

---

# Norme internationale



# 5558

---

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION • МЕЖДУНАРОДНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ • ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION

---

## Corps gras d'origines animale et végétale — Recherche et identification des antioxygènes — Méthode par chromatographie en couche mince

*Animal and vegetable fats and oils — Detection and identification of antioxidants — Thin-layer chromatographic method*

Première édition — 1982-10-01

**ITeH STANDARD PREVIEW**  
(standards.iteh.ai)

[ISO 5558:1982](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/13e68ccc-6cd3-4933-a9f5-b4ded54db1dc/iso-5558-1982)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/13e68ccc-6cd3-4933-a9f5-b4ded54db1dc/iso-5558-1982>

---

CDU 664.3 : 543.544 : 547.53

Réf. n° : ISO 5558-1982 (F)

Descripteurs : produit agricole, corps gras animal, corps gras végétal, détection, antioxygène, méthode chromatographique.

## 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 confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique correspondant. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO, participent également aux travaux.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour approbation, avant leur acceptation comme Normes internationales par le Conseil de l'ISO.

La Norme internationale ISO 5558 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, et a été soumise aux comités membres en mars 1981.

Les comités membres des pays suivants l'ont approuvée : [ISO 5558:1982](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/13e68ccc-6cd3-4933-a9f5-b4de544d4c/iso-5558-1982)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/13e68ccc-6cd3-4933-a9f5-b4de544d4c/iso-5558-1982>

Afrique du Sud, Rép. d'	France	Portugal
Allemagne, R.F.	Hongrie	République dominicaine
Australie	Inde	Roumanie
Autriche	Iraq	Royaume-Uni
Brésil	Israël	Sri Lanka
Canada	Italie	Tchécoslovaquie
Corée, Rép. de	Mexique	Tanzanie
Égypte, Rép. arabe d'	Nouvelle-Zélande	Thaïlande
Espagne	Pays-Bas	URSS
Éthiopie	Philippines	Yougoslavie

Aucun comité membre ne l'a désapprouvée.

Cette Norme internationale a également été approuvée par l'Union internationale de chimie pure et appliquée (UICPA).

# Corps gras d'origines animale et végétale — Recherche et identification des antioxygènes — Méthode par chromatographie en couche mince

## 1 Objet et domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode de recherche et d'identification, par chromatographie en couche mince, des antioxygènes suivants dans les corps gras d'origines animale et végétale :

- acide nordihydroguairétique (NDGA)
- gallate de propyle (GP)
- gallate d'octyle (GO)
- gallate de dodécyle (GD)
- tertibutylhydroquinone (TBHQ)
- butylhydroxyanisole (*tert*-butyl-méthoxy-4-phénol) (BHA)
- $\alpha$ -tocophérol
- butylhydroxytoluène (di-*tert*-butyl-2,6 méthyl-4-phénol) (BHT)

Ces antioxygènes sont cités dans l'ordre de leur valeur  $R_f$ .

La recherche de l' $\alpha$ -tocophérol est parfois difficile, cet antioxygène donnant une tache d'aspect généralement diffus.

La limite de détection de la méthode se situe vers 20 mg/kg (ppm) pour le BHT et 10 mg/kg (ppm) pour les autres antioxygènes. Il est à noter que le BHT n'est pas complètement isolé par cette méthode.

## 2 Principe

Mise en solution d'une prise d'essai dans le *n*-hexane et extraction des antioxygènes par l'acétonitrile.

Identification de ces antioxygènes par chromatographie en couche mince.

## 3 Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique reconnue. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau de pureté au moins équivalente.

**3.1 Silice en poudre avec liant**, de qualité pour chromatographie en couche mince, de dimension de particules inférieure à 30  $\mu\text{m}$ .

**3.2 Méthanol**, ne contenant pas plus de 0,5 % (*m/m*) d'eau.

**3.3 Éthanol**, à 96 % (*V/V*).

**3.4 *n*-hexane**, ou, à défaut, **éther de pétrole**, ayant un intervalle de distillation de 30 à 60 °C.

**3.5 Acétonitrile saturé de *n*-hexane.**

Verser 900 ml d'acétonitrile dans une fiole de 1 000 ml, ajouter 100 ml de *n*-hexane (3.4) et un peu de sulfate de sodium anhydre ou de chlorure de calcium anhydre. Agiter, fermer le flacon avec le bouchon et laisser reposer une nuit.

**3.6 *n*-hexane saturé d'acétonitrile.**

Verser 900 ml de *n*-hexane (3.4) dans une fiole de 1 000 ml, ajouter 100 ml d'acétonitrile et un peu de sulfate de sodium anhydre ou de chlorure de calcium anhydre. Agiter, fermer le flacon avec le bouchon et laisser reposer une nuit.

**3.7 Révélateur**, solution à 10 g/l de dichloro-2,6 *p*-benzoquinone-4 chloroimide dans l'éthanol à 96 % (*V/V*).

Préparer cette solution, juste avant l'emploi, en dissolvant 500 mg de dichloro-2,6 *p*-benzoquinone-4 chloroimide dans 50 ml d'éthanol (3.3).

**3.8 Mélange de solvants de développement.**

Préparer juste avant l'emploi, un mélange de deux volumes de *n*-hexane (3.4), deux volumes de benzène et un volume d'acide acétique cristallisable.

**AVERTISSEMENT : Le benzène est toxique et inflammable et des précautions doivent être prises lors de son utilisation.**

**3.9 Solutions étalons d'antioxygènes**, contenant 1 g d'antioxygène par litre de méthanol.

Dans une série de huit béchers, dissoudre respectivement 100 mg de chaque antioxygène (voir chapitre 1) dans le méthanol (3.2), transvaser dans une série de huit fioles jaugées de 100 ml, ajuster au trait repère avec du méthanol et agiter.

## 4 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et notamment :

**4.1 Cuve de développement pour chromatographie en couche mince**, en verre, avec couvercle en verre rodé, susceptible de contenir des plaques en verre de dimensions 200 mm × 200 mm.

**4.2 Étaleur et socle**, pour la préparation des plaques.

**4.3 Plaques en verre**, 200 mm × 200 mm, revêtues d'une couche de gel de silice de 0,40 mm d'épaisseur.

Utiliser les plaques toutes préparées, disponibles dans le commerce, ou les préparer comme suit.

Nettoyer soigneusement les plaques à l'éthanol, au *n*-hexane et à l'acétone jusqu'à élimination totale des graisses.

Peser 30 g de gel de silice (3.1) dans une fiole conique de 250 ml (4.8) et ajouter 60 ml d'eau. Boucher et homogénéiser le contenu en agitant énergiquement pendant 1 min.

Appliquer immédiatement une couche de 0,4 mm de la pâte de gel de silice sur la surface des plaques à l'aide de l'étaleur (4.2).

Sécher les plaques à la température ambiante pendant 15 min, les porter dans l'étuve (4.6) réglée à 103 ± 2 °C, pendant 1 h. Laisser refroidir dans le dessiccateur (4.13) et conserver les plaques dans le dessiccateur jusqu'à emploi.

**4.4 Évaporateur rotatif.**

**4.5 Ampoules à décanter**, de capacité 250 ml.

**4.6 Étuve électrique**, de préférence bien ventilée, réglable à 103 ± 2 °C.

**4.7 Étuve électrique**, de préférence bien ventilée, réglable à 60 ± 2 °C.

**4.8 Fiole conique**, de capacité 250 ml, à bouchon en verre rodé.

**4.9 Fioles jaugées**, à col rodé, de capacité 100 ml, et munies de bouchons en verre rodé.

**4.10 Bécher**, forme haute, de capacité 150 ml.

**4.11 Ballon**, fond rond, de capacité 250 ml, adaptable à l'évaporateur rotatif (4.4).

**4.12 Seringue**, de capacité 20 µl, graduée en microlitres.

**4.13 Dessiccateur.**

**4.14 Appareil pour pulvériser le révélateur sur les plaques.**

## 5 Mode opératoire

### 5.1 Prise d'essai

Effectuer une prise d'essai de 7,5 à 10 g à partir de l'échantillon pour essai.

### 5.2 Extraction des antioxygènes

Dissoudre la prise d'essai dans un bécher de 150 ml (4.10), avec 100 ml de *n*-hexane (3.4) en chauffant légèrement, si nécessaire, et transvaser cette solution dans une ampoule à décanter de 250 ml (4.5), en faisant attention qu'aucune particule insoluble ne passe dans l'ampoule à décanter.

Rincer le bécher avec 25 ml de *n*-hexane (3.4) et transvaser le liquide de rinçage dans l'ampoule à décanter, en faisant attention qu'aucune particule insoluble ne passe dans l'ampoule à décanter.

Ajouter 25 ml d'acétonitrile saturé de *n*-hexane (3.5) et agiter pendant 1 min. Recueillir la phase d'acétonitrile (phase inférieure) dans une seconde ampoule à décanter de 250 ml (4.5).

NOTE — Si une émulsion s'est formée, faire tourner soigneusement l'ampoule à décanter sous un courant d'eau à 50 °C environ jusqu'à obtention de phases limpides.

Effectuer trois nouvelles extractions de la phase *n*-hexane à l'aide de 25 ml d'acétonitrile saturé de *n*-hexane (3.5) à chaque fois.

Réunir les extraits d'acétonitrile et laver deux fois avec, chaque fois, 25 ml de *n*-hexane saturé d'acétonitrile (3.6).

Transvaser la phase d'acétonitrile dans un ballon de 250 ml à fond rond (4.11) et évaporer le solvant sous vide dans l'évaporateur rotatif (4.4), à une température aussi basse que possible. Il est essentiel que la température du bain d'eau ne dépasse pas 40 °C.

Dissoudre le résidu dans 2 ml de méthanol (3.2) et verser la solution dans un petit flacon. Si le résidu n'est pas complètement dissous, filtrer la solution.

NOTE — Si l'on prévoit une teneur en antioxygènes inférieure à 100 mg/kg (ppm), il est recommandé de ne dissoudre le résidu que dans 1 ml de méthanol.

### 5.3 Chromatographie et recherche

Enrober les parois de la cuve de développement (4.1) avec du papier filtre.

Verser le mélange de solvants de développement (3.8) dans la cuve de développement à une profondeur de 1 cm environ et poser le couvercle. Laisser reposer à l'obscurité 1 à 2 h afin de saturer l'atmosphère à l'intérieur de la cuve avec les vapeurs des solvants.

À l'aide de la seringue (4.12), déposer des portions à 10 µl et 20 µl de la solution méthanolique des antioxygènes extraits préparée comme décrite en 5.2 en deux points distincts distants de 20 mm et à 20 mm du bord de la plaque (4.3), préalablement

activée pendant 1 h à une température de 60 °C dans l'étuve (4.7). Déposer 4 µl de chacune des solutions étalons d'antioxygènes (3.9) en des points distincts distants de 20 mm et à 20 mm du même bord de la plaque.

Repérer une ligne parallèle au bord de la plaque et à 150 mm des points d'application. Introduire la plaque dans la cuve de développement. Laisser à l'obscurité jusqu'à ce que le front du solvant atteigne la ligne repérée.

Sortir la plaque de la cuve et la laisser sécher sous hotte ventilée.

Pulvériser, à l'aide de l'appareil (4.14), le révélateur (3.7) sur la plaque et placer celle-ci dans l'étuve (4.6) réglée à  $103 \pm 2$  °C, pendant 10 à 15 min.

Sortir la plaque de l'étuve et comparer les valeurs des  $R_f$  des taches obtenues provenant des solutions étalons avec celles des antioxygènes extraits.

Des informations complémentaires relatives à l'identification des antioxygènes peuvent être obtenues en introduisant la plaque, ramenée à la température du laboratoire, dans une cuve de développement saturée de vapeur d'ammoniac pendant environ 30 s et en comparant les couleurs obtenues pour les divers antioxygènes.

## 6 Procès-verbal d'essai

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et les résultats obtenus. Il doit, en outre, mentionner tous les détails opératoires non prévus dans la présente Norme internationale, ou facultatifs, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur les résultats.

Le procès-verbal d'essai doit donner tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

# iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 5558:1982](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/13e68ccc-6cd3-4933-a9f5-b4ded54db1dc/iso-5558-1982)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/13e68ccc-6cd3-4933-a9f5-b4ded54db1dc/iso-5558-1982>

Page blanche

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 5558:1982

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/13e68ccc-6cd3-4933-a9f5-b4ded54db1dc/iso-5558-1982>

Page blanche

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 5558:1982

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/13e68ccc-6cd3-4933-a9f5-b4ded54db1dc/iso-5558-1982>

Page blanche

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 5558:1982

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/13e68ccc-6cd3-4933-a9f5-b4ded54db1dc/iso-5558-1982>