
**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**

iTeh STANDARD PREVIEW

(standards.iteh.ai)

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

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7a6df75e-9e4c-4441-bf7d-d1291ae5ea3d/iso-10504-2013>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 10504:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7a6df75e-9e4c-4441-bf7d-d1291ae5ea3d/iso-10504-2013>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2013

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, 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, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au 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.org

Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Principe	1
4 Réactifs	1
5 Appareillage	2
6 Mode opératoire	3
6.1 Choix de la colonne.....	3
6.2 Mise en marche du système.....	3
6.3 Étalonnage de la colonne.....	3
6.4 Préparation de l'échantillon.....	4
6.5 Analyse de l'échantillon.....	5
7 Calcul	5
8 Fidélité	5
8.1 Répétabilité.....	5
8.2 Reproductibilité.....	6
Annexe A (informative) Exemples de solutions étalons	7

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 10504:2013](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7a6df75e-9e4c-4441-bf7d-d1291ae5ea3d/iso-10504-2013)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7a6df75e-9e4c-4441-bf7d-d1291ae5ea3d/iso-10504-2013>

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 (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'OMC concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: [Avant-propos — Informations supplémentaires](http://www.iso.org/standards/standards/sist/7a6df75e-9e4c-4441-bf7d-d1291ae5ea3d/iso-10504-2013).

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est le Comité de Projet ISO/PC 271, *Systèmes de management de la conformité*.

Cette deuxième édition annule et remplace l'ISO 10504:1998, dont elle constitue une révision mineure.

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, du sorbitol, du mannitol et du maltitol. Les constituants sont, principalement, le glucose, le maltose, le maltotriose, le fructose, le sorbitol, le mannitol, le maltitol et les maltooligosaccharides.

L'utilisation d'une colonne garnie d'une résine échangeuse de cations est indispensable.

2 Références normatives

Les documents ci-après, dans leur intégralité ou non, sont des références normatives indispensables à l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

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 utilisés doivent être de qualité réactif analytique reconnue.

4.1 Eau distillée spéciale.

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

Il convient de filtrer l'eau sur un filtre 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 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 dispositifs de purification d'eau disponibles dans le commerce permettent d'obtenir de l'eau filtrée et dégazée.

4.2 Solutions étalons primaires.

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 ayant une composition aussi proche que possible de celle des échantillons à analyser.

NOTE Des matériaux de référence appropriés pour les constituants énumérés dans l'[Article 1](#) peuvent être obtenus auprès d'entreprises reconnues dans le domaine de la chimie.

4.3 Résines échangeuses d'ions, pour la déminéralisation des échantillons à l'extérieur de l'appareillage de chromatographie.

Les sels présents dans l'échantillon co-éluent dans la colonne et sont détectés par le réfractomètre, faussant ainsi la détermination. Ces sels doivent donc d'abord être éliminés au moyen de résines échangeuses d'ions. Pour ce faire, la méthode la plus appropriée consiste à utiliser une pré-colonne en ligne comprenant un système de cartouches ([5.5](#)), mais cela peut aussi être réalisé à l'extérieur de l'appareillage de chromatographie en utilisant les résines suivantes¹⁾:

a) type cation:

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

b) type anion:

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

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7a6df75e-9e4c-4441-bf7d-d1291ae5ea3d/iso-10504-2013>

5 Appareillage

5.1 Chromatographe en phase liquide, muni des équipements suivants.

5.1.1 Pompe, sans pulsation, permettant de maintenir le débit requis à un niveau constant.

5.1.2 Réfractomètre différentiel, thermostaté

5.1.3 Four pour colonne thermostaté, permettant de maintenir la colonne à des températures allant jusqu'à 95 °C, précis à ± 0,5 °C près.

5.2 Injecteur d'échantillon, comprenant une boucle d'injection (manuelle ou faisant partie d'un injecteur automatique) ayant une capacité inférieure ou égale à 20 µl.

5.3 Intégrateur, comprenant un intégrateur électronique ayant une capacité de calcul et d'enregistrement, compatible avec la tension à la sortie du détecteur.

1) Bien que plusieurs résines conformes à ces spécifications soient proposées par divers fournisseurs, leurs performances sont variables. Des expériences menées dans plusieurs laboratoires ont démontré que les résines AG® 50W-X4 et AG® 3-X4 permettent d'obtenir des résultats satisfaisants. (AG® 50W-X4 et AG® 3-X4 sont des appellations commerciales de produits vendus par Bio-Rad. Cette information est donnée par souci de commodité à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ces produits. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.)

5.4 Colonne de séparation, comprenant une colonne pré-remplie échangeuse de cations, sous la forme la mieux adaptée à l'analyse. La résine recommandée est constituée de polystyrène divinylbenzène sulfoné réticulé à 6 %-8 %, le diamètre des particules étant compris entre 9 µm et 25 µm.

NOTE Il est possible de se procurer des colonnes de qualité acceptable auprès des principaux fournisseurs.

5.5 Pré-colonnes, système à double cartouche préparé sur mesure, monté en ligne et non chauffé, pour déminéraliser l'échantillon.²⁾

5.6 Système de filtration de l'échantillon, comprenant une seringue sur laquelle peuvent être adaptées des membranes filtrantes circulaires appropriées. Il convient que la porosité de ces dernières soit de 0,45 µm.

Les sirops disponibles dans le commerce sont généralement hautement raffinés, une membrane d'une porosité de 0,45 µm est donc appropriée. Cependant, si le chromatographe se bouche trop souvent, il est recommandé d'utiliser une membrane de 0,22 µm de porosité.

6 Mode opératoire

6.1 Choix de la colonne

Pour les applications générales, il convient d'utiliser une résine échangeuse de cations sous forme calcium, en particulier s'il s'agit de sirops de fructose ou de sirops de glucose hydrogénés. Cependant, si la teneur en maltose est élevée, sa séparation du maltotriose est difficile lorsque la teneur en maltotriose est supérieure ou égale à environ 6 %. Dans un tel cas, une meilleure résolution est obtenue avec une résine échangeuse de cations sous forme potassium ou sodium.

6.2 Mise en marche du système ISO 10504:2013

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7a6df75e-9e4c-4441-bf7d-acc0e1a51c9560/iso-10504-2013>

Installer la colonne dans le four et raccorder les pré-colonnes (5.5), si elles sont utilisées, à l'entrée de la colonne. Il n'est pas nécessaire de chauffer les pré-colonnes. Raccorder l'injecteur à l'entrée de la colonne (ou des pré-colonnes si elles sont utilisées) et raccorder l'entrée du détecteur à la sortie de la colonne. Installer le détecteur de façon 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. Régler la colonne à la température préconisée par le fournisseur. Saisir les paramètres de commande de l'intégrateur. Lorsque la température de la colonne est stable, augmenter le débit du solvant à 0,5 ml/min et purger la cellule de référence. Suivre les instructions d'utilisation du réfractomètre pour régler le détecteur de façon à permettre des mesurages corrects du signal de la cellule de l'échantillon. Régler l'atténuation selon ce qui est requis.

6.3 Étalonnage de la colonne

6.3.1 Conformément à la méthode spécifiée dans l'ISO 5381, déterminer la teneur en eau de chaque substance individuelle utilisée dans la préparation des solutions étalons primaires mixtes (voir [Annexe A](#)).

Aucun étalon n'est disponible dans le commerce pour les polyols supérieurs (tri-itol et supérieurs).

6.3.2 Préparer une solution étalon pour chaque substance individuelle (voir [4.2](#)) puis, dans les mêmes conditions que celles de l'analyse, injecter plusieurs fois une partie aliquote dans la colonne. Pour

2) Il existe quelques systèmes disponibles sur le marché mais leur efficacité est variable. Il a été démontré dans plusieurs laboratoires que les cartouches Bio-Rad 125-0118 étaient les plus efficaces à tout point de vue. (Cette information est donnée par souci de commodité à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ces produits. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.)

le constituant principal, il convient que l'écart entre trois résultats au moins, basés sur la réponse de l'intégrateur, ne dépasse pas ± 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 tous les sucres, et que les valeurs normalisées de pourcentage d'aire reflètent la valeur vraie. Pour obtenir le niveau requis de composés à poids moléculaire élevé, une dextrine ou une fraction d'hydrolysat d'amidon spécialement préparée peut être utilisée.

6.3.3 Préparer, à partir des substances individuelles, des mélanges dont la composition est aussi proche que possible de celle des échantillons à analyser. Il convient que ces mélanges soient préparés de façon à obtenir 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 obtenir des pics mesurables pour les constituants mineurs, et le résultat obtenu pour le principal constituant doit se situer dans le domaine de réponse linéaire du détecteur.

6.3.5 Vérifier l'aire des pics sur le chromatogramme. Il convient que l'écart entre les aires des pics principaux sur au moins deux chromatogrammes ne dépasse pas ± 0,2 %.

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

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

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

où

m_x	est la teneur réelle, en pourcentage, du constituant x dans la solution étalon;
a_x	est le pourcentage de l'aire du pic normalisé attribué au constituant x .

En général, les facteurs de réponse sont à peu près équivalents à l'unité. Si un écart supérieur à 2 % est observé, 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 déminéralisation en ligne est utilisé, diluer l'échantillon à la concentration choisie (voir 4.2), et le filtrer sur une membrane de 0,45 µm de porosité.

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

6.4.2 Mélanger les résines échangeuses d'ions de façon à obtenir des proportions telles que leur capacité d'échange soit équivalente. Laver soigneusement les résines mélangées avec de l'eau (4.1), puis éliminer tout excédent, en veillant à ce que les résines restent humides. Ces dernières 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 de pourcentage d'aire issues de la réponse totale du détecteur.

7 Calcul

Calculer la teneur du constituant x , selon l'équation suivante:

$$c_x = r_x \cdot a_x$$

où

c_x	est la teneur calculée, en pourcentage, du constituant x dans l'échantillon pour essai;
r_x	est le facteur de réponse calculé précédemment (voir 6.3.5);
a_x	est le pourcentage normalisé de l'aire du pic du constituant x .

Arrondir le résultat avec un chiffre après la virgule.

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

(standards.iteh.ai)

8 Fidélité

ISO 10504:2013
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7a6df75e-9e4c-4441-bf7d-d1291ae5ea3d/iso-10504-2013>

8.1 Répétabilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai indépendants obtenus avec la même méthode, sur le même matériau d'essai, dans un même laboratoire et par un même opérateur utilisant le même appareillage dans un court intervalle de temps, ne dépassera pas la limite de répétabilité indiquée (en g/100 g) dans le [Tableau 1](#) dans plus de 5 % des cas pour le type de sirop concerné.