecd6/iso-11868-2007>

© ISO et FIL 2007

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 soit de l'ISO soit de la FIL, à l'une ou l'autre des adresses ci-après.

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.org
Web www.iso.org

Fédération Internationale de Laiterie
Diamant Building • Boulevard Auguste Reyers 80 • B-1030 Bruxelles
Tel. + 32 2 733 98 88
Fax + 32 2 733 04 13
E-mail info@fil-idf.org
Web www.fil-idf.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
1 Domaine d'application	1
2 Termes et définitions	1
3 Principe	1
4 Réactifs	1
5 Appareillage	2
6 Échantillonnage	3
7 Préparation de l'échantillon pour essai	4
8 Mode opératoire	4
8.1 Prise d'essai	4
8.2 Préparation des échantillons étalons	4
8.3 Détermination chromatographique	5
8.4 Rendement	6
9 Calcul et expression des résultats	6
9.1 Étalonnage	6
9.2 Calcul de la teneur en lactulose	6
10 Fidélité	7
10.1 Étude interlaboratoires	7
10.2 Répétabilité	7
10.3 Reproductibilité	7
11 Rapport d'essai	7
Annexe A (informative) Exemple de chromatogramme	8
Annexe B (informative) Résultats de l'essai interlaboratoires	9
Bibliographie	10

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 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. 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 du présent document 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.

L'ISO 11868|FIL 147 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*, et la Fédération internationale de laiterie (FIL). Elle est publiée conjointement par l'ISO et la FIL.

La présente édition de l'ISO 11868|FIL 147 annule et remplace l'ISO 11868:1997, dont elle constitue une révision mineure.

Avant-propos

La **FIL (Fédération internationale de laiterie)** est une fédération mondiale du secteur laitier avec un Comité National dans chacun de ses pays membres. Chaque Comité National a le droit de faire partie des Comités permanents de la FIL auxquels sont confiés les travaux techniques. La FIL collabore avec l'ISO pour l'élaboration de méthodes normalisées d'analyse et d'échantillonnage pour le lait et les produits laitiers.

Les projets de Normes internationales adoptés par les Équipes d'Action et les Comités permanents sont soumis aux Comités Nationaux pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 50 % au moins des Comités Nationaux de la FIL votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. La FIL ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 11868|FIL 147 a été élaborée par la Fédération internationale de laiterie (FIL) et le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*. Elle est publiée conjointement par la FIL et l'ISO.

L'ensemble des travaux a été confié à l'ancienne Équipe d'Action mixte ISO/FIL/AOAC chargée de la *Caractérisation du lait et des produits laitiers selon le traitement à la chaleur* (E704), sous la conduite de son chef de projet, Monsieur M.A.J.S. van Boekel (NL).

Cette édition de l'ISO 11868|FIL 147 annule et remplace la FIL 147A:1994, dont elle constitue une révision mineure.

[ISO 11868:2007](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/00b2650b-fd01-45c3-bede-fccd1d95ecd6/iso-11868-2007)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/00b2650b-fd01-45c3-bede-fccd1d95ecd6/iso-11868-2007>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 11868:2007](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/00b2650b-fd01-45c3-bede-fccd1d95ecd6/iso-11868-2007>

Lait traité thermiquement — Détermination de la teneur en lactulose — Méthode par chromatographie liquide à haute performance

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode par chromatographie liquide à haute performance pour la détermination de la teneur en lactulose du lait traité thermiquement (lait écrémé, demi-écrémé ou entier) afin de distinguer le lait stérilisé à ultra-haute température (UHT) du lait stérilisé en bouteilles.

La méthode a été testée pour des teneurs en lactulose situées dans une plage allant de 200 mg/l à 1 500 mg/l et est applicable à tous les laits traités thermiquement.

La méthode décrite dans la présente Norme internationale doit être utilisée en cas de litige.

iTeh STANDARD PREVIEW

2 Termes et définitions (standards.iteh.ai)

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

[ISO 11868:2007](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/00b2650b-fd01-45c3-bede-2007)

2.1 <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/00b2650b-fd01-45c3-bede-2007> teneur en lactulose du lait écrémé, demi-écrémé ou entier

masse des substances déterminées par la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale

NOTE La teneur en lactulose est exprimée en milligrammes par litre d'échantillon.

3 Principe

Élimination des matières grasses et des protéines d'un échantillon de lait, suivie d'une filtration. Détermination de la teneur en lactulose dans le filtrat par chromatographie liquide à haute performance (CLHP). Évaluation du résultat obtenu pour l'échantillon par comparaison avec des échantillons étalons de lait écrémé sans lactulose auxquels ont été ajoutées des quantités connues de lactulose.

4 Réactifs

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

4.1 Lactose, monohydraté.

4.2 Lactulose, ayant une pureté minimale de 99 %.

4.3 Solution de prétraitement de l'échantillon.

Dissoudre dans de l'eau 91,0 g d'acétate de zinc dihydraté, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$, 54,6 g d'acide phosphotungstique tétracosahydraté, $H_3[P(W_3O_{10})_4] \cdot 24H_2O$, et 58,1 ml d'acide acétique cristallisable dans une fiole jaugée de 1 000 ml et compléter au trait repère avec de l'eau.

4.4 Éluant.

Filtrer l'eau, de qualité CLHP, à travers un filtre sur membrane d'un diamètre de pore de 0,45 µm (5.8), et, avant l'emploi, la porter à ébullition pour éliminer l'air dissous.

Au lieu de porter l'eau à ébullition, il est possible d'utiliser d'autres méthodes d'élimination de l'air dissous qui conduisent au même résultat (par exemple barbotage à l'hélium).

NOTE La plupart de ces variantes sont plus onéreuses.

4.5 Échantillons étalons.

4.5.1 Solution étalon de lactulose.

Peser, à 0,1 mg près, environ 75 mg de lactulose (4.2) dans une fiole jaugée de 100 ml (5.6). Dissoudre dans de l'eau et compléter à 100 ml avec de l'eau.

4.5.2 Lait écrémé pasteurisé, sans lactulose, reconnu comme tel en utilisant la méthode décrite ci-dessous.

Utiliser des échantillons identiques de lait écrémé pasteurisé contenant environ 250 mg, 500 mg, 750 mg et 1 000 mg de lactulose par litre, obtenus en leur ajoutant, respectivement, 5 ml, 10 ml, 15 ml et 20 ml de solution étalon de lactulose (comme décrit en 8.2).

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

5 Appareillage

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

- [ISO 11868:2007](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/00b2650b-fd01-45c3-bede-fcd1d95ecd6/iso-11868-2007)
- 5.1 **Balance analytique**, précise à 0,1 mg près.
- 5.2 **Entonnoirs en verre**, d'environ 7 cm de diamètre.
- 5.3 **Filtres**.
- 5.3.1 **Papiers filtres**, à filtration moyenne, d'environ 12,5 cm de diamètre.
- 5.3.2 **Membranes en acétate de cellulose**, d'un diamètre de pore de 0,45 µm.
- 5.4 **Éprouvette graduée**, de 25 ml de capacité.
- 5.5 **Pipette graduée**, de 10 ml de capacité, avec graduations de 0,1 ml.
- 5.6 **Fioles jaugées**, de 50 ml, 100 ml et 1 000 ml de capacité.
- 5.7 **Pipettes à un trait**, de 5 ml, 10 ml, 15 ml et 20 ml de capacité.
- 5.8 **Appareil de filtration en verre**, avec filtre d'un diamètre de pore de 0,45 µm.
- 5.9 **Flacons en verre**, de 20 ml de capacité, munis d'un robinet d'arrêt.
- 5.10 **Bain d'eau à ultrasons**.
- 5.11 **Pompe à vide hydraulique**.
- 5.12 **Matériel de CLHP**, comme suit.

5.12.1 Agitateur magnétique et réchauffeur, pour conserver l'éluant à la température de $90\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, avant qu'il ne soit transporté à la précolonne pour analyse.

5.12.2 Pompe, capable de délivrer un débit de 0,3 ml/min à 0,6 ml/min avec une pulsation inférieure à 1 % de la perte de charge sur la colonne (1,5 MPa à 4 MPa).

5.12.3 Colonne HPX-87 P (Bio-Rad, 30 cm × 0,78 cm)¹⁾ ou colonne équivalente garnie d'un échangeur d'ions sulfoniques sous forme plomb, greffée sur un polymère réticulé à 8 % de polystyrène divinylbenzène. La précolonne est constituée du système de déminéralisation Bio-Rad¹⁾ (cartouche de 3 cm × 0,46 cm, garnie d'une résine échangeuse de cations sous forme hydrogène et cartouche de 3 cm × 0,46 cm, garnie d'une résine échangeuse d'anions sous forme carbonate) ou système offrant une efficacité similaire.

Les précolonnes augmentent à la fois la durée de vie et la longueur de la colonne analytique, en diminuant les problèmes de séparation et en réduisant de manière importante les erreurs de dosage quantitatif. Quand le système CLHP commence à perdre de sa résolution, remplacer la précolonne usagée avant qu'elle ne contamine la colonne principale.

5.12.4 Four thermostatique de la colonne, pouvant être réglée à $75\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.

Il convient de placer les précolonnes à l'extérieur du four. Il convient que le tube d'entrée de la colonne principale entre sur une longueur de 10 cm à 15 cm dans le four pour équilibrer la température de l'éluant à 75 °C , sinon, il pourrait y avoir risque de distorsion des pics.

5.12.5 Détecteur d'indice de réfraction, très sensible, avec un bruit de fond inférieur à 5×10^{-9} unités d'indice de réfraction (RIU), mesuré dans l'eau.

Il est recommandé de régler la température interne du thermostat à une température supérieure à la température ambiante et que cette température soit suffisante pour obtenir une ligne de base stable. On recommande dans la plupart des cas une température de 35 °C à 40 °C .

NOTE Une dérive de la ligne de base due à des changements de température entravant la mesure à haute sensibilité de l'indice de réfraction, il est recommandé de maintenir une température constante en plaçant le matériel CLHP dans une pièce climatisée.

5.12.6 Intégrateur, capable de mesurer la hauteur des pics.

Il est recommandé de choisir soigneusement les paramètres de contrôle (par exemple la largeur de pic, la dérive de la ligne de base, le seuil de détection). L'intégrateur devrait être amené à tracer une perpendiculaire entre les pics du lactose et du lactulose. (La logique d'intégration tangentielle entraîne des inexactitudes en raison de la présence de quantités variables de glucose dans le lait). Il ne faut pas que l'intégrateur détecte une ligne de base entre les pics du lactose et du lactulose, sauf si la vallée atteint la ligne de base pour toutes les concentrations de lactulose.

De nombreux intégrateurs font varier automatiquement les paramètres d'intégration des pics pendant l'analyse. Il est recommandé, si possible, de déconnecter cette fonction afin d'obtenir des résultats plus répétables.

6 Échantillonnage

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

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 | FIL 50.

1) La colonne HPX-87 P (Bio-Rad, 30 cm × 0,78 cm) et le système de déminéralisation Bio-Rad sont des exemples de produits appropriés disponibles sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuve ou recommande l'emploi exclusif des produits ainsi désignés.