

---

---

**Corps gras d'origines animale et  
végétale — Détermination de la teneur  
en phosphore —**

Partie 1:  
**Méthode colorimétrique**

iTeh STANDARD PREVIEW

*Animal and vegetable fats and oils — Determination of phosphorus  
content —*  
(standards.iteh.ai)

*Part 1: Colorimetric method*

ISO 10540-1:2003

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ddd64060-fl15-4027-86cf-734b10ba2066/iso-10540-1-2003>



**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 10540-1:2003](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ddd64060-fl15-4027-86cf-734b10ba2066/iso-10540-1-2003)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ddd64060-fl15-4027-86cf-734b10ba2066/iso-10540-1-2003>

© ISO 2003

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.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié 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 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. 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 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.

L'ISO 10540-1 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 11, *Corps gras d'origines animale et végétale*.

L'ISO 10540 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Corps gras d'origines animale et végétale — Détermination de la teneur en phosphore*:

- *Partie 1: Méthode colorimétrique*
- *Partie 2: Méthode par spectrométrie d'absorption atomique avec four en graphite*
- *Partie 3: Méthode par spectrométrie d'émission optique avec plasma induit par haute fréquence*

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

ISO 10540-1:2003

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ddd64060-f115-4027-86cf-734b10ba2066/iso-10540-1-2003>

# Corps gras d'origines animale et végétale — Détermination de la teneur en phosphore —

## Partie 1: Méthode colorimétrique

### 1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 10540 spécifie une méthode colorimétrique pour la détermination de la teneur en phosphore des corps gras d'origines animale et végétale.

Cette méthode ne convient pas pour la détermination de la teneur en phosphore de la lécithine commerciale, étant donné que celle-ci nécessite une température de calcination de 800 °C.

### 2 Principe

La prise d'essai est brûlée (carbonisée) en présence d'hydroxycarbonate de magnésium, puis réduite en cendres. Les cendres sont dissoutes dans de l'acide chlorhydrique dilué, puis la détermination de la teneur en phosphore s'effectue par colorimétrie selon la méthode au bleu de molybdène.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ddd64060-f115-4027-86cf-734b10ba2066/iso-10540-1-2003>

### 3 Réactifs

Sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

**3.1 Hydroxycarbonate de magnésium**  $[(MgCO_3)_n \cdot Mg(OH)_2] \cdot H_2O$ , ayant une teneur en MgO comprise entre 40 % et 46 % (en masse).

Du carbonate de magnésium hydraté, basique  $[(MgCO_3)_4 \cdot Mg(OH)_2] \cdot 5H_2O$  convient.

**3.2 Acide chlorhydrique**,  $c(HCl) = 2 \text{ mol/l}$ .

**3.3 Solution d'hydroxyde de sodium**,  $c(NaOH) = 5 \text{ mol/l}$ .

**3.4 Solution réductrice.**

Peser 0,500 g de sulfate de *p*-méthylaminophénol  $[(HOC_6H_4NHCH_3)_2 \cdot H_2SO_4]$ , 2,5 g de sulfite de sodium heptahydraté  $(Na_2SO_3 \cdot 7H_2O)$  et 58,5 g de métabisulfite de sodium  $(Na_2S_2O_5)$ .

Transvaser les matériaux pesés dans une fiole jaugée de 1 l, dissoudre dans de l'eau, compléter au repère et homogénéiser. Conserver la solution dans un flacon brun bien fermé.

**3.5 Réactif molybdique.**

Dissoudre 25,0 g de molybdate d'ammonium tétrahydraté  $[(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O]$  dans 250 ml de solution d'acide sulfurique [préparée en diluant 278 ml d'acide sulfurique concentré (18 mol/l) avec de l'eau pour

obtenir 1 l]. Transvaser la solution dans une fiole jaugée de 1 l, compléter au repère avec de l'eau et homogénéiser. Conserver la solution dans un flacon brun.

**AVERTISSEMENT — Il faut prendre des précautions lors de la dilution d'acide sulfurique concentré.**

### 3.6 Solution d'acétate de sodium.

Dissoudre 340 g d'acétate de sodium trihydraté ( $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) dans de l'eau. Transvaser dans une fiole jaugée de 1 l, compléter au repère avec de l'eau et homogénéiser. Conserver la solution dans un flacon brun.

### 3.7 Solution étalon de phosphate pour étalonnage.

#### 3.7.1 Solution mère (teneur en phosphore d'environ 100 µg/ml).

Peser, à 0,1 mg près, environ 440 mg de dihydrogénophosphate de potassium ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ). Le dissoudre dans de l'eau et le transvaser quantitativement dans une fiole jaugée de 1 l. Compléter au repère avec de l'eau et homogénéiser. Calculer la teneur en phosphore de la solution à l'aide de la formule suivante:

$$\rho = \frac{m_s \times M_P}{V \times M_s}$$

où

$\rho$  est la teneur en phosphore de la solution mère, en microgrammes par millilitre;

$m_s$  est la masse du dihydrogénophosphate de potassium, en milligrammes;

$M_P$  est la masse molaire du phosphore, en grammes ( $M_P = 31,03$  g);

$V$  est le volume de la solution mère dans la fiole, en litres ( $V = 1$ );

$M_s$  est la masse molaire du dihydrogénophosphate de potassium, en grammes ( $M_s = 136,09$  g).

#### 3.7.2 Solution étalon 1 de phosphate (teneur en phosphore d'environ 10 µg/ml).

À l'aide d'une pipette, introduire 25 ml de solution mère (3.7.1) dans une fiole jaugée de 250 ml. Compléter au repère avec de l'eau et homogénéiser. Calculer la teneur en phosphore de cette solution à l'aide de la formule suivante:

$$\rho_{s1} = 0,1 \times \rho$$

où

$\rho_{s1}$  est la teneur en phosphore de la solution étalon 1 de phosphate, en microgrammes par millilitre;

$\rho$  est la teneur en phosphore de la solution mère (3.7.1), en microgrammes par millilitre.

#### 3.7.3 Solution étalon 2 de phosphate (teneur en phosphore d'environ 50 µg/ml).

À l'aide d'une pipette, introduire 50 ml de solution mère (3.7.1) dans une fiole jaugée de 100 ml. Compléter au repère avec de l'eau et homogénéiser. Calculer la teneur en phosphore de cette solution à l'aide de la formule suivante:

$$\rho_{s2} = 0,5 \times \rho$$

où

$\rho_{s2}$  est la teneur en phosphore de la solution étalon 2 de phosphate, en microgrammes par millilitre;

$\rho$  est la teneur en phosphore de la solution mère (3.7.1), en microgrammes par millilitre.

## 4 Appareillage

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

**4.1 Tubes à essais**, de 25 ml de capacité, en verre borosilicaté, avec bouchons rodés coniques, gradués de 5 ml en 5 ml ou moins. Il convient de vérifier la reproductibilité de la graduation de 15 ml ainsi que la résistance des repères d'étalonnage au chauffage à 550 °C.

**4.2 Bloc de chauffage ou four à moufle**, contrôlés par thermostat, pour des températures inférieures ou égales à 400 °C.

**4.3 Four de calcination ou four à moufle**, convenant pour des températures inférieures ou égales à 700 °C.

**4.4 Support pour tubes**, résistant aux températures élevées, de préférence en acier résistant à la corrosion, prévu pour le four à moufle. Il convient que le support maintienne les tubes dans le four à un angle tel que leurs sommets ouverts se trouvent à environ 3 cm au-dessus de leurs fonds.

**4.5 Spectrophotomètre**, pouvant effectuer des mesurages à 720 nm, utilisant des cuves de 1 cm et de 4 cm.

**4.6 Cuves du spectrophotomètre**, de trajet optique de 1 cm et de 4 cm, pouvant être utilisées pour des mesurages à 720 nm.

iTeH STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ddd64060-fl15-4027-86cf-734b10ba2066/iso-10540-1-2003>

## 5 Échantillonnage

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

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente partie de l'ISO 10540. Une méthode d'échantillonnage recommandée est donnée dans l'ISO 5555.

Conserver les échantillons dans des récipients en verre ou en téréphtalate de polyéthylène (PET).

## 6 Préparation de l'échantillon pour essai

Si l'échantillon n'est pas totalement liquide à température ambiante, le chauffer à 10 °C au maximum au-dessus de son point de fusion. Si l'échantillon liquide n'est pas limpide, l'homogénéiser soigneusement juste avant de peser les prises d'essai. Il est indispensable que tout résidu susceptible d'être riche en phosphore soit incorporé de façon homogène à l'échantillon.

## 7 Mode opératoire

### 7.1 Détermination du coefficient d'étalonnage

#### 7.1.1 Pour des teneurs en phosphore comprises entre 0 mg/kg et 125 mg/kg (dans l'huile)

Peser 30 mg d'hydroxycarbonate de magnésium (3.1) dans chacun d'une série de sept tubes à essais (4.1). À l'aide d'une microburette ou d'une pipette, ajouter dans les tubes à essais respectivement 0 ml (blanc), 0,25 ml, 0,5 ml, 1,0 ml, 1,5 ml, 2,0 ml et 2,5 ml de solution étalon 1 de phosphate (3.7.2). Ainsi, les tubes à essais contiendront des quantités de phosphore allant de 0 µg à environ 25 µg, équivalant à la teneur en phosphore de 0,2 g d'une huile contenant entre 0 mg/kg et environ 125 mg/kg de phosphore.

NOTE Dans ces conditions, il convient que l'absorbance de la solution étalon de plus forte valeur, contenant 2,5 ml de solution étalon 1 de phosphore, soit de 0,8 environ.

Ajouter 2 ml d'acide chlorhydrique (3.2) dans chaque tube à essais et attendre jusqu'à obtention d'une solution limpide. Ajouter ensuite 0,5 ml de solution d'hydroxyde de sodium (3.3) dans chaque tube et homogénéiser.

À l'aide d'une pipette ou d'une burette, ajouter 5 ml de solution réductrice (3.4) dans chaque tube à essais et homogénéiser.

De même, ajouter 2,5 ml de réactif molybdique (3.5) dans chaque tube à essais et homogénéiser. Boucher les tubes à essais et les laisser reposer 20 min à l'abri de la lumière.

Remplir les tubes à essais au repère de 15 ml avec une solution d'acétate de sodium (3.6) et homogénéiser.

Mesurer l'absorbance des solutions par rapport au blanc, dans une cuve de 4 cm, à 720 nm.

En alternative, mesurer l'absorbance de toutes les solutions par rapport à l'eau, à titre de contrôle de l'essai à blanc, puis corriger tous les mesurages en fonction de la valeur du blanc sauf s'il faut calculer l'équation d'une droite de régression.

Calculer le coefficient d'étalonnage conformément à 7.1.3. En alternative, calculer l'équation de la droite de régression pour l'étalonnage (voir 7.1.3.2).

#### 7.1.2 Pour des teneurs en phosphore comprises entre 125 mg/kg et 500 mg/kg (dans l'huile)

Peser 30 mg d'hydroxycarbonate de magnésium (3.1) dans chacun d'une série de six tubes à essais (4.1). À l'aide d'une microburette ou d'une pipette, ajouter dans les tubes à essais respectivement 0 ml (blanc), 0,5 ml, 0,8 ml, 1,2 ml, 1,6 ml et 2,0 ml de solution étalon 2 de phosphate (3.7.3). Ainsi, les tubes à essais contiendront des quantités de phosphore allant de 25 µg à 100 µg, équivalant à des teneurs en phosphore comprises entre 125 mg/kg et 500 mg/kg environ, dans de l'huile. Il convient que l'absorbance de la solution étalon de plus forte valeur soit de 0,8 environ dans une cuve de 1 cm.

Ajouter 2 ml d'acide chlorhydrique (3.2) dans chaque tube à essais et attendre jusqu'à obtention d'une solution limpide. Ajouter ensuite 0,6 ml de solution d'hydroxyde de sodium (3.3) dans chaque tube à essais et homogénéiser.

À l'aide d'une pipette ou d'une burette, ajouter 5 ml de solution réductrice (3.4) dans chaque tube à essais et homogénéiser.

De même, ajouter 2,5 ml de réactif molybdique (3.5) dans chaque tube à essais et homogénéiser. Boucher les tubes à essais et les laisser reposer 20 min à l'abri de la lumière.

Remplir les tubes à essais au repère de 15 ml avec une solution d'acétate de sodium (3.6) et homogénéiser.

Mesurer l'absorbance des solutions par rapport au blanc, dans une cuve de 1 cm, à 720 nm.

En alternative, mesurer l'absorbance de toutes les solutions par rapport à l'eau, à titre de contrôle de l'essai à blanc, puis corriger tous les mesurages en fonction de la valeur du blanc sauf s'il faut calculer l'équation d'une droite de régression.

Calculer le coefficient d'étalonnage conformément à 7.1.3. En alternative, calculer l'équation de la droite de régression pour l'étalonnage (voir 7.1.3.2).

### 7.1.3 Calcul du coefficient d'étalonnage

**7.1.3.1** Pour chaque solution  $i$  de la série mesurée selon 7.1.1 et 7.1.2, calculer le coefficient d'étalonnage à l'aide de la formule suivante:

$$f_i = \frac{V_i \cdot \rho_S}{A_i}$$

où

$f_i$  est le coefficient d'étalonnage pour la solution  $i$  de la série, en microgrammes;

$V_i$  est le volume de la solution étalon de phosphate dans la solution  $i$ , en millilitres;

$\rho_S$  est la teneur en phosphore de la solution de phosphate utilisée, en microgrammes par millilitre;

$A_i$  est l'absorbance mesurée pour la solution  $i$ .

Pour le calcul à l'Article 8, prendre la moyenne des facteurs  $f_i$  comme étant le coefficient d'étalonnage  $f$ .

**7.1.3.2** En alternative, calculer l'équation d'une droite de régression à partir de toutes les valeurs de densité optique mesurées par rapport à l'eau, non corrigées de la valeur du blanc. La teneur en phosphore de la solution échantillon peut alors être calculée à partir de cette équation.

## 7.2 Calcination de l'échantillon d'huile

**7.2.1** Peser environ 30 mg d'hydroxycarbonate de magnésium (3.1) et les verser dans un tube à essais (4.1). Peser ensuite, à 0,1 mg près, le tube à essais contenant l'hydroxycarbonate de magnésium.

À l'aide d'une pipette de Pasteur, ajouter environ 0,2 g (10 à 15 gouttes) d'échantillon d'huile (Article 6), en veillant à faire tomber toute la matière de l'échantillon au fond du tube pour se mélanger à l'hydroxycarbonate de magnésium. Il convient de ne laisser aucune goutte tomber sur les parois latérales du tube ou les éclabousser.

Peser de nouveau le tube à essais, à 0,1 mg près.

Préparer un tube pour l'essai à blanc, contenant uniquement de l'hydroxycarbonate de magnésium.

**7.2.2** Placer les tubes à essais dans le bloc de chauffage ou sur le support pour tubes (4.4) dans le four à moufle (4.2) froid. Chauffer les tubes à essais à 350 °C jusqu'à carbonisation de l'échantillon donnant une masse noire sèche (1 h à 2 h).

À l'issue de la carbonisation, porter la température à 550 °C et chauffer l'échantillon à cette température jusqu'à obtention de cendres entièrement blanches (2 h environ).

Retirer les tubes à essais (et le support pour tubes) et laisser les tubes à essais refroidir.