

---

---

**Corps gras d'origines animale et  
végétale — Détermination de la teneur en  
matières insaponifiables — Méthode par  
extraction à l'oxyde diéthylique**

*Animal and vegetable fats and oils — Determination of unsaponifiable  
matter — Method using diethyl ether extraction*

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

[ISO 3596:2000](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b2b89277-2cdd-4675-ba3e-2dafad137252/iso-3596-2000)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b2b89277-2cdd-4675-ba3e-2dafad137252/iso-3596-2000>



**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 3596:2000](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b2b89277-2cdd-4675-ba3e-2dafad137252/iso-3596-2000)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b2b89277-2cdd-4675-ba3e-2dafad137252/iso-3596-2000>

© ISO 2000

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](mailto:copyright@iso.ch)  
Web [www.iso.ch](http://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 3596 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 première édition de l'ISO 3596 annule et remplace l'ISO 3596-1:1988 ainsi que son Amendement 1:1997, qui ont été réunis dans un seul document en tant que révision mineure.

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

ISO 3596:2000  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b2b89277-2cdd-4675-ba3e-2dafad137252/iso-3596-2000>

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

ISO 3596:2000

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b2b89277-2cdd-4675-ba3e-2dafad137252/iso-3596-2000>

# Corps gras d'origines animale et végétale — Détermination de la teneur en matières insaponifiables — Méthode par extraction à l'oxyde diéthylique

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode de référence pour la détermination de la teneur en matières insaponifiables des corps gras d'origines animale et végétale, par extraction à l'oxyde diéthylique.

Cette méthode n'est pas applicable aux cires et donne du reste des résultats approximatifs avec certaines matières grasses à teneur élevée en matières insaponifiables, par exemple avec les corps gras provenant d'animaux marins.

Une méthode à l'hexane, donnée dans l'ISO 18609, peut être utilisée lorsque les conditions climatiques ou la réglementation ne permettent pas l'emploi de l'oxyde diéthylique.

## 2 Référence normative

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, *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

#### **matières insaponifiables**

toutes les substances présentes dans le produit qui, après saponification de celui-ci par l'hydroxyde de potassium et extraction par un solvant spécifié, ne sont pas volatiles dans les conditions opératoires spécifiées

## 4 Principe

Saponification du corps gras par traitement à l'ébullition à reflux avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium. Extraction de l'insaponifiable de la solution de savon par l'oxyde diéthylique. Évaporation du solvant et pesée du résidu après séchage.

## 5 Réactifs

Sauf indication différente, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déminéralisée, ou de l'eau de pureté au moins équivalente.

5.1 **Oxyde diéthylique**, récemment distillé, exempt de peroxydes et de résidus.

5.2 **Acétone**.

5.3 **Hydroxyde de potassium**, solution éthanolique,  $c(\text{KOH}) \approx 1 \text{ mol/l}$ .

Dissoudre 60 g d'hydroxyde de potassium dans 50 ml d'eau et diluer à 1 000 ml avec de l'éthanol à 95 % (en volume). La solution doit être incolore ou jaune paille.

5.4 **Hydroxyde de potassium**, solution aqueuse,  $c(\text{KOH}) \approx 0,5 \text{ mol/l}$ .

5.5 **Phénolphaléine**, solution à 10 g/l dans l'éthanol à 95 % (en volume).

## 6 Appareillage

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

6.1 **Ballons**, à fond rond, de 250 ml de capacité, à col rodé.

6.2 **Réfrigérant à reflux**, avec joint rodé adaptable aux ballons (6.1).

6.3 **Ampoules à décanter**, de 500 ml de capacité, avec robinets et bouchons en polytétrafluoréthylène.

6.4 **Bain d'eau bouillante**.

6.5 **Étuve**, réglable à  $103 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ .

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

## 7 Échantillonnage

ISO 3596:2000

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b2b89277-2cdd-4675-ba3e-2c9ad1122280/iso-3596-2000>

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 [1].

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif, non endommagé ou modifié lors du transport et de l'entreposage.

## 8 Préparation de l'échantillon pour essai

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

## 9 Mode opératoire

### 9.1 Prise d'essai

Peser, à 0,01 g près, dans un ballon de 250 ml (6.1) environ 5 g de l'échantillon pour essai (article 8).

### 9.2 Saponification

Ajouter 50 ml de la solution d'hydroxyde de potassium (5.3) et quelques régularisateurs d'ébullition. Adapter le réfrigérant à reflux (6.2) au ballon et chauffer le contenu pendant 1 h à légère ébullition. Arrêter le chauffage. Ajouter 100 ml d'eau par le haut du réfrigérant et agiter en tournant.

Si l'extraction des matières insaponifiables est effectuée en vue de la détermination de la composition des tocophérols, l'addition de pyrogallol est nécessaire. Cette extraction doit alors être effectuée rapidement (soit en 30 min).

### 9.3 Extraction des matières insaponifiables

Après refroidissement, transvaser la solution dans une ampoule à décanter de 500 ml (6.3). Rincer le ballon et les régularisateurs d'ébullition plusieurs fois avec de l'oxyde diéthylique (5.1), en utilisant au total 100 ml d'oxyde diéthylique, et verser les liquides de rinçage dans l'ampoule à décanter. Boucher et agiter énergiquement pendant 1 min, en équilibrant périodiquement la pression par retournement de l'ampoule à décanter et ouverture du robinet.

Laisser reposer jusqu'à séparation complète des deux phases, puis soutirer la phase inférieure le plus complètement possible en la recueillant dans une seconde ampoule à décanter.

S'il se forme une émulsion, la détruire par addition de petites quantités d'éthanol ou de solution concentrée d'hydroxyde de potassium ou de chlorure de sodium.

Procéder à deux nouvelles extractions de la phase savonneuse, en utilisant à chaque fois de la même façon 100 ml d'oxyde diéthylique. Rassembler les trois extraits étherés dans une ampoule à décanter contenant 40 ml d'eau.

### 9.4 Lavage des extraits étherés

Faire tourner doucement l'ampoule à décanter contenant les extraits étherés et les 40 ml d'eau.

**ATTENTION** — À ce stade une agitation violente risque de conduire à des émulsions.

Laisser les couches se séparer complètement et soutirer la couche aqueuse inférieure. Laver la couche étherée deux fois encore avec à chaque fois 40 ml d'eau, en agitant énergiquement à chaque fois et en éliminant la couche aqueuse inférieure après séparation. Soutirer chaque solution de lavage jusqu'à ce qu'il en reste 2 ml, puis faire tourner l'ampoule à décanter autour de son axe. Attendre quelques minutes pour permettre au reste de la phase aqueuse de se rassembler et l'éliminer; fermer le robinet quand la phase étherée atteint l'orifice du robinet.

Laver la solution étherée successivement avec 40 ml de la solution d'hydroxyde de potassium (5.4), 40 ml d'eau, et de nouveau 40 ml de la solution d'hydroxyde de potassium, et encore au moins deux fois avec 40 ml d'eau.

Poursuivre le lavage à l'eau jusqu'à ce que les eaux de lavage ne donnent plus une coloration rose après ajout d'une goutte de solution de phénolphtaléine (5.5).

### 9.5 Évaporation du solvant

Par le haut de l'ampoule à décanter, transvaser quantitativement, en plusieurs fois, la solution étherée dans un ballon de 250 ml (6.1) préalablement séché à 103 °C dans l'étuve (6.5), puis refroidi et taré à 0,1 mg près. Évaporer le solvant sur bain d'eau bouillante (6.4).

Ajouter 5 ml d'acétone (5.2), et évaporer complètement le solvant volatil en s'aidant d'un léger courant d'air, le ballon étant maintenu obliquement tout en le faisant tourner dans le bain d'eau bouillante.

### 9.6 Séchage du résidu et détermination

**9.6.1** Sécher le résidu pendant 15 min à l'étuve (6.5), réglée à 103 °C, en plaçant le ballon en position presque horizontale. Laisser refroidir au dessiccateur et peser à 0,1 mg près.

Sécher à nouveau pendant des périodes de 15 min, jusqu'à ce que la perte de masse entre deux pesées successives soit inférieure à 1,5 mg. Si la masse constante n'est pas obtenue après trois périodes de séchage, il est probable que les matières insaponifiables contiennent des substances étrangères et la détermination doit être répétée.

**NOTE** Un évaporateur rotatif sous pression réduite peut être utilisé, en particulier lorsque les matières insaponifiables doivent être examinées ultérieurement.

**9.6.2** Si l'on estime qu'une correction des acides gras libres est nécessaire, après pesée du résidu, le dissoudre dans 4 ml d'oxyde diéthylique (5.1) et ajouter ensuite 20 ml d'éthanol préalablement neutralisé jusqu'à obtention d'une couleur rose pâle en présence de la solution de phénolphtaléine (5.4) comme indicateur. Titrer avec une solution titrée d'hydroxyde de potassium,  $c(\text{KOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$ , jusqu'à obtention de la même couleur. Calculer la masse des acides gras libres, en acide oléique, et corriger la masse du résidu en conséquence (voir article 10).

### 9.7 Nombre de déterminations

Effectuer deux déterminations sur le même échantillon pour essai.

### 9.8 Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc en suivant le même mode opératoire et en utilisant les mêmes quantités de tous les réactifs, à l'exclusion de la prise d'essai. Si le résidu est supérieur à 1,5 mg, reconsidérer la technique et les réactifs.

## 10 Expression des résultats

La teneur en matières insaponifiables, en pourcentage en masse de l'échantillon, est égale à

$$\frac{100(m_1 - m_2 - m_3)}{m_0} \%$$

où

$m_0$  est la masse, en grammes, de la prise d'essai;

$m_1$  est la masse, en grammes, du résidu; [ISO 3596:2000](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b2b89277-2cdd-4675-ba3e-401022222222)

$m_2$  est la masse, en grammes, du résidu obtenu avec le blanc; <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b2b89277-2cdd-4675-ba3e-401022222222>

$m_3$  est la masse, en grammes, des acides gras libres éventuellement présents (voir 9.6.2) et est égale à  $0,28 Vc$

où

$V$  est le volume, en millilitres, de la solution éthanolique titrée d'hydroxyde de potassium utilisée pour le titrage;

$c$  est la concentration exacte, en moles par litre, de la solution éthanolique titrée d'hydroxyde de potassium.

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations.

## 11 Fidélité

Les détails d'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.

## 12 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit indiquer:

— tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon;

- la méthode d'échantillonnage utilisée, si elle est connue;
- la méthode d'essai utilisée, avec référence à la présente Norme internationale;
- tous les détails opératoires non prévus dans la présente Norme internationale, ou considérés comme facultatifs, ainsi que les détails sur tout incident susceptible d'avoir influé sur le(s) résultat(s) d'essai;
- le(s) résultat(s) d'essai obtenu(s), ou, si la répétabilité a été vérifiée, le résultat final obtenu.

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

[ISO 3596:2000](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b2b89277-2cdd-4675-ba3e-2dafad137252/iso-3596-2000)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b2b89277-2cdd-4675-ba3e-2dafad137252/iso-3596-2000>