
**Corps gras d'origines animale et
végétale — Détermination de la teneur en
triglycérides polymérisés par
chromatographie liquide d'exclusion à
haute performance (CLHP d'exclusion)**

iTeh STANDARD PREVIEW
*Animal and vegetable fats and oils — Determination of polymerized
triglycerides content by high-performance size-exclusion chromatography
(HPSEC)*
(standards.iteh.ai)

ISO 16931:2001

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1f65b817-dbed-4937-afc5-d31512fbeca/iso-16931-2001>



Numéro de référence
ISO 16931:2001(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 décline 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. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16931:2001

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1f65b817-dbed-4937-afc5-d31512fbecaf/iso-16931-2001>

© ISO 2001

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'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

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.ch
Web www.iso.ch

Imprimé 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 3.

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 de la présente Norme internationale 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.

La Norme internationale ISO 16931 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 11, *Corps gras d'origines animale et végétale*.

L'annexe A de la présente Norme internationale est donnée uniquement à titre d'information.

ISO 16931:2001

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1f65b817-dbed-4937-afc5-d31512fbecaf/iso-16931-2001>

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

ISO 16931:2001

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1f65b817-dbed-4937-afc5-d31512fbecaf/iso-16931-2001>

Corps gras d'origines animale et végétale — Détermination de la teneur en triglycérides polymérisés par chromatographie liquide d'exclusion à haute performance (CLHP d'exclusion)

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode utilisant la CLHP d'exclusion pour la détermination de la teneur en triglycérides polymérisés dans les corps gras contenant au moins 3 % (à partir des aires de pics) de ces polymères.

Cette méthode est applicable aux corps gras ayant été soumis à la friture. Elle peut également être appliquée à la détermination des polymères dans les graisses contenues dans les aliments pour animaux.

NOTE 1 Les triglycérides polymérisés (à proprement parler les triglycérides dimériques et oligomériques) se forment pendant le chauffage des corps gras; par conséquent, cette méthode sert à évaluer la détérioration thermique des corps gras à frire durant leur utilisation.

NOTE 2 Dans le cas d'une analyse de corps gras provenant d'aliments des animaux, la méthode d'extraction utilisée peut avoir une influence sur le résultat (voir l'ISO 6492).

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

2 Référence normative

ISO 16931:2001

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1f65b817-dbed-4937-afc5-d31512fbecaf/iso-16931-2001>

Le document normatif suivant contient des dispositions qui, par suite de la référence qui y est faite, constituent des dispositions valables pour la présente Norme internationale. Pour les références datées, les amendements ultérieurs ou les révisions de ces publications ne s'appliquent pas. Toutefois, les parties prenantes aux accords fondés sur la présente Norme internationale sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer l'édition la plus récente du document normatif indiqué ci-après. Pour les références non datées, la dernière édition du document normatif en référence s'applique. Les membres de l'ISO et de la CEI possèdent le registre des Normes internationales en vigueur.

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

3 Terme et définition

Pour les besoins de la présente Norme internationale, le terme et la définition suivants s'appliquent.

3.1

triglycérides polymérisés

constituants des corps gras chauffés qui sont déterminés par CLHP d'exclusion selon les conditions spécifiées dans la présente Norme internationale

NOTE La teneur est exprimée en pourcentage de tous les pics d'acylglycérides (TAG, PTAG, DAG et MAG) élués.

4 Principe

Dissolution de l'échantillon dans le tétrahydrofurane et séparation des triglycérides polymérisés par chromatographie de perméation de gel en fonction de la taille des molécules. La détection des composés est réalisée à l'aide d'un détecteur d'indice de réfraction.

5 Réactifs

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

5.1 Tétrahydrofurane, éventuellement stabilisé avec du BHT (0,1 %), dégazé.

Il est important que le THF utilisé pour dissoudre l'échantillon ait la même teneur en eau que l'éluant, sinon des pics négatifs peuvent apparaître.

5.2 Toluène.

5.3 Sulfate de sodium anhydre.

6 Appareillage

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

6.1 Réservoir de solvant, d'environ 250 ml de capacité, doté d'un filtre plongeur dans une phase mobile (taille des pores de 1 µm), en polytétrafluoroéthylène.

6.2 Pompe CLHP, sans pulsation, ayant un débit compris entre 0,5 ml/min et 1,5 ml/min.

6.3 Vanne d'injection, avec une boucle de 10 µl et une seringue appropriée d'un volume compris entre 50 µl à 100 µl ou injecteur automatique avec une boucle de 10 µl.

6.4 Colonne en acier inoxydable, de 300 mm de longueur, de 7,5 mm à 7,8 mm de diamètre interne, garnie de microparticules sphériques de gel de copolymère de divinylbenzène-styrène; diamètre des particules: 5 µm; ouverture des pores: 10 nm ou l'équivalent en termes de pouvoir d'exclusion et de résolution (voir 10.1).

Un appareillage de contrôle de la température est recommandé pour maintenir la colonne à une température comprise entre 30 °C à 35 °C.

Si nécessaire, entreposer la colonne dans du toluène (5.2).

6.5 Détecteur d'indice de réfraction, à température stabilisée et ayant une sensibilité pleine échelle d'au moins 1×10^{-4} de l'indice de réfraction.

La température idéale pour le détecteur se situe juste au-dessus de la température ambiante (30 °C à 35 °C).

6.6 Enregistreur et/ou intégrateur, ou système informatisé d'acquisition et de traitement de données pour chromatographie, permettant d'afficher et de quantifier avec exactitude l'aire des pics.

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 5555.

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif, n'ayant pas été endommagé ou modifié pendant le transport ou l'entreposage.

8 Préparation de l'échantillon pour essai

Préparer l'échantillon pour essai conformément à l'ISO 661.

9 Mode opératoire

NOTE S'il est demandé de vérifier que l'on satisfait aux exigences données en ce qui concerne la limite de répétabilité (11.2), effectuer deux déterminations séparées conformément à 9.1 et 9.2.

9.1 Mise en service de l'appareillage CLHP

Il est conseillé de suivre scrupuleusement les recommandations du fabricant. Mettre sous tension le système et pomper le tétrahydrofurane à un débit compris entre 0,5 ml/min et 1 ml/min pour purger tout le système jusqu'à la vanne d'injection. Raccorder la colonne à la vanne d'injection et la laver avec environ 30 ml de tétrahydrofurane. Raccorder la colonne à la cellule échantillon du détecteur. Remplir la cellule de référence de tétrahydrofurane. Régler l'écoulement de la phase mobile entre 0,5 ml/min et 1,0 ml/min. Attendre jusqu'à l'obtention d'une stabilisation convenable du système (absence de déviation notable de la ligne de base).

Si la constitution de la colonne est telle qu'indiquée, une stabilisation acceptable du système est normalement obtenue en 15 min environ. Avec d'autres garnissages de colonne, la stabilisation du système peut s'avérer plus difficile. À titre d'exemple, il est conseillé de procéder par étapes au changement de phase mobile, du toluène au tétrahydrofurane, avec différents mélanges, en augmentant à chaque fois la proportion de tétrahydrofurane de 25 %. Une stabilisation acceptable s'obtient normalement au bout de 12 h environ.

9.2 Préparation de la prise d'essai et analyse

Peser environ 50 mg de corps gras et ajouter 1 ml à 3 ml de tétrahydrofurane. Homogénéiser. Ajouter 50 mg de sulfate de sodium anhydre et attendre 2 min à 5 min. Filtrer au moyen d'un filtre ayant une porosité de 1 µm. À l'aide de la seringue, prélever entre 50 µl à 100 µl de cette solution. Remplir la boucle d'injection, injecter et mettre en service l'intégrateur.

Si l'on utilise un injecteur automatique, remplir les tubes, mettre en service l'injecteur automatique, puis l'intégrateur.

Avec un débit de la phase mobile de 1 ml/min, la durée de l'analyse est d'environ 10 min.

Il convient que l'efficacité de la colonne, exprimée en nombre de plateaux théoriques (n) pour les triglycérides monomères, soit d'au moins 6 000.

10 Expression des résultats

10.1 Analyse qualitative

Le tracé chromatographique de la détermination présente un pic principal correspondant aux triglycérides monomères (masse moléculaire d'environ 900), et un ou plusieurs pics de plus petite taille avec un temps de rétention plus court, correspondant aux triglycérides polymérisés (dimères et oligomères supérieurs).

Dans des conditions appropriées, les triglycérides (TAG) et les triglycérides polymérisés (PTAG) peuvent être séparés avec une bonne résolution [voir Figures 1 a) et 1 b)], ceci même en présence de faibles quantités de triglycérides polymérisés.

Cependant, dans certains cas (qui semblent être liés au phénomène complexe de la dégradation), le tracé des pics qui précèdent les pics de triglycérides peut être moins bien résolu avec les difficultés qui s'ensuivent pour les calculs [voir Figure 1 c)].

10.2 Analyse quantitative

Le calcul est réalisé selon la méthode de normalisation interne en prenant pour hypothèse que tous les constituants de l'échantillon sont élués et qu'ils ont le même coefficient de réponse.

La teneur en triglycérides polymérisés est calculée d'après la formule suivante:

$$P_{\text{PTAG}} = \frac{\sum A_{\text{PTAG}}}{\sum A_{\text{tot}}} \times 100 \%$$

où

P_{PTAG} est le pourcentage des triglycérides polymérisés, en terme d'aires de pics;

A_{PTAG} est la somme des aires des pics des triglycérides polymérisés;

A_{tot} est la somme des aires de tous les pics représentatifs des acylglycérides (TAG, PTAG, DAG et MAG).

Pour calculer A_{PTAG} , il existe les deux possibilités suivantes.

- a) La résolution entre les pics est bonne ($R \geq 1$)

Dans ce cas, il est possible d'utiliser les méthodes générales d'intégration (manuelles et électroniques) pour calculer les aires individuelles et l'aire totale.

- b) La résolution entre les pics est mauvaise ($R < 1$)

On suppose que tous les constituants élués avant ($d_r \leq 0,5 w$) (voir ci-dessous) sont des triglycérides polymérisés.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1f65b817-dbed-4937-afc5-d31512fbeca/iso-16931-2001>

La résolution peut être calculée d'après

$$R = \frac{D}{w}$$

où

D est la distance, en millimètres, entre le pic maximal des pics de triglycérides non polymérisés (TAG) et le pic adjacent des triglycérides polymérisés (PTAG);

w est la largeur, en millimètres, du pic des triglycérides sur la ligne de base, mesurée entre les points d'intersection des tangentes et de la ligne de base;

d_r est la distance de rétention, en millimètres, du début du chromatogramme jusqu'au pic maximal des triglycérides.

Lorsque l'on effectue une intégration électronique, l'intégrateur doit être réglé avec soin (forcer le retour en arrière de la ligne de base à l'horizontale) de manière à intégrer toutes les surfaces incluses entre la courbe et la ligne de base. En cas d'utilisation d'une technique manuelle, il est nécessaire de déterminer l'aire du pic des triglycérides par triangulation.

Exprimer les résultats avec une décimale.

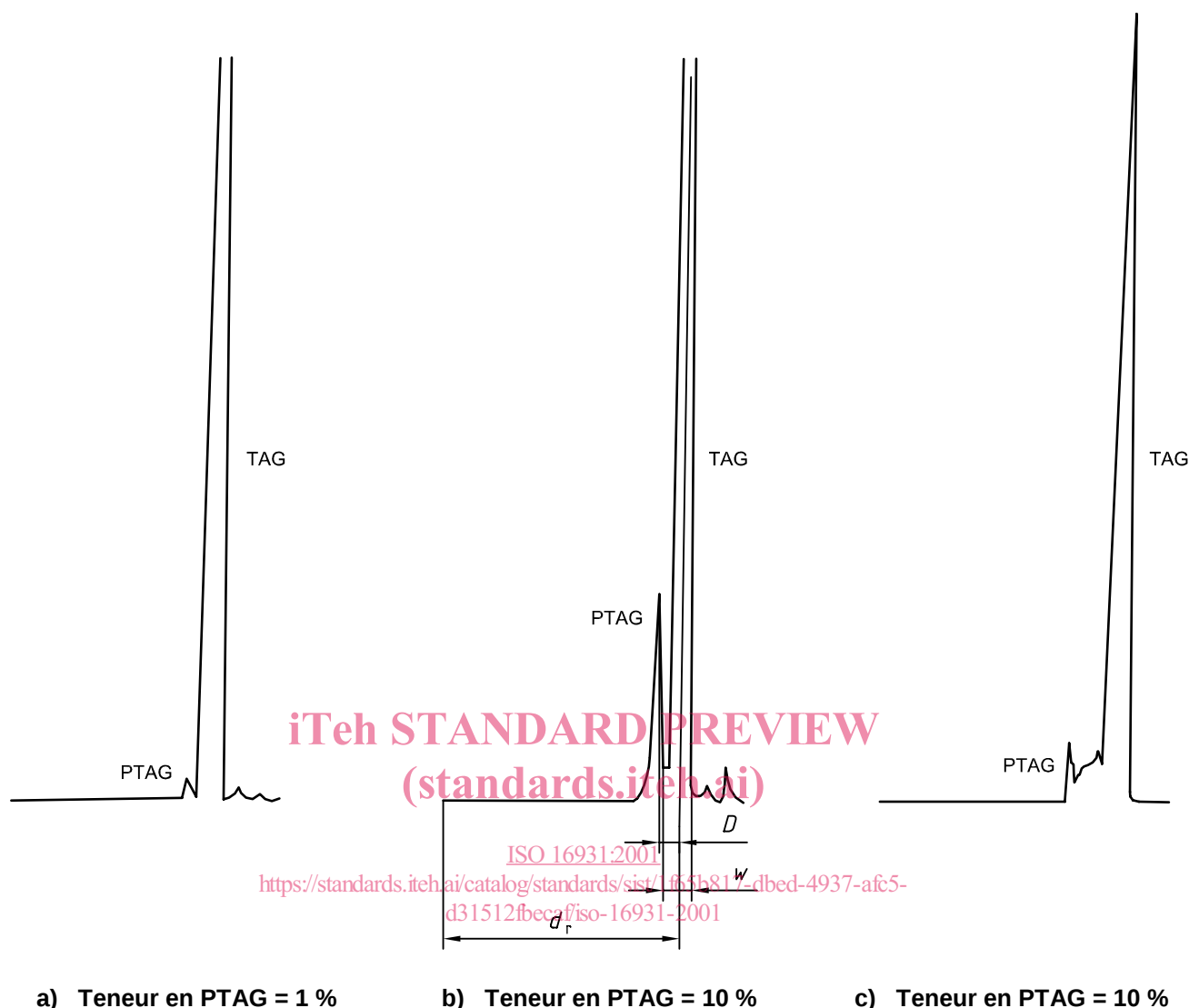


Figure 1 — CLHP d'exclusion des triglycérides (TAG) et des polymères de triglycérides (PTAG)

11 Fidélité

11.1 Essais interlaboratoires

Les détails concernant les essais interlaboratoires relatifs à la fidélité de la méthode sont résumés dans l'annexe A. Les valeurs dérivées de ces essais peuvent ne pas s'appliquer aux plages de concentrations ou matrices autres que celles données.

11.2 Répétabilité

Lorsque les valeurs de deux résultats d'essai individuels indépendants, obtenus à l'aide de la même méthode sur un matériau identique soumis à l'essai dans le même laboratoire par le même opérateur utilisant le même appareillage dans un court intervalle de temps, se situe dans l'étendue des valeurs moyennes indiquées dans le Tableau A.1, la différence absolue entre les deux résultats d'essai n'excédera que dans 5 % des cas au plus la limite de répétabilité (r), déduite par interpolation linéaire des valeurs données dans le Tableau A.1.