
**Corps gras d'origines animale et
végétale — Détermination de la
composition des acides gras en position 2
dans les triglycérides**

*Animal and vegetable fats and oils — Determination of the composition of
fatty acids in the 2-position of the triglyceride molecules*

(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

[ISO 6800:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/8af4355f-ea0f-49d7-aa38-bf290cfcef0e/iso-6800-1997)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/8af4355f-ea0f-49d7-aa38-bf290cfcef0e/iso-6800-1997>



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 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.

La Norme internationale ISO 6800 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 11, *Corps gras d'origines animale et végétale*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 6800:1985), dont elle constitue une révision technique.

Les annexes A à C de la présente Norme internationale sont données uniquement à titre d'information.

© ISO 1997

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 de l'éditeur.

Organisation internationale de normalisation
Case postale 56 • CH-1211 Genève 20 • Suisse
Internet central@iso.ch
X.400 c=ch; a=400net; p=iso; o=isocs; s=central

Imprimé en Suisse

Corps gras d'origines animale et végétale — Détermination de la composition des acides gras en position 2 dans les triglycérides

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode de détermination dans les corps gras d'origines animale et végétale de la composition de la fraction des acides gras estérifiés en position 2 (position β ou position interne) dans les triglycérides.

En raison des particularités d'action de la lipase pancréatique, la méthode s'applique seulement aux corps gras ayant un point de fusion inférieur à 45 °C.

Elle n'est pas applicable sans restrictions à tous les corps gras, en particulier à ceux renfermant des quantités importantes

- soit d'acides gras ayant 12 atomes de carbone ou moins (par exemple huiles de coprah et de palmiste, matières grasses butyriques du beurre);
- soit d'acides gras ayant 20 atomes de carbone et plus et d'insaturation élevée (plus de quatre doubles liaisons) (par exemple huiles de poissons et d'animaux marins);
- soit d'acides gras possédant des fonctions oxygénées secondaires.

NOTE — Les acides gras avec doubles liens en position ($n-16$) à ($n-11$) (par exemple acide pétrosélinique) ne sont convertis que très lentement par lipase pancréatique, ce qui pourrait donner des résultats erronés.

2 Références normatives

Les normes suivantes contiennent des dispositions qui, par suite de la référence qui en est faite, constituent des dispositions valables pour la présente Norme internationale. Au moment de la publication, les éditions indiquées étaient en vigueur. Toute norme est sujette à révision et les parties prenantes des accords fondés sur la présente Norme internationale sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer les éditions les plus récentes des normes indiquées ci-après. Les membres de la CEI et de l'ISO possèdent le registre des Normes internationales en vigueur à un moment donné.

ISO 660:1996, *Corps gras d'origines animale et végétale — Détermination de l'indice d'acide et de l'acidité.*

ISO 661:1989, *Corps gras d'origines animale et végétale — Préparation de l'échantillon pour essai.*

ISO 3696:1987, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai.*

ISO 5508:1990, *Corps gras d'origine animale et végétale — Analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras.*

ISO 5509:—¹⁾, *Corps gras d'origines animale et végétale — Préparation des esters méthyliques d'acides gras.*

1) À publier. (Révision de l'ISO 5509:1978)

3 Principe

Après neutralisation éventuelle des acides gras libres, purification de la prise d'essai par chromatographie sur colonne. Hydrolyse enzymatique partielle des glycérides pour obtenir les mono-2 glycérides. Séparation des monoglycérides par chromatographie sur couche mince et détermination de leur composition en acides gras par chromatographie en phase gazeuse.

4 Réactifs

Tous les réactifs utilisés doivent être de qualité analytique et l'eau utilisée doit être de qualité 2, conformément à l'ISO 3696.

4.1 Réactifs pour la purification de la prise d'essai

- 4.1.1 **Propanol-2** ou **éthanol**, à 95 % (V/V).
- 4.1.2 **Hexane** ou, à défaut, **éther de pétrole** (intervalle de distillation 30 °C à 60 °C).
- 4.1.3 **Propanol-2**, à 50 % (V/V) ou **éthanol**, à 50 % (V/V).
- 4.1.4 **Hydroxyde de sodium**, solution à 0,5 mol/l.
- 4.1.5 **Phénolphtaléine**, solution à 1 g pour 100 ml dans l'éthanol à 95 % (V/V).
- 4.1.6 **Alumine activée neutre**, pour chromatographie, de degré d'activité Brockmann I, récemment activée pendant 2 h à 260 °C et conservée dans un dessiccateur.
- 4.1.7 **Azote**.

4.2 Réactifs pour l'hydrolyse des triglycérides

- 4.2.1 **Oxyde diéthylique**, exempt de peroxydes.
- 4.2.2 **Acide chlorhydrique**, solution à 6 mol/l.
- 4.2.3 **Cholate de sodium**, solution à 1 g/l, de qualité enzymatique.
- 4.2.4 **Chlorure de calcium**, solution à 220 g/l de CaCl₂.
- 4.2.5 **Solution tampon**, d'amino-2 hydroxyméthyl-2 propane diol-1,3²⁾, à 1 mol/l, amenée à pH 8 par de l'acide chlorhydrique (4.2.2) en utilisant un pH-mètre.

Conserver cette solution entre 0 °C et 4 °C et l'utiliser dans les 14 d après préparation.

- 4.2.6 **Lipase pancréatique**, ayant une activité comprise entre 8 et 20 unités par milligramme.

Elle doit être conservée déshydratée au réfrigérateur. Avant utilisation pour l'analyse, porter une partie de la poudre à la température ambiante.

NOTE — Il existe dans le commerce des lipases ayant une activité lipasique satisfaisante. Si l'on préfère, la lipase peut être préparée et contrôlée selon la technique décrite en annexe A.

2) Autres désignations: tris-(hydroxyméthyl) méthylamine; tris-(hydroxyméthyl) aminométhane.

4.3 Réactifs pour l'isolement des mono-2 glycérides

4.3.1 **Éthanol**, à 95 % (V/V).

4.3.2 **Hexane** ou, à défaut, **éther de pétrole** (intervalle de distillation 30 °C à 60 °C).

4.3.3 **Acétone**.

4.3.4 **Silice en poudre**, avec liant, pour chromatographie en couche mince.

4.3.5 **Solvant de développement**, préparé comme suit:

hexane ou, à défaut, éther de pétrole:	70 ml
oxyde diéthylique:	30 ml
acide formique à 98 % (V/V) min.:	1 ml

4.3.6 **Révéléateur**: solution méthanolique à 2 g/l de dichloro-2', 7' fluorescéine, légèrement alcalinisée par addition d'une goutte d'hydroxyde de sodium à 1 mol/l pour 100 ml de solution.

4.4 Réactifs pour l'analyse des mono-2 glycérides par chromatographie en phase gazeuse

Voir ISO 5508 et ISO 5509.

5 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et notamment:

5.1 Appareillage pour la purification de la prise d'essai

5.1.1 **Bain d'eau thermostatique**, réglable à une température comprise entre 30 °C et 40 °C.

5.1.2 **Colonne en verre**, pour chromatographie, de 13 mm de diamètre intérieur et 400 mm de longueur, équipée d'une plaque en verre fritté et d'un robinet.

5.1.3 **Évaporateur rotatif**, avec ballon de 250 ml.

5.1.4 **Tubulure**, pour barbotage d'azote.

5.1.5 **Ampoule à décanter**, de 500 ml de capacité.

5.1.6 **Ballon**, de 100 ml de capacité.

5.2 Appareillage pour l'hydrolyse des triglycérides

5.2.1 **Centrifugeuse**.

5.2.2 **Tube de centrifugeuse**, en verre, de 10 ml de capacité, avec bouchon rodé.

5.2.3 **Agitateur électrique vibrant**, permettant une agitation énergique du tube de centrifugeuse.

5.2.4 **Bain d'eau thermostatique**, réglable à une température de 40 °C ± 0,5 °C.

5.2.5 **Seringue hypodermique**, de 1 ml de capacité, munie d'une aiguille mince.

5.2.6 **Chronomètre**.

5.3 Appareillage pour l'isolement des mono-2 glycérides

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

5.3.2 Étaleur et socle, pour la préparation des plaques.

5.3.3 Plaques en verre, de 200 mm × 200 mm.

5.3.4 Microseringue, permettant de délivrer des gouttelettes de 3 µl à 4 µl.

5.3.5 Appareil pour pulvériser le révélateur sur les plaques.

5.3.6 Microspatule.

5.3.7 Étuve, réglable à 130 °C ± 2 °C.

5.3.8 Lampe U.V., pour l'examen des plaques chromatographiques, de longueur d'onde 254 nm par exemple.

5.3.9 Ballon, de 25 ml de capacité, avec **réfrigérant à air**, d'environ 1 m de longueur, avec raccord rodé.

5.3.10 Fiole conique, de 250 ml de capacité, à bouchon rodé.

5.3.11 Fiole conique, de 50 ml de capacité (éventuellement).

5.3.12 Filtre, en verre fritté, de porosité P 40 (16 µm à 40 µm) (éventuellement).

5.3.13 Dessiccateur, contenant un agent desséchant efficace.

5.4 Appareillage pour l'analyse des mono-2 glycérides par chromatographie en phase gazeuse

Voir ISO 5508 et ISO 5509.

6 Échantillonnage

Il est essentiel que l'échantillon envoyé au laboratoire soit vraiment représentatif et qu'il ne soit ni endommagé ni modifié par le transport et le stockage.

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale. Il est recommandé de se référer à la méthode donnée dans l'ISO 5555^[1].

7 Préparation de l'échantillon

Préparer l'échantillon pour essai à partir de l'échantillon pour laboratoire conformément à l'ISO 661.

8 Mode opératoire

NOTE — Dans le cas où il est demandé de vérifier le respect de la prescription de répétabilité (voir 10.2), effectuer deux déterminations séparées conformément à 8.1 à 8.6.

8.1 Détermination de l'acidité de l'échantillon pour essai

Déterminer l'acidité de l'échantillon pour essai selon l'ISO 660.

Si l'acidité est inférieure à 3 % (*m/m*), procéder à une purification de l'échantillon par passage sur alumine selon 8.3.