
**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 14378:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d65a4f0d-6e85-4e0c-83c9-8eb7ea5c9a10/iso-14378-2009>



Numéros de référence
ISO 14378:2009(F)
FIL 167:2009(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 14378:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d65a4f0d-6e85-4e0c-83c9-8eb7ea5c9a10/iso-14378-2009)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d65a4f0d-6e85-4e0c-83c9-8eb7ea5c9a10/iso-14378-2009>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO et FIL 2009

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

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 14378|FIL 167 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.

[ISO 14378:2009](https://standards.iso.org/standards/catalogue/list/d65e4f0d16e8514e0783188ab7ea5c9a10/iso-14378-2009)

Cette deuxième édition de l'ISO 14378|FIL 167 annule et remplace la première édition (ISO 14378:2000), dont elle constitue une révision mineure.

Avant-propos

La **FIL (Fédération Internationale de Laiterie)** est une organisation sans but lucratif représentant le secteur laitier mondial. Les membres de la FIL se composent des Comités Nationaux dans chaque pays membre et des associations laitières régionales avec lesquelles la FIL a signé des accords de coopération. Tout membre de la FIL 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.

La tâche principale des Comités permanents est d'élaborer les Normes internationales. 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 14378|FIL 167 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'ancien Groupe d'Experts mixte ISO-FIL (E15 — *Métaux lourds et autres éléments*) qui fait maintenant partie de l'Équipe d'Action mixte ISO-FIL, *Composants mineurs*, du Comité permanent chargé des *Composants mineurs du lait et de la caractérisation des propriétés physiques*.

Cette édition de l'ISO 14378|FIL 167 annule et remplace la FIL 167:1994, dont elle constitue une révision mineure.

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'utilisation de produits et la mise en œuvre de modes opératoires et d'appareillages à caractère dangereux. Il convient que l'utilisateur de la présente Norme internationale connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. 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 déterminer l'applicabilité des restrictions réglementaires avant de l'utiliser.

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 s'applique pas au lait écrémé ou partiellement écrémé ainsi qu'au lait entier en poudre.

NOTE 2 Cette méthode mesure l'iode libre (ionique). Toutefois, la teneur totale en 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 est observée.

2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour 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, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*

3 Termes et définitions

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

3.1

teneur en iode du lait entier pasteurisé

teneur en iode du lait écrémé en poudre

fraction massique de substances déterminée par le mode opératoire spécifié 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 des ions iodure par CLHP de paires d'ions en phase inverse avec un détecteur électrochimique muni d'une électrode en argent fonctionnant de 0 mV à 50 mV. La teneur en iodure est calculée au moyen d'une courbe d'étalonnage.

5 Réactifs

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue ou, si nécessaire, de qualité spéciale pour CLHP.

5.1 Eau, conforme à la qualité 2 de l'ISO 3696.

5.2 Solutions étalons d'iodure.

AVERTISSEMENT — Protéger les solutions aqueuses d'iodure de la lumière car celles-ci sont instables lorsqu'elles sont exposées aux fréquences visibles.

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

Dans une fiole jaugée de 1 000 ml (6.2), dissoudre 130,8 mg d'iodure 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 étalons de travail d'iodure, correspondant à 20 µg, 50 µg, 150 µg et 250 µg d'iodure 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'iodure (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 (CH₃CN), de qualité CLHP.

5.4 Chlorure d'hexadécyltriméthylammonium [CH₃(CH₂)₁₅N(CH₃)₃Cl], 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 d'acétonitrile et d'eau (68 + 32 en volume), pH = 6,8.

Dans une fiole jaugée de 1 000 ml (6.2), dissoudre 1,42 g d'hydrogénophosphate disodique (Na₂HPO₄) 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 (H₃PO₄) 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'iodure. 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**, permettant de peser 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, ISO 1042^[3], classe A.
- 6.3 Micropipettes**, permettant de délivrer 20 µl, 50 µl, 150 µl et 250 µl respectivement, ISO 8655-2^[6].
- 6.4 Pipette graduée**, de 2 ml de capacité, avec graduations de 0,1 ml, ISO 835^[2], classe A ou classe AS.
- 6.5 Éprouvette graduée**, de 500 ml de capacité, ISO 4788^[4], classe A.
- 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 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 000g.
- 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 à vis.
- 6.10 Supports de membranes coniques**, pour soutenir les membranes coniques (6.11) dans les tubes à centrifuger (6.9) [Amicon CS1A¹⁾ ou équivalent].

6.11 Membranes de filtration coniques, de seuil de coupure de 25 000 D à 30 000 D [Amicon Centreflo CF-25¹⁾ ou équivalent].

Avant utilisation, préparer de nouvelles membranes coniques de la façon suivante. Faire tremper dans un mélange d'éthanol et d'eau (2 + 8 parties 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 900g et 1 000g.

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 parties en volume). Éliminer le solvant avant toute nouvelle utilisation comme décrit ci-dessus pour les cônes neufs.

On peut aussi employer des unités de filtration Millipore Ultrafre-PF¹⁾ (UPF1, seuil de coupure 10 000 D). Ces filtres à usage unique ne nécessitent aucun prétraitement et la filtration peut être réalisée 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) Exemple de matériel approprié disponible 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 approuvent ou recommandent l'emploi exclusif du matériel ainsi désigné. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

6.12.3 Colonne analytique, Partisphere C-18¹⁾, 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-18¹⁾, 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 Physics¹⁾ est 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 | FIL 50^[1].

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

8 Préparation de l'échantillon pour essai

8.1 Généralités

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

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.

9 Mode opératoire

9.1 Prise d'essai

9.1.1 Lait

Peser, à 0,1 g près, 45 g ± 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, $4,2 \text{ g} \pm 0,2 \text{ g}$ 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 900g et 1 000g. 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 6.11, dernier alinéa.

9.3 Détermination par CLHP

9.3.1 Optimisation des conditions de CLHP

Laver une nouvelle colonne CLHP en y pompant un mélange d'acétonitrile (5.3) et d'eau (5.1) (1 + 1 parties en volume), 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 électrochimique (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 µl de la solution étalon de travail d'iodure, ayant une concentration d'iodure de 250 µg/l (5.2.2), jusqu'à ce que le temps de rétention et la hauteur de pic soient constants, c'est-à-dire que la différence absolue entre les résultats de deux injections successives soit inférieure ou égale à 3 %. 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 (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 µg/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 d'acétonitrile (5.3) et d'eau (5.1) (1 + 1 parties en volume) et rééquilibrer avec de l'éluant CLHP (5.5) avant l'utilisation suivante.

9.3.2 Mesurage

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.

Après 6 à 8 injections de solutions d'essai, injecter à nouveau la solution étalon de travail (5.2.2) ayant une concentration d'iodure de 150 µg/l. La hauteur ou l'aire du pic d'iodure obtenue ne doit pas différer de plus de 5 % de la valeur obtenue précédemment.