
**Corps gras d'origines animale et
végétale — Détermination des
hydrocarbures aromatiques
polycycliques**

*Animal and vegetable fats and oils — Determination of polycyclic
aromatic hydrocarbons*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 15753:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2a446d71-c393-4df6-910a-65637327e9fe/iso-15753-2006>



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 15753:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2a446d71-c393-4df6-910a-65637327e9fe/iso-15753-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2a446d71-c393-4df6-910a-65637327e9fe/iso-15753-2006>

© ISO 2006

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
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	2
5 Réactifs et matériaux	2
6 Appareillage	3
7 Échantillonnage	5
8 Préparation de l'échantillon	5
9 Mode opératoire pour la détermination des HAP à partir des corps gras: Méthode générale	5
9.1 Remarques préliminaires	5
9.2 Essai à blanc	5
9.3 Détermination des valeurs des taux de récupération (sans matrice)	6
9.4 Extraction (extraction liquide/liquide)	6
9.5 Purification sur des cartouches de phase greffée en C18 (extraction solide/liquide)	6
9.6 Purification sur des cartouches de phase greffée de Florisil (extraction solide/liquide)	7
10 Mode opératoire pour la détermination des HAP à partir des corps gras: Méthode spécifique pour l'huile de coprah	7
10.1 Première extraction (extraction liquide/liquide)	7
10.2 Deuxième extraction (extraction liquide/liquide)	8
10.3 Purification sur des cartouches de phase greffée en C18 (extraction solide/liquide)	8
10.4 Purification sur des cartouches de phase greffée de Florisil (extraction solide/liquide)	9
11 Chromatographie liquide à haute performance (CLHP)	9
11.1 Conditions de fonctionnement	9
11.2 Paramètres de détection	10
11.3 Analyse des échantillons et des étalons	12
11.4 Confirmation de la présence des HAP	13
12 Expression des résultats	13
13 Fidélité	13
13.1 Essai interlaboratoires	13
13.2 Répétabilité	14
13.3 Reproductibilité	14
14 Rapport d'essai	14
Annexe A (informative) Valeurs des taux de récupération, schémas fonctionnels, chromatogrammes et séquences d'injection	15
Annexe B (informative) Résultats de l'essai interlaboratoires	20
Bibliographie	23

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 15753 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 11, *Corps gras d'origines animale et végétale*. (standards.iteh.ai)

ISO 15753:2006
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2a446d71-c393-4df6-910a-65637327e9fe/iso-15753-2006>

Corps gras d'origines animale et végétale — Détermination des hydrocarbures aromatiques polycycliques

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale décrit deux méthodes pour la détermination de 15 hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans les corps gras d'origines animale et végétale:

- une méthode générale, et
- une méthode spécifique pour l'huile de coprah et les huiles végétales avec acides gras à chaînes courtes.

Ces méthodes ne sont pas quantitatives pour les composés très volatils tels que le naphtalène, l'acénaphène et le fluorène. En raison des interférences causées par la matrice elle-même, l'huile de palme et l'huile de grignons d'olive ne peuvent pas être analysées par cette méthode.

La limite de quantification est de 0,2 µg/kg pour la majorité des composés analysés, à l'exception du fluoranthène et du benzo(*g,h,i*)pérylène dont la limite de quantification est de 0,3 µg/kg et de l'indéno(1,2,3-*c,d*)pyrène dont la limite de quantification est de 1 µg/kg.

2 Références normatives

ISO 15753:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2a446d71-c393-4df6-910a-65637327e9fe/iso-15753-2006>

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

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

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

3.1

hydrocarbures aromatiques polycycliques

HAP

composés contenant au moins deux noyaux d'hydrocarbures aromatiques condensés (accolés) et dont la teneur peut être déterminée à l'aide de la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale

NOTE 1 La teneur est indiquée en microgrammes par kilogramme.

NOTE 2 On divise, en général, les HAP en HAP légers, avec deux à quatre noyaux aromatiques, et HAP lourds avec au moins cinq noyaux aromatiques.

EXEMPLE

Les HAP légers incluent: le naphtalène (CAS RN [91-20-3]), l'acénaphène (CAS RN [83-32-9]), l'acénaphthylène (CAS RN [208-96-8]), le fluorène (CAS RN [86-73-7]), l'anthracène (CAS RN [120-12-7]), le phénanthrène (CAS RN [85-01-8]), le fluoranthène (CAS RN [206-44-0]), le chrysène (CAS RN [218-01-9]), le benzo(*a*)anthracène (CAS RN [56-55-3]), le pyrène (CAS RN [129-00-0]).

Les HAP lourds incluent: le benzo(a)pyrène (CAS RN [50-32-8]), le benzo(b)fluoranthène (CAS RN [205-99-2]), le benzo(k)fluoranthène (CAS RN [207-08-9]), le benzo(g,h,i)pérylène (CAS RN [191-24-2]), le dibenzo(a,h)anthracène (CAS RN [53-70-3]), l'indéno(1,2,3-c,d)pyrène (CAS RN [193-39-5]).

4 Principe

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques sont extraits avec un mélange acétonitrile/acétone, puis purifiés sur des cartouches de phase inversée C18 et, ensuite, sur des cartouches de Florisil. La détermination de la teneur en hydrocarbures aromatiques polycycliques individuels après séparation est réalisée par le biais de la chromatographie liquide à haute pression (CLHP) en mesurant la fluorescence à des longueurs d'onde d'excitation et d'émission différentes.

5 Réactifs et matériaux

AVERTISSEMENT — L'attention est appelée sur la réglementation régissant la manipulation de matières dangereuses. Des mesures de sécurité sur le plan technique, organisationnel et personnel doivent être respectées.

Lors de l'analyse, sauf spécification contraire, utiliser exclusivement des réactifs de qualité analytique reconnue.

Vérifier la qualité des solvants avant utilisation en concentrant le solvant environ 1 000 fois par évaporation, puis analyser le concentré par CLHP (300 ml à 300 µl). Le chromatogramme doit être exempt de pics dans la zone d'éluion des HAP.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

- 5.1 Méthanol, qualité «ultra resi-analysed»¹⁾.
- 5.2 Hexane, qualité CLHP¹⁾.
- 5.3 Acétonitrile, qualité CLHP¹⁾.
- 5.4 Acétone, qualité CLHP¹⁾.
- 5.5 Dichlorométhane, qualité CLHP¹⁾.
- 5.6 Toluène, qualité CLHP¹⁾.
- 5.7 Eau, qualité CLHP¹⁾.
- 5.8 Tétrahydrofuranne, qualité CLHP¹⁾.
- 5.9 Mélange de solvants 1: acétonitrile/acétone (fraction volumique 60 % / 40 %).

Quantité utilisée par échantillon: 41 ml pour la méthode générale, 36 ml pour la méthode spécifique pour l'huile de coprah.

- 5.10 Mélange de solvants 2: acétonitrile/acétone (fraction volumique 80 % / 20 %).

Quantité utilisée par échantillon: 2 × 11 ml pour la méthode spécifique pour l'huile de coprah.

1) Ces produits peuvent, par exemple, être obtenus auprès de Baker.

Cette information est donnée par souci de commodité à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ces produits. Il est possible d'utiliser des produits équivalents, à condition qu'il soit établi qu'ils donnent les mêmes résultats.

5.11 Mélange de solvants 3: hexane/dichlorométhane (fraction volumique 75 % / 25 %).

Quantité utilisée par échantillon: 7 ml pour la méthode générale, 2 × 7 ml pour la méthode spécifique pour l'huile de coprah.

5.12 Mélange de tétrahydrofurane (THF)/méthanol (MeOH) (fraction volumique 50 % / 50 %).

5.13 Solution étalon avec 16 HAP certifiés prioritaires par l'EPA (Agence de protection de l'environnement) dans le toluène²⁾ à une concentration de 100 µg/ml (100 mg/l): le naphthalène, l'acénaphthylène, l'acénaphthène, le fluorène, le phénanthrène, l'anthracène, le fluoranthène, le pyrène, le benzo(a)anthracène, le chrysène, le benzo(b)fluoranthène, le benzo(k)fluoranthène, le benzo(a)pyrène, le dibenzo(a,h)anthracène, le benzo(g,h,i)pérylène, l'indéno(1,2,3-c,d)pyrène. À conserver à -20 °C.

Avant emploi, laisser la solution se réchauffer à température ambiante pendant au minimum 1 h.

NOTE L'acénaphthylène n'est pas fluorescent et ne peut donc par être déterminé par ces méthodes.

5.14 Solution mère étalon, à 200 ng/ml (200 µg/l).

Ajouter 100 µl de solution étalon (5.13) avec une seringue de 250 µl (6.11) dans une fiole jaugée de 50 ml (6.20) et diluer au volume avec de l'acétonitrile.

5.15 Solution étalon de travail, à 50 ng/ml (50 µg/l).

Ajouter 250 µl de solution mère étalon (5.14) avec une seringue de 250 µl (6.11) à 750 µl de mélange THF/méthanol (5.12) ou d'acétonitrile (5.3).

5.16 Cartouches de phase greffée en C18³⁾: phase 2 g, capacité de 12 ml.

5.17 Cartouches de phase Florisil³⁾: phase 500 mg, capacité de 3 ml.

5.18 Flux d'azote: pression contrôlée à 34,5 kPa (5 psi, environ 1,5 l/min).

6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et, notamment, les éléments suivants.

L'utilisation de tubes jetables en verre est acceptable. L'utilisation généralisée du verre est nécessaire parce que les plastiques peuvent contenir des HAP.

6.1 Centrifugeuse, tournant au moins à 4 000 min⁻¹, convenant aux tubes de 100 ml et 10 ml.

6.2 Système de CLHP avec élution de gradient binaire, avec réservoir de solvant d'une capacité de 1 l, filtre à membrane pour phase mobile, pompe, passeur d'échantillons, régulation de température de colonne réglée à 25 °C, détecteur fluorimétrique programmable dans le temps pour des longueurs d'onde d'excitation et d'émission différentes et un système d'acquisition et de traitement des données assisté par ordinateur.

6.3 Colonne de phase inversée C18⁴⁾, 250 mm de longueur, 4,6 mm de diamètre intérieur, 5 µm de particules, convenant à l'analyse des HAP.

2) Ce produit peut, par exemple, être obtenu auprès de Promochem.

3) Ce produit peut, par exemple, être obtenu auprès de Varian.

4) Ce produit peut, par exemple, être obtenu auprès de Vydac, réf. 201TP54.

Ces informations sont données par souci de commodité à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne sauraient constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ces produits. Il est possible d'utiliser des produits équivalents, à condition qu'il soit établi qu'ils donnent les mêmes résultats.

6.4 Agitateur vortex.

6.5 Évaporateur automatique⁵⁾, pour un tube de 10 ml (facultatif) ou bain-marie (6.6).

Conditions de fonctionnement recommandées:

- température du bain-marie 35 °C;
- pression d'azote 34,5 kPa.

6.6 Bain-marie, réglé à 35 °C.

6.7 Balance, lisibilité 0,1 mg.

6.8 Tubes à centrifuger, capacité de 100 ml (un par échantillon).

6.9 Tubes à centrifuger coniques, capacité de 11 ml (trois par échantillon) avec capuchons vissés munis de joints en polytétrafluoroéthylène (PTFE) (un par échantillon).

6.10 Éprouvettes graduées.

6.11 Microseringue, de 250 µl.

6.12 Seringue, de 1 000 µl.

6.13 Pipette graduée, de 5 ml.

6.14 Seringue, de 5 ml munie d'un bouchon adaptateur pour les cartouches SPE.

6.15 Flacons pour passeur d'échantillons.

6.16 Microflacons, capacité de 250 µl, adaptées au système CLHP.

6.17 Bain à ultrasons, température de l'eau ne dépassant pas 40 °C.

6.18 Pipettes Pasteur, munies de coton dans la partie supérieure pour éviter toute contamination.

6.19 Appareil disposant d'un support et de pinces⁶⁾ pour maintenir les cartouches SPE ou, si possible, une station de travail SPE automatique.

NOTE Selon la station de traitement d'échantillons SPE utilisée, les méthodes d'extraction proposées peuvent nécessiter de légères adaptations (temps, pression, volumes).

6.20 Fiole jaugée, de capacité 50 ml.

5) Ce produit peut, par exemple, être obtenu auprès de Zymark, turbo-évaporateur Zymark TurboVap LV.

6) Ce produit peut, par exemple, être obtenu auprès de Zymark, Zymark Rapid Trace.

Ces informations sont données par souci de commodité à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne sauraient constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ces produits. Il est possible d'utiliser des produits équivalents, à condition qu'il soit établi qu'ils donnent les mêmes résultats.

7 Échantillonnage

Il convient que le laboratoire reçoive un échantillon représentatif, qui n'a été ni endommagé ni modifié pendant le transport ou le stockage.

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

8 Préparation de l'échantillon

Préparer l'échantillon pour essai conformément à la méthode spécifiée dans l'ISO 661. Avant l'échantillonnage, les échantillons liquides doivent être à température ambiante et être homogénéisés par agitation magnétique.

Échantillonner la matrice solide en fondant la totalité de l'échantillon ou en fondant, puis en homogénéisant plusieurs carottes d'échantillons.

9 Mode opératoire pour la détermination des HAP à partir des corps gras: Méthode générale

9.1 Remarques préliminaires

Pour obtenir des résultats répétables, la température ambiante du laboratoire doit être régulée (≤ 20 °C). Ce paramètre est très important pour l'extraction des HAP à partir de l'huile de coprah (ou des huiles végétales contenant des acides gras à chaînes courtes). L'huile de coprah contient des acides gras à chaînes courtes et longues: si la température ambiante dépasse 20 °C, la solubilité des acides gras à chaîne courte augmente.

Avant emploi, rincer la totalité de la verrerie trois fois avec de l'hexane (5.2).

Chaque séquence d'échantillons doit inclure un essai à blanc (9.2) et une solution étalon extraite dans les mêmes conditions que l'échantillon afin de calculer les taux de récupération de l'extraction (9.3). Les valeurs des taux de récupération doivent être comprises entre 70 % et 110 %. Les valeurs des taux de récupération moyens sont donnés au Tableau A.1.

Pour une analyse quantitative, deux prises d'essai doivent être extraites et analysées séparément, le résultat final étant la valeur moyenne des résultats des deux sous-échantillons.

Il n'est pas possible d'effectuer la totalité de l'analyse en une journée. Les extraits des échantillons doivent être conservés jusqu'au lendemain dans des conditions de surgélation à -18 °C:

- 1^{er} jour: étape 1, étape 2 et étape 3 jusqu'à la purification sur cartouche C18 (voir Figure A.1).
- 2^e jour: étape 3, purification sur cartouche Florisil et préparation du système CLHP pour l'analyse d'échantillon (voir Figure A.1).
- nuit et jour(s) suivants: analyse des échantillons (voir Tableau A.2).

9.2 Essai à blanc

Pour garantir l'absence de contamination des solvants et cartouches, l'opération de purification (conformément à 9.5, à 9.6 et à l'Article 11) doit d'abord être effectuée sur un échantillon à blanc (échantillon avec un mélange de solvants mais sans l'huile). Le chromatogramme obtenu doit être exempt de composés d'intérêt. Si le chromatogramme contient des interférences, l'origine de ces interférences doit être déterminée et éliminée. Les valeurs des essais à blanc ne peuvent pas être utilisées pour corriger les valeurs des échantillons puisque les valeurs des essais à blanc ne sont généralement pas homogènes (répétabilité).

9.3 Détermination des valeurs des taux de récupération (sans matrice)

Afin de vérifier l'efficacité d'extraction des cartouches, effectuer un essai avec une solution étalon. Complémenter 1 750 µl de mélange de solvants 1 (5.9) avec 250 µl de solution étalon de travail (5.15) à l'aide d'une seringue de 250 µl (6.11). Déposer sur une cartouche C18, puis suivre le mode opératoire décrit en 9.5, en 9.6 et à l'Article 11.

AVERTISSEMENT — Lors de l'élimination du solvant sous un flux d'azote (voir 9.5.6), ne pas évaporer à siccité mais conserver environ 50 µl dans le tube conique afin de ne pas perdre les HAP volatils.

9.4 Extraction (extraction liquide/liquide)

9.4.1 Le schéma fonctionnel du mode opératoire d'isolement est fourni à la Figure A.1.

9.4.2 Peser, à 1 mg près, environ 2,5 g de l'échantillon dans un tube à centrifuger de 100 ml (6.8). Ajouter 10 ml de mélange de solvants 1 (5.9).

9.4.3 Agiter le tube à centrifuger pendant 30 s dans l'agitateur vortex (demi-vitesse). Puis, placer le tube dans un bain à ultrasons (6.17) pendant 5 min.

9.4.4 Centrifuger pendant 5 min à 4 000 min⁻¹.

9.4.5 Prélever avec précaution la phase supérieure à l'aide d'une pipette Pasteur (6.18), puis la transférer dans un tube conique taré (6.9).

9.4.6 Évaporer le solvant du tube conique pendant 30 min à 40 min sous un flux d'azote (5.18) en utilisant un bain-marie à 35 °C (6.6) ou un évaporateur automatique (6.5).

9.4.7 Répéter l'extraction deux fois avec 10 ml supplémentaires de mélange de solvants 1 (5.9). Concentrer les extraits dans le même tube conique sous un flux d'azote (5.18) en utilisant un bain-marie à 35 °C (6.6) ou un évaporateur automatique (6.5). Il convient que le résidu de corps gras soit d'environ 200 mg à 800 mg.

Si le poids du résidu de corps gras est supérieur à 800 mg, la méthode générale (Article 9) n'est pas appropriée; il convient, dans ce cas, d'utiliser la méthode spécifique pour l'huile de coprah (Article 10).

9.5 Purification sur des cartouches de phase greffée en C18 (extraction solide/liquide)

9.5.1 Conditionnement des cartouches: placer la cartouche (5.16) sur un support (6.19), rincer la cartouche avec 2 volumes de 12 ml de méthanol (5.1), puis avec 2 volumes de 12 ml d'acétonitrile (5.3). Laisser le solvant s'écouler à la pression atmosphérique.

9.5.2 Placer un tube conique taré (6.9) sous la cartouche (5.16).

9.5.3 À l'aide d'une seringue (6.12) ou d'une pipette graduée (6.13), introduire 2 ml de mélange de solvants 1 (5.9) dans le tube conique contenant le résidu de corps gras (9.4.7). Agiter le tube avec l'agitateur vortex (6.4) pendant 15 s. Centrifuger 30 s. Transférer la phase supérieure en tête de la cartouche (5.16) à l'aide d'une pipette Pasteur (6.18). Répéter l'opération deux fois (2 ml de mélange de solvants 1, mélanger, centrifuger et transférer sur la cartouche). Recueillir le solvant éluant de la cartouche avec le solvant d'éluion.

9.5.4 Ajouter 5 ml de mélange de solvants 1 (5.9) en tête de la cartouche (5.16), puis laisser l'éluion se développer à la pression atmosphérique.

9.5.5 À l'aide d'une seringue (6.14), injecter de l'air dans la cartouche dans le but d'éluier le solvant restant et les HAP pouvant être retenus dans la phase solide.

9.5.6 Évaporer les solvants sous un flux d'azote (5.18) à l'aide d'un bain-marie à 35 °C (6.6) ou d'un évaporateur automatique (6.5). Il convient que le résidu de corps gras ne dépasse pas 50 mg.

9.5.7 Diluer le résidu dans 1 ml d'hexane (5.2), mesuré avec une seringue (6.12), fermer hermétiquement le tube conique et conserver à – 18 °C jusqu'à la prochaine utilisation.

9.6 Purification sur des cartouches de phase greffée de Florisil (extraction solide/liquide)

9.6.1 Laisser l'extrait (9.5.7) se réchauffer à température ambiante pendant au moins 1 h.

9.6.2 Conditionnement des cartouches: placer la cartouche (5.17) sur un support (6.19), rincer la cartouche avec 5 volumes de 3 ml de dichlorométhane (5.5), puis avec 4 volumes de 3 ml d'hexane (5.2).

9.6.3 Placer un tube conique taré (6.9) sous la cartouche (5.17).

9.6.4 Transférer l'extrait (9.5.7) en tête de la cartouche (5.17) à l'aide d'une pipette Pasteur (6.18).

9.6.5 Introduire 1 ml de mélange de solvants 3 (5.11) à l'aide d'une seringue (6.12) ou d'une pipette graduée (6.13) dans le tube conique contenant l'extrait. Agiter le tube pendant 15 s avec l'agitateur vortex, puis transférer le mélange en tête de la cartouche (5.17). Rincer le tube avec 2 × 2 ml de mélange de solvants 3 (5.11), puis le transférer sur la cartouche. Recueillir le solvant éluant de la cartouche avec le solvant d'éluant.

Éviter tout contact entre la pipette et le tube conique afin d'empêcher une contamination croisée.

9.6.6 Éluer 4 ml de mélange de solvants 3 (5.11) dans la cartouche (5.17). À l'aide d'une seringue (6.14), injecter de l'air dans la cartouche afin d'éluer le solvant restant.

9.6.7 Concentrer la solution sous un flux d'azote (5.18), à l'aide d'un bain-marie à 35 °C (6.6) ou d'un évaporateur automatique (6.5), à environ 1 ml (l'opération prend 10 min à 15 min). Ajouter environ 0,5 ml de toluène (5.6) (rétenteur), puis poursuivre l'évaporation jusqu'à ce qu'il reste environ 50 µl.

Il convient de ne pas évaporer entièrement le solvant.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2a446d71-c393-4df6-910a->

9.6.8 Le volume exact est déterminé par la pesée du tube conique et calculé à l'aide de la densité de toluène. Ajouter le volume de solvant requis [MeOH/THF (5.12), ou acétonitrile (5.3)], $V_{\text{ajouté}}$, pour obtenir 250 µl.

$$V_{\text{ajouté}} = 250 - \frac{m}{d}$$

où

m est la masse d'échantillon, en milligrammes;

d est la masse volumique du toluène (0,866 9 kg/m³).

9.6.9 Transférer l'échantillon dans un microflacon (6.16), placé dans un flacon (6.15).

10 Mode opératoire pour la détermination des HAP à partir des corps gras: Méthode spécifique pour l'huile de coprah

10.1 Première extraction (extraction liquide/liquide)

10.1.1 Le schéma fonctionnel du mode opératoire d'isolement est fourni à la Figure A.2.

10.1.2 Peser, à 1 mg près, environ 2 g de l'échantillon dans un tube à centrifuger de 100 ml (6.8). Ajouter 10 ml de mélange de solvants 1 (5.9).