

Première édition
2012-05-15

Version corrigée
2012-08-01

**Lait et produits laitiers — Présure de
veau et coagulant issu de bovin adulte —
Détermination des teneurs en chymosine
et en pepsine bovine par
chromatographie**

*Milk and milk products — Calf rennet and adult bovine rennet —
Determination by chromatography of chymosin and bovine pepsin
contents*
(standards.iteh.ai)

[ISO 15163:2012](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4a446889-b599-4aa0-9f9e-94bfac53f277/iso-15163-2012)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4a446889-b599-4aa0-9f9e-94bfac53f277/iso-15163-2012>



Numéros de référence
ISO 15163:2012(F)
FIL 110:2012(F)

© ISO et FIL 2012

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 15163:2012

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4a446889-b599-4aa0-9f9e-94bfac53f277/iso-15163-2012>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO et FIL 2012

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 du Lait
Silver Building • Boulevard Auguste Reyers 70/B • 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
Avant-propos	v
Introduction.....	vi
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Principe	1
4 Réactifs.....	2
5 Appareillage	3
6 Échantillonnage.....	4
7 Mode opératoire.....	4
7.1 Contrôle.....	4
7.2 Préparation d'une nouvelle colonne de Fractogel.....	4
7.3 Régénération et équilibrage de la résine Fractogel dans la colonne	5
7.4 Stockage de la colonne de Fractogel	5
7.5 Préparation de l'échantillon pour essai.....	5
7.6 Analyse du coagulant d'origine bovine dessalé	6
7.7 Détermination des temps de coagulation.....	8
8 Calcul et expression des résultats.....	9
8.1 Calcul de l'activité de la chymosine et de la pepsine, exprimée en pourcentage	9
8.2 Calcul de la concentration en chymosine active et en pepsine bovine active en milligrammes par litre	9
8.3 Expression des résultats.....	10
9 Fidélité	10
9.1 Essai interlaboratoires.....	10
9.2 Répétabilité	11
9.3 Reproductibilité	11
10 Rapport d'essai.....	11
Annexe A (informative) Dosage qualitatif des enzymes de coagulation du lait dans des coagulants commerciaux par immunodiffusion double	13
Annexe B (informative) Essai interlaboratoires.....	18
Bibliographie.....	20

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 15163|FIL 110 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*, et la Fédération Internationale du Lait (FIL). Elle est publiée conjointement par l'ISO et la FIL.

<https://standards.itec.org/catalog/standards/sist/4a446880-b599-4aa0-990e-94bfac53f277/iso-15163-2012>

Cette première édition de l'ISO 15163|FIL 110 annule et remplace la FIL 110B:1997, qui a fait l'objet d'une révision technique.

La présente version corrigée de l'ISO 15163|FIL 110:2012 incorpore les corrections suivantes:

- l'expression «coagulant issu de bovin adulte» a été remplacée par «coagulant d'origine bovine», dans la dernière phrase de l'Article 1;
- le terme «présure» a été remplacé par «coagulant d'origine bovine» en 4.11, 7.5.3, 7.6 et A.1.

Avant-propos

La **FIL (Fédération Internationale du Lait)** 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 Comités permanents sont soumis aux Comités Nationaux pour approbation avant publication en tant que Norme internationale. La publication comme Norme internationale 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 15163|FIL 110 a été élaborée par la Fédération Internationale du Lait (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 effectué par une équipe de projet ISO-FIL sur la *Détermination des teneurs en chymosine et en pepsine bovine*, du comité permanent sur les *Méthodes d'analyse pour les adjuvants et indicateurs de traitement*, sous la direction de son chef de projet, le professeur A. Andrén (SE).

Cette première édition de l'ISO 15163|FIL 110 annule et remplace la FIL 110B:1997, qui a fait l'objet d'une révision technique.

La présente version corrigée de l'ISO 15163|FIL 110:2012 incorpore les corrections suivantes:

- l'expression «coagulant issu de bovin adulte» a été remplacée par «coagulant d'origine bovine», dans la dernière phrase de l'Article 1;
- le terme «présure» a été remplacé par «coagulant d'origine bovine» en 4.11, 7.5.3, 7.6 et A.1.

Introduction

Les préparations à base de présure de veau et de coagulant issu de bovin adulte contiennent toutes deux comme enzymes coagulantes de la chymosine et de la pepsine bovine en quantités variables. La proportion de chymosine diminue par rapport à la pepsine dans la caillette (quatrième compartiment de l'estomac) en fonction de l'âge du veau et au moment de son sevrage.

Pour la production de coagulants d'origine bovine, le rapport des volumes de la caillette d'un bovin jeune et d'un bovin âgé influence ainsi considérablement la composition de la chymosine et de la pepsine du coagulant final. Plus le volume de la caillette des jeunes veaux nourris au lait est important, plus la proportion de chymosine est élevée, et inversement^{[5][6]}.

La chymosine et la pepsine présentent toutes deux des caractéristiques spéciales aussi bien en ce qui concerne l'activité de coagulation du lait que l'utilisation en fromagerie. Par exemple, l'activité de coagulation du lait de la pepsine dépend plus du pH que celle de la chymosine. Par ailleurs, la pepsine présente également une activité protéolytique plus générale que celle de la chymosine.

Par conséquent, il est très important d'analyser la teneur en chymosine et en pepsine en plus de la force (activité totale de coagulation du lait) du coagulant d'origine bovine^{[6][7]}.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 15163:2012

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4a446889-b599-4aa0-9f9e-94bfac53f277/iso-15163-2012>

Lait et produits laitiers — Présure de veau et coagulant issu de bovin adulte — Détermination des teneurs en chymosine et en pepsine bovine par chromatographie

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode de référence pour la détermination des quantités de chymosine et de pepsine bovines présentes dans un échantillon pour essai de présure de veau et de coagulant issu de bovin adulte. De plus, elle peut être utilisée pour des mélanges de présure de veau/coagulant d'origine bovine contenant de la chymosine bovine produite par fermentation (FPC).

2 Références normatives

Le document de référence suivant est indispensable 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 11815|FIL 157:2007, *Lait — Détermination de l'activité totale de coagulation du lait dans la présure de bovins*

[ISO 15163:2012](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4a446889-b599-4aa0-9f9e-94bfac53f277/iso-15163-2012)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4a446889-b599-4aa0-9f9e-94bfac53f277/iso-15163-2012>

3 Principe

Dans un premier temps, l'échantillon de coagulant d'origine bovine est dessalé puis les enzymes chymosine et pepsine bovine sont séparées sur une colonne échangeuse d'anions^{[8][9]}. Dans un deuxième temps, l'activité de coagulation du lait de chacune des deux enzymes séparées est déterminée selon l'ISO 11815|FIL 157 (lait reconstitué à pH 6,5). La composition enzymatique de l'échantillon de coagulant d'origine bovine est exprimée soit en pourcentage d'activité de la chymosine et en pourcentage d'activité de la pepsine de la somme des activités en unités internationales de coagulation du lait (IMCU) des deux composants, soit en milligrammes par litre de chymosine active et en milligrammes par litre de pepsine active.

L'activité totale coagulante du lait du premier lot de poudre étalon de référence de présure de veau et du premier lot de poudre étalon de référence de coagulant issu de bovin adulte a été établie une fois pour toutes à 1 000 IMCU/g. Les préparations ultérieures d'étalons de référence doivent être effectuées d'après les étalons de référence précédents (voir l'ISO 11815|FIL 157).

La présente Norme internationale spécifie une méthode manuelle de chromatographie d'échange d'anions et une autre méthode automatique.

Il s'agit d'une méthode de référence. Par conséquent, des modifications peuvent être apportées uniquement s'il a été confirmé qu'elles donnent le même résultat et une répétabilité et une reproductibilité au moins aussi élevées que celles obtenues avec la méthode normalisée originale. Toute modification apportée à la méthode décrite dans la présente Norme internationale doit également être mentionnée dans le rapport d'essai (voir Article 10).

4 Réactifs

Sauf spécification contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue ainsi que de l'eau distillée ou déminéralisée ou de l'eau de pureté équivalente.

4.1 Résine, Fractogel[®] EMD DEAE (M) (cat. Merck n° 1.16883)¹⁾ ou colonne pré-remplie de 1 ml Mono Q[®] (HR 5/5 ou 5/50 GL de GE Healthcare)²⁾ ou résine équivalente.

NOTE 1 Fractogel[®] EMD DEAE (M) est une résine adaptée à la chromatographie manuelle et Mono Q[®] convient à la chromatographie automatique.

NOTE 2 Si les résines Fractogel[®] ou Mono Q[®] sont remplacées par une autre résine, il peut s'avérer nécessaire de changer les tampons en 4.12 et en conséquence de réévaluer la méthode.

4.2 Pipérazine hexahydratée (C₄H₁₀N₂, 6H₂O).

4.3 Chlorure de sodium (NaCl).

4.4 Thymol, conservateur facultatif.

4.5 Hydroxyde de sodium (NaOH).

4.6 Solution d'acide chlorhydrique, $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/l}$.

4.7 Éthanol (C₂H₅OH), à au moins 96 % (fraction volumique).

4.8 Éthanol (C₂H₅OH), à environ 20 % (fraction volumique).

Ajouter 105 ml d'éthanol à 96 % (4.7) à 400 ml d'eau et mélanger. Si une filtration stérile est souhaitée, filtrer l'eau avant de la mélanger avec l'éthanol.

4.9 Urée, $c(\text{N}_2\text{H}_4\text{CO}) = 8 \text{ mol/l}$.

Dissoudre 48 g d'urée dans de l'eau et compléter à 100 ml.

4.10 Boudin de dialyse, d'un diamètre d'environ 1 cm (Union Carbide)³⁾ ou équivalent (facultatif).

NOTE La qualité du tube de dialyse n'est pas un paramètre critique.

4.11 Colonnes de dessalement, Bio-Rad – Econopac 10DG (cat. n° 732-2010)⁴⁾ ou équivalent (facultatif).

Utiliser soit le boudin de dialyse (4.10), soit les colonnes de dessalement pour dessaler le coagulant d'origine bovine.

1) Fractogel[®] EMD DEAE (M) est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuvent ou recommandent l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

2) La colonne pré-remplie de 1 ml Mono Q[®] est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuvent ou recommandent l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

3) Exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuvent ou recommandent l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

4) Bio-RAD - Econopac 10DG est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuvent ou recommandent l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

4.12 Solutions tampons

4.12.1 Solution tampon I, pipérazine $[(\text{CH}_2)_4(\text{NH})_2]$, $c[(\text{CH}_2)_4(\text{NH})_2] = 0,025 \text{ mol/l}$.

Peser 4,85 g de pipérazine (4.2) et 42,8 g de solution d'acide chlorhydrique (4.6) dans un bécher et mélanger. Transférer quantitativement le contenu du bécher dans une fiole jaugée de 1 000 ml à un trait (5.5). Compléter à 1 000 ml avec de l'eau et mélanger. Le pH doit être de $5,30 \pm 0,05$. Si ce n'est pas le cas, ajuster avec de la pipérazine ou de l'acide chlorhydrique. Avant toute utilisation, dégazer et conserver la solution tampon comme indiqué en 4.12.5.

4.12.2 Solution tampon II, $c(\text{NaCl}) = 0,25 \text{ mol/l}$.

Peser 14,6 g de NaCl dans une fiole jaugée de 1 000 ml à un trait (5.5). Compléter à 1 000 ml avec la solution tampon I (4.12.1) et mélanger. Ne pas ajuster le pH. Utiliser la solution tampon II uniquement pour la méthode manuelle. Avant toute utilisation, dégazer et conserver la solution tampon comme indiqué en 4.12.5.

4.12.3 Solution tampon III, $c(\text{NaCl}) = 0,50 \text{ mol/l}$

Peser 29,2 g de NaCl dans une fiole jaugée de 1 000 ml à un trait (5.5). Compléter à 1 000 ml avec la solution tampon I (4.12.1) et mélanger. Ne pas ajuster le pH. Utiliser la solution tampon III uniquement pour la méthode manuelle. Avant toute utilisation, dégazer et conserver la solution tampon comme indiqué en 4.12.5.

4.12.4 Solution tampon IV, $c(\text{NaCl}) = 1,0 \text{ mol/l}$

Peser 58,4 g de NaCl dans une fiole jaugée de 1 000 ml à un trait (5.5). Compléter à 1 000 ml avec la solution tampon I (4.12.1) et mélanger. Ne pas ajuster le pH. Avant toute utilisation, dégazer et conserver la solution tampon comme indiqué en 4.12.5.

4.12.5 Dégazage et conservation. [ISO 15163:2012](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4a446889-b599-4aa0-9f9e-)

Avant toute utilisation, dégazer les solutions tampons I à IV (4.12.1 à 4.12.4) sous vide ou en utilisant un bain à ultrasons. Conserver les solutions tampons I à IV en vue de les utiliser dans le cadre de la méthode manuelle en ajoutant quelques cristaux de thymol. En ce qui concerne la conservation relative à la méthode automatique, elle s'effectue par filtration stérile à l'aide d'un filtre de $0,2 \mu\text{m}$.

Les solutions tampons I à IV peuvent être conservées pendant au moins 5 jours à température ambiante ou 2 mois au réfrigérateur.

5 Appareillage

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

5.1 Pompe péristaltique multicanaux ou toute autre pompe appropriée (pour la méthode manuelle uniquement).

5.2 pH-mètre, d'une sensibilité de $\pm 0,01$ unité pH.

5.3 Colonne de chromatographie, d'environ 1,0 cm de diamètre et 10 cm de long, avec régulateur de débit ou colonne équivalente adaptée à une hauteur de gel d'environ 5 cm (pour la méthode manuelle uniquement).

5.4 Agitateur magnétique.

5.5 Fioles jaugées à un trait, de capacités requises, ISO 1042^[2].

5.6 Appareil FPLC^{®5)} ÄKTA^{®6)} ou CLHP, adapté à l'objectif, utilisé uniquement pour la méthode automatique.

5.7 Matériel de laboratoire, pour la détermination du temps de coagulation (voir l'ISO 11815|FIL 157).

6 Échantillonnage

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale. Une méthode d'échantillonnage recommandée est indiquée dans l'ISO 707|FIL 50^[1].

NOTE 1 L'échantillonnage du coagulant d'origine bovine liquide est décrit dans l'ISO 707|FIL 50:2008, Article 9 et celui du coagulant d'origine bovine en poudre dans l'ISO 707|FIL 50:2008, Article 13.

Il convient d'envoyer un échantillon représentatif au laboratoire. Il est recommandé qu'il n'ait pas été endommagé ou modifié pendant le transport ou le stockage.

NOTE 2 Les produits en poudre peuvent se séparer rapidement.

Conserver les échantillons à l'abri de la lumière, à une température comprise entre 0 °C et 5 °C.

7 Mode opératoire

7.1 Contrôle

Avant la détermination, vérifier que le coagulant d'origine bovine ne contient pas d'enzymes coagulantes d'origine non bovine en utilisant une méthode appropriée (voir l'Annexe A). Toutefois, ce contrôle peut être omis si le coagulant d'origine bovine est connu pour contenir uniquement de la chymosine et de la pepsine d'origine bovine.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

7.2 Préparation d'une nouvelle colonne de Fractogel

Après dégazage sous vide, verser une suspension de la résine Fractogel (4.1) prête à l'emploi, directement depuis le flacon du fabricant, ou en utilisant un bain à ultrasons, dans la colonne (5.3), en position verticale et orifice ouvert, jusqu'à ce que la couche de résine Fractogel déposée atteigne une hauteur de 4,5 cm à 5,5 cm. La couche de gel ne doit pas sécher pendant toute la durée de l'opération.

Fermer le tube de sortie. Immerger l'extrémité du tube d'entrée de la pompe péristaltique dans un bécher contenant la solution tampon I (4.12.1). Raccorder le tube de l'adaptateur au tube de sortie de la pompe. Ajuster le débit à $(1,3 \pm 0,1)$ ml/min. Remplir le tube de l'adaptateur avec la solution tampon I (4.12.1) sans dépasser le volume interne total du tube de 1,5 ml.

Fermer la colonne avec l'adaptateur, conformément aux instructions du fabricant de la colonne. À l'aide de l'adaptateur, comprimer la couche de gel de quelques millimètres pour éviter la formation d'espaces libres au-dessus de la couche de gel. Éviter l'entrée de bulles d'air dans la colonne. Rincer la colonne avec la solution tampon I (4.12.1) pendant 5 min à un débit de 1,3 ml/min.

5) FPLC[®] est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuvent ou recommandent l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

6) ÄKTA[®] est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuvent ou recommandent l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

7.3 Régénération et équilibrage de la résine Fractogel dans la colonne

Après préparation d'une nouvelle colonne et après chaque passage, régénérer et équilibrer la résine Fractogel (4.1) présente dans la colonne en procédant comme suit.

Régénérer la résine Fractogel présente dans la colonne à un débit de 1,3 ml/min en utilisant au moins 15 ml de solution tampon IV (4.12.4) (environ 11,5 min). Équilibrer la colonne avec au moins 40 ml de solution tampon I (4.12.1) (environ 30 min). La colonne est désormais prête à accueillir l'échantillon pour essai.

La même colonne peut être utilisée plus de 20 fois. En cas d'utilisations fréquentes, régénérer la colonne de façon plus poussée en la rinçant avec du NaOH à 0,1 mol/l pendant 10 min puis avec de l'eau pendant 10 min. Ensuite, suivre le mode opératoire normal de régénération et d'équilibrage décrit précédemment.

7.4 Stockage de la colonne de Fractogel

Si la colonne doit être stockée pendant plus d'une semaine, la rincer avec au moins 15 ml d'éthanol à 20 % (4.8) à l'aide de la pompe péristaltique (5.1). Stocker la colonne en veillant à ce que les tubes d'entrée et de sortie soient hermétiquement fermés.

La colonne peut être stockée pendant plusieurs mois à température ambiante et à l'abri de la lumière directe du soleil.

7.5 Préparation de l'échantillon pour essai

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

7.5.1 Généralités

Les échantillons liquides peuvent être utilisés tels quels; il suffit de procéder à 7.5.2.

Un échantillon de coagulant d'origine bovine en poudre est préparé de la façon suivante. Avant d'effectuer le dessalement, dissoudre un échantillon de coagulant d'origine bovine en poudre de façon à obtenir, par exemple, 200 IMCU/ml, dans une quantité appropriée de solution tampon I (4.12.1) ou en utilisant une solution tampon à pH 5,5 (voir l'ISO 11815|FIL 157).

Avant d'effectuer le dessalement, déterminer le temps de coagulation de l'échantillon de coagulant d'origine bovine reconstitué conformément à l'ISO 11815|FIL 157. Faire une estimation approximative de la force de l'échantillon, en IMCU/ml, en le mesurant par rapport à l'étalon de référence de présure de veau, cela afin de déterminer la quantité d'échantillon à appliquer sur la colonne (7.6.1 ou 7.6.2).

Si les résultats sont exprimés en milligrammes par litre, déterminer au moins deux fois le temps de coagulation de l'échantillon de coagulant d'origine bovine, conformément à l'ISO 11815|FIL 157. Dans ce cas, mesurer les temps de coagulation simultanément ou dans une succession rapide, «avant» et «après» le dessalement.

Avant d'appliquer l'échantillon pour essai sur la colonne, le dessaler par dialyse (7.5.2) ou par filtration sur gel (7.5.3).

7.5.2 Dessalement par dialyse

Immerger le boudin de dialyse (4.10) dans de l'eau bouillante pendant environ 5 min et rincer l'intérieur et l'extérieur du boudin avec de l'eau.

Dialyser 5 ml de l'échantillon pour essai préparé (7.5) (environ 900 IMCU) avec 500 ml de solution tampon I (4.12.1) à 4 °C pendant au moins 5 h, mais pas au-delà de 20 h. Comprimer fermement le boudin de dialyse à la main pour le fermer, afin de réduire la dilution qui se produit au cours de la dialyse. Pendant la dialyse, agiter le tampon avec un agitateur magnétique (5.4).