

---

---

**Formules infantiles et produits  
nutritionnels pour adultes —  
Détermination de la teneur en myo-  
inositol par chromatographie liquide  
et ampérométrie pulsée**

*Infant formula and adult nutritionals — Determination of myo-  
inositol by liquid chromatography and pulsed amperometry*

Sample Document

get full document from [standards.iteh.ai](https://standards.iteh.ai)



# Sample Document

get full document from [standards.iteh.ai](https://standards.iteh.ai)



## DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2015, Publié en Suisse

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  
Ch. de Blandonnet 8 • CP 401  
CH-1214 Vernier, Geneva, Switzerland  
Tel. +41 22 749 01 11  
Fax +41 22 749 09 47  
[copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
[www.iso.org](http://www.iso.org)

## Sommaire

Page

<b>Avant-propos</b> .....	<b>iv</b>
<b>1</b> <b>Domaine d'application</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b> <b>Termes et définitions</b> .....	<b>1</b>
<b>3</b> <b>Principe</b> .....	<b>1</b>
<b>4</b> <b>Réactifs et matériaux</b> .....	<b>1</b>
<b>5</b> <b>Appareillage</b> .....	<b>3</b>
<b>6</b> <b>Mode opératoire</b> .....	<b>4</b>
6.1 <b>Myo-inositol libre</b> .....	4
6.1.1    Préparation de l'échantillon.....	4
6.1.2    Extraction.....	5
6.2 <b>Myo-inositol lié sous forme de phosphatidylinositol</b> .....	5
6.2.1    Préparation de l'échantillon.....	5
6.2.2    Extraction.....	6
6.2.3    Purification.....	6
6.2.4    Hydrolyse.....	6
6.3 <b>Analyse par CLHP</b> .....	6
6.3.1    Conditions de fonctionnement de l'instrument.....	6
6.3.2    Réglages du détecteur d'ampérométrie pulsée avec électrode en or.....	8
6.3.3    Démarrage de l'instrument.....	8
6.3.4    Analyse de l'étalon et de l'échantillon.....	9
6.3.5    Arrêt du système.....	9
<b>7</b> <b>Calculs</b> .....	<b>9</b>
7.1    Généralités.....	9
7.2    Concentration des étalons.....	9
7.3    Préparation de la courbe d'étalonnage.....	10
7.4    Calcul du myo-inositol libre ou libre plus lié dans les échantillons.....	10
7.4.1    Calcul du myo-inositol libre.....	10
7.4.2    Calcul du myo-inositol lié.....	10
7.4.3    Calcul du myo-inositol libre plus lié.....	10
<b>Annexe A (informative) Exemples de chromatogrammes</b> .....	<b>11</b>
<b>Annexe B (informative) Données de fidélité</b> .....	<b>12</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>15</b>

## 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](http://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](http://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](#).

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est l'ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, en collaboration avec l'AOAC INTERNATIONAL. Le document est publié par l'ISO et séparément par l'AOAC INTERNATIONAL. La méthode décrite dans la présente Norme internationale est équivalente à la Méthode officielle de l'AOAC 2011.18: *Myo-inositol (libre et lié sous forme de phosphatidylinositol) dans les formules infantiles et pédiatriques et les produits nutritionnels pour adultes*.

# Formules infantiles et produits nutritionnels pour adultes — Détermination de la teneur en myo-inositol par chromatographie liquide et ampérométrie pulsée

**AVERTISSEMENT** — L'utilisation de la présente Norme internationale peut impliquer des matériaux, des opérations et des équipements dangereux. La présente Norme internationale n'a pas pour but d'aborder tous les problèmes de sécurité liés à son utilisation. Avant d'utiliser la présente Norme internationale, il incombe à l'utilisateur d'établir des pratiques appropriées de sécurité et de protection de la santé et de déterminer l'applicabilité des restrictions réglementaires.

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode de détermination de la teneur en myo-inositol (libre ou libre plus lié sous forme de phosphatidylinositol) dans les formules infantiles et les produits nutritionnels pour adultes par chromatographie liquide et ampérométrie pulsée avec commutation de colonne.

## 2 Termes et définitions

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

### 2.1

#### **produit nutritionnel pour adultes**

aliment complet sur le plan nutritionnel, spécialement formulé, consommé sous forme liquide, pouvant constituer la seule source d'alimentation, constitué de n'importe quelle combinaison de lait, soja, riz, lactosérum, protéine hydrolysée, amidon et acides aminés, avec et sans protéine intacte

### 2.2

#### **formule infantile**

substitut du lait maternel spécialement fabriqué pour satisfaire, par lui-même, les besoins nutritionnels des nourrissons pendant les premiers mois de la vie jusqu'à l'introduction d'une alimentation complémentaire appropriée

[SOURCE: Norme Codex 72-1981]

## 3 Principe

Le myo-inositol libre et le myo-inositol lié sous forme de phosphatidylinositol sont extraits au moyen de deux modes opératoires de préparation d'échantillon différents. Le myo-inositol libre est extrait des échantillons avec de l'acide chlorhydrique dilué et de l'eau. Le phosphatidylinositol est extrait des échantillons avec du chloroforme et séparé des autres matières grasses sur cartouches d'extraction en phase solide en silice. Le myo-inositol est alors libéré de la chaîne glycérol avec de l'acide acétique et de l'acide chlorhydrique concentrés à 120 °C. La méthode de chromatographie ionique utilise une combinaison de deux colonnes d'échange d'ions différentes avec commutation de colonne et détection par ampérométrie pulsée (PAD). La concentration du myo-inositol est calculée par comparaison avec des étalons de concentration connue.

## 4 Réactifs et matériaux

Au cours de l'analyse, sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déminéralisée ou de l'eau de pureté équivalente.

#### 4.1 Produits chimiques et solvants

4.1.1 **Acide acétique**, glacial, ACS.

4.1.2 **Chloroforme**, haute pureté, qualité CLHP.

4.1.3 **Éther diéthylique**, anhydre, qualité CLHP.

4.1.4 **Driérite** (dessiccatif), sulfate de calcium anhydre, 8 mesh.

4.1.5 **Hélium**, qualité zéro ou l'équivalent.

4.1.6 **Hexane**, qualité CLHP.

4.1.7 **Acide chlorhydrique**, concentré (36 % à 38 %), ACS.

4.1.8 **Acide métaphosphorique**, ACS.

4.1.9 **Méthanol**, qualité CLHP.

4.1.10 **Myo-inositol**, étalon de référence primaire, lot officiel, conserver avec un dessiccatif. Consulter l'étiquette de l'étalon pour connaître la pureté.

4.1.11 **Chlorure de sodium**, ACS.

4.1.12 **Hydroxyde de sodium**, 50 % (m/m), forme à faible teneur en carbonates.

#### 4.2 Préparation des réactifs et des solutions étalons

4.2.1 **Généralités.** Le volume de toutes les solutions peut être augmenté ou diminué selon les besoins, à condition de respecter les bonnes pratiques de laboratoire. Les solutions peuvent être conservées au réfrigérateur ou à température ambiante dans des récipients inertes étanches, sauf indication contraire.

4.2.2 **Solution étalon mère de myo-inositol** (environ 2 000 mg/l). Peser avec précision environ 0,100 g de myo-inositol et transférer quantitativement dans une fiole jaugée de 50 ml. Compléter au volume avec de l'eau. Bien mélanger. Conserver au réfrigérateur. Délai d'expiration: 3 mois.

4.2.3 **Solution étalon intermédiaire de myo-inositol** (environ 200 mg/l). Diluer 10,0 ml de solution étalon mère (4.2.2) à 100 ml avec de l'eau et bien mélanger. Jeter après usage.

#### 4.2.4 Préparation des solutions d'étalonnage

4.2.4.1 **Solutions étalons de myo-inositol limite haute** (environ 4 mg/l, 2 mg/l, 1 mg/l, 0,5 mg/l)

Dans des fioles jaugées séparées, diluer 2,0 ml, 1,0 ml et 0,5 ml d'étalon intermédiaire de myo-inositol (4.2.3) à 100 ml avec de l'eau. Diluer 0,5 ml d'étalon intermédiaire de myo-inositol (4.2.3) à 200 ml avec de l'eau. Délai d'expiration: 2 semaines.

4.2.4.2 **Solutions étalons de myo-inositol limite basse** (environ 0,2 mg/l et 0,05 mg/l)

Dans des fioles jaugées séparées, diluer 4 ml et 1 ml de l'étalon de myo-inositol à 0,5 mg/l avec 10 ml d'eau. Délai d'expiration: 2 semaines.

**4.2.5 Acide chlorhydrique, 0,5 %.** Ajouter 1,25 ml d'acide chlorhydrique concentré à environ 200 ml d'eau dans une fiole jaugée de 250 ml. Compléter au volume avec de l'eau et bien mélanger. Délai d'expiration: 6 mois.

**4.2.6 Chlorure de sodium, 1 mol/l.** Dissoudre 5,8 g de chlorure de sodium et diluer à 100 ml avec de l'eau. Délai d'expiration: 1 mois.

**4.2.7 Hydroxyde de sodium, 0,12 % ou 30 mmol (Pompe 1).** Peser rapidement ( $4,8 \pm 0,1$ ) g d'hydroxyde de sodium à 50 % dans une fiole jaugée de 2 000 ml contenant environ 1 900 ml d'eau. Il est important que l'hydroxyde de sodium n'absorbe pas le dioxyde de carbone de l'air. Bien mélanger d'un mouvement rotatif. Compléter au volume avec de l'eau et bien mélanger. Délai d'expiration: 1 mois.

**4.2.8 Hydroxyde de sodium, 4,0 % ou 1 mol/l (Pompe 2).** Peser rapidement ( $160 \pm 3$ ) g d'hydroxyde de sodium à 50 % dans une fiole jaugée de 2 000 ml contenant environ 1 900 ml d'eau. Il est important que l'hydroxyde de sodium n'absorbe pas le dioxyde de carbone de l'air. Bien mélanger d'un mouvement rotatif. Compléter au volume avec de l'eau et bien mélanger. Délai d'expiration: 1 mois.

**4.2.9 Acide métaphosphorique, 6 %.** Peser 6,0 g d'acide métaphosphorique dans une fiole jaugée de 100 ml. Dissoudre et diluer au volume avec de l'eau. Bien mélanger. Conserver au réfrigérateur. Délai d'expiration: 1 semaine.

**4.2.10 Solutions d'extraction du phosphatidylinositol.** Préparer une solution fraîche le jour de l'utilisation.

**4.2.10.1 Chloroforme:méthanol (2:1).** Mélanger 60 ml de chloroforme et 30 ml de méthanol.

**4.2.10.2 Hexane:éther diéthylique (80:20).** Mélanger 80 ml d'hexane et 20 ml d'éther diéthylique.

**4.2.10.3 Hexane:éther diéthylique (50:50).** Mélanger 50 ml d'hexane et 50 ml d'éther diéthylique.

**4.2.10.4 Méthanol:chloroforme:eau (75:15:10).** Mélanger 75 ml de méthanol, 15 ml de chloroforme et 10 ml d'eau.

## 5 Appareillage

Verrerie et équipement de laboratoire habituels et, en particulier, les éléments suivants.

**5.1 Balance analytique,** capacité de pesée minimum d'au moins 0,000 1 g.

**5.2 Centrifugeuse.**

**5.3 Dessiccateur.**

**5.4 Évaporateur sous flux d'azote,** avec bain-marie ou l'équivalent.

**5.5 Four,** capable de maintenir 120 °C.

**5.6 pH-mètre,** avec tampons à pH 4 et 7.

**5.7 Agitateur magnétique,** multiposition avec barreaux aimantés.

**5.8 Extracteur sous vide.**