
**Corps gras d'origine végétale —
Détermination de la teneur en cires par
chromatographie en phase gazeuse**

*Vegetable fats and oils — Determination of wax content by gas
chromatography*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO/TS 23647:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f41e67ab-e80e-4f14-a55d-f5efc8259f33/iso-ts-23647-2010)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f41e67ab-e80e-4f14-a55d-
f5efc8259f33/iso-ts-23647-2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f41e67ab-e80e-4f14-a55d-f5efc8259f33/iso-ts-23647-2010)



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/TS 23647:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f41e67ab-e80e-4f14-a55d-f5efc8259f33/iso-ts-23647-2010)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f41e67ab-e80e-4f14-a55d-f5efc8259f33/iso-ts-23647-2010>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2010

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
Introduction	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	1
5 Réactifs et matériaux	2
6 Appareillage	3
7 Échantillonnage	3
8 Préparation de l'échantillon pour essai	3
9 Mode opératoire	3
9.1 Préparation de gel de silice 60 imprégné de nitrate d'argent	3
9.2 Garnissage de la colonne	4
9.3 Isolement des cires	4
9.4 Détermination de la teneur en cires par chromatographie en phase gazeuse	4
10 Fidélité	7
10.1 Essai interlaboratoires	7
10.2 Répétabilité	7
10.3 Reproductibilité	7
11 Rapport d'essai	7
Annexe A (informative) Chromatogrammes	8
Annexe B (informative) Résultats des essais interlaboratoires	12
Annexe C (informative) Préparation d'un étalon de cire de tournesol cristalline	13
Bibliographie	17

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.

Dans d'autres circonstances, en particulier lorsqu'il existe une demande urgente du marché, un comité technique peut décider de publier d'autres types de documents:

- une Spécification publiquement disponible ISO (ISO/PAS) représente un accord entre les experts dans un groupe de travail ISO et est acceptée pour publication si elle est approuvée par plus de 50 % des membres votants du comité dont relève le groupe de travail;
- une Spécification technique ISO (ISO/TS) représente un accord entre les membres d'un comité technique et est acceptée pour publication si elle est approuvée par 2/3 des membres votants du comité.

Une ISO/PAS ou ISO/TS fait l'objet d'un examen après trois ans afin de décider si elle est confirmée pour trois nouvelles années, révisée pour devenir une Norme internationale, ou annulée. Lorsqu'une ISO/PAS ou ISO/TS a été confirmée, elle fait l'objet d'un nouvel examen après trois ans qui décidera soit de sa transformation en Norme internationale soit de son annulation.

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/TS 23647 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 11, *Corps gras d'origines animale et végétale*.

Introduction

Les corps gras d'origine végétale comprennent principalement des triacylglycérols. Toutefois, ils contiennent aussi de petites quantités de substances non glycéridiques souvent appelées constituants mineurs. La composition de ces constituants mineurs (par exemple stérols, esters de stérols, alcools triterpéniques et cires) fournit des informations très caractéristiques sur l'identité des huiles. Étant donné que les étapes physiques et chimiques du traitement des corps gras d'origine végétale peuvent altérer leur composition et leur teneur, l'analyse de ces composants mineurs peut être adéquatement appliquée pour caractériser les étapes de traitement ayant permis d'obtenir une huile.

Les cires sont des composés naturels se trouvant dans diverses huiles végétales et peuvent facilement cristalliser à basse température, donnant un aspect trouble. Bien souvent, l'élimination de la cire constitue une partie du processus de raffinage des huiles végétales (par exemple huiles de tournesol, de son de riz, de maïs) et son efficacité nécessite d'être mesurée.

La présente Spécification technique ne couvre pas l'analyse des cires d'huile d'olive.

À ce jour, il n'existe aucune méthode officielle fiable pour mesurer la teneur et la composition en cires des corps gras d'origine végétale, excepté l'huile d'olive. Le «cold test» fournit un résultat qui n'est ni qualitatif ni quantitatif; les méthodes développées pour les huiles d'olive ne sont pas applicables aux huiles de graines oléagineuses et peuvent engendrer de nombreux problèmes lors de l'interprétation des résultats. Il est nécessaire, tant d'un point de vue industriel que commercial, de disposer d'une Norme internationale qui soit applicable aux corps gras d'origine végétale bruts, dégommes, pré-décirés, décirés et totalement raffinés.

Les cires de différents corps gras d'origine végétale sont séparées des triacylglycérols et d'autres composés non glycéridiques contenant des doubles liaisons insaturées par chromatographie sur colonne en utilisant un garnissage de colonne mixte constitué de gel de silice et de gel de silice imprégné d'AgNO₃.

La fraction de cire est ensuite analysée par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire. La méthode donne également des informations sur la teneur totale en cires ainsi que sur leur composition. Les informations données par la méthode peuvent être facilement utilisées pour contrôler la qualité de l'huile et suivre l'efficacité du processus de décirage.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO/TS 23647:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f41e67ab-e80e-4f14-a55d-f5efc8259f33/iso-ts-23647-2010>

Corps gras d'origine végétale — Détermination de la teneur en cires par chromatographie en phase gazeuse

1 Domaine d'application

La présente Spécification technique spécifie une méthode de chromatographie en phase gazeuse pour déterminer la teneur en cires des huiles végétales brutes, dégommees, neutralisées, décirées et totalement raffinées comme les huiles de tournesol, de soja, de colza, de maïs et de son de riz. Elle ne s'applique pas aux huiles d'olive ou aux huiles de grignons d'olive.

Les cires sont des esters d'acides gras et d'alcools gras à chaîne longue (ayant une chaîne carbonée saturée C₂₀ ou plus longue).

La teneur en cires est exprimée en milligrammes par kilogramme d'huile.

2 Références normatives

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

teneur en cires

fraction massique de ces substances dans l'échantillon, déterminée dans les conditions spécifiées dans la présente Spécification technique

NOTE La teneur en cires est exprimée en milligrammes par kilogramme d'huile.

4 Principe

Les cires sont séparées par chromatographie sur colonne en utilisant un garnissage de colonne mixte constitué de gel de silice et de gel de silice imprégné d'AgNO₃. La détermination de la teneur en cires est effectuée par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire (CG), en utilisant un étalon interne préalablement ajouté à l'huile.

5 Réactifs et matériaux

AVERTISSEMENT — L'attention est attirée sur les réglementations qui s'appliquent à la manipulation de substances dangereuses. Des mesures de sécurité d'ordre technique, organisationnel et personnel doivent être suivies.

Au cours de l'analyse, sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue appropriés à la chromatographie sur colonne CLHP et de l'eau distillée ou déminéralisée ou de l'eau de pureté équivalente.

5.1 *n*-Hexane.

5.2 Dichlorométhane.

5.3 *n*-Heptane.

5.4 Chloroforme.

5.5 **Gel de silice 60**, d'une granulométrie de 0,063 mm à 0,200 mm (70 mesh à 230 mesh), tel que Merck n° 107734¹).

5.6 Nitrate d'argent (AgNO₃).

5.7 Hexatriacontane²) (paraffine C₃₆).

5.7.1 **Solution d'étalon interne**, concentration en masse 0,1 mg/ml dans du *n*-heptane.

5.7.2 **Étalon pour déterminer le facteur de réponse**, concentration en masse 1 mg/ml dans du *n*-heptane.

5.8 **Étalons pour identifier les pics du chromatogramme en phase gazeuse**, cires pures³), par exemple C₄₀, C₄₄.

5.8.1 **Étalon pour déterminer le facteur de réponse**, stéarate de stéaryle ou ester stéarylique d'acide stéarique (cire C₃₆), concentration en masse 1 mg/ml dans du chloroforme.

5.9 **Cire de tournesol cristallisée**, préparée à partir de gâteau de décirage ou d'huile de tournesol brute en utilisant la cristallisation. Voir l'Annexe C pour la préparation.

5.10 **Coton**, de qualité chirurgicale, non absorbant.

1) Merck n° 107734 est l'appellation commerciale d'un produit fourni par Merck. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Spécification technique et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

2) L'hexatriacontane est disponible auprès de Sigma-Aldrich avec une pureté d'au moins 99 % (fraction massique). Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Spécification technique et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

3) Les cires pures, par exemple l'ester stéarylique d'acide béhénique (C₄₀), l'ester stéarylique d'acide stéarique (C₃₆) et l'ester béhénylique d'acide béhénique (C₄₄) sont disponibles auprès de Sigma-Aldrich, avec une pureté d'environ 99 % (fraction massique). Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Spécification technique et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif des produits ainsi désignés.

6 Appareillage

- 6.1 Colonne de chromatographie**, en verre, de 30 mm de diamètre interne et 450 mm de long, équipée d'un robinet en polytétrafluoroéthylène (PTFE).
- 6.2 Tige en verre**, d'environ 600 mm de long.
- 6.3 Pipette Pasteur**, ISO 7712^[4].
- 6.4 Évaporateur rotatif sous vide**.
- 6.5 Ballon à fond rond**, de 250 ml de capacité (pour collecter la fraction de cires).
- 6.6 Flacon en forme de poire**, de 25 ml de capacité (pour collecter la fraction de cires concentrées).
- 6.7 Chromatographe en phase gazeuse**, équipé d'un détecteur à ionisation à flamme, d'un injecteur avec division/sans division et d'un intégrateur ou d'un système de saisie des données.
- 6.8 Colonne capillaire en verre de silice**, de 25 m de long et d'un diamètre interne de 0,32 mm ou de préférence 0,20 mm, imprégnée de diméthylpolysiloxane (par exemple HP-1 ou OV-1 ou équivalent), épaisseur de film 0,11 µm.

7 Échantillonnage

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente Spécification technique. Une méthode d'échantillonnage recommandée est indiquée dans l'ISO 5555^[1].

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

8 Préparation de l'échantillon pour essai

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

Chauffer l'échantillon pour laboratoire à 130 °C. Le mélanger afin de faire fondre complètement les cires cristallisées et éliminer l'humidité (un agitateur magnétique ou un four à micro-ondes peut être utilisé).

9 Mode opératoire

9.1 Préparation de gel de silice 60 imprégné de nitrate d'argent

Mettre 100 g de gel de silice 60 (5.5) dans un bol en céramique. Verser une solution de nitrate d'argent, contenant 5 g d'AgNO₃ (5.6) dissous dans 240 ml d'eau sur le gel de silice et, après avoir vigoureusement mélangé, aplanir sa surface. Mettre cette suspension dans un four électrique froid, chauffer à 170 °C et activer le gel toute une nuit. Laisser refroidir lentement à 50 °C dans le four électrique (à l'abri de la lumière). Conserver ce garnissage de colonne à l'abri de la lumière, dans un flacon hermétique. Si nécessaire, éliminer les particules sombres de la surface du gel de silice imprégné.

Le gel contient 5 % en fraction massique d'AgNO₃.

9.2 Garnissage de la colonne

À l'aide de la tige en verre (6.2), placer un tampon de coton (5.10) dans la partie inférieure de la colonne (6.1) et le tasser. Verser environ 30 ml de *n*-hexane (5.1) dans la colonne et éliminer l'air en appuyant sur le coton avec la tige. Laisser le solvant atteindre une hauteur d'environ 2 mm à 3 mm au-dessus du coton avant d'introduire le gel de silice dans la colonne.

Introduire 3 g de gel de silice imprégné (9.1) dans la colonne en verre (6.1), éliminer l'air piégé et aplanir la surface. Ajouter 12 g de gel de silice 60 (5.5) en haut du garnissage précédent, éliminer l'air et protéger le garnissage de la lumière. Rincer le garnissage de colonne avec environ 90 ml à 100 ml de *n*-hexane, en éliminant les bulles d'air par légers tapotements, si nécessaire. Il convient que le robinet soit ouvert lorsque le solvant est ajouté en vue du rinçage. Laisser environ 5 mm de hauteur de solvant au-dessus du garnissage de colonne avant d'ajouter la solution d'échantillon.

9.3 Isolement des cires

9.3.1 Préparation de l'échantillon

Mélange de solvants A: *n*-hexane (5.1) et dichlorométhane (5.2), fraction volumique d'hexane, $\varphi_{C_6H_{14}} = 95 \text{ ml}/100 \text{ ml}$ et de dichlorométhane, $\varphi_{CH_2Cl_2} = 5 \text{ ml}/100 \text{ ml}$.

Peser l'échantillon en fonction de la teneur en cires prévue (huile de tournesol: 3 g à partir d'huile brute et d'huile neutralisée, et 4 g à 4,5 g à partir d'huile décirée et totalement raffinée, autres huiles: 4 g à 4,5 g). Ajouter 3 ml de solution d'étalon interne (5.7.1) et ajouter 7 ml de mélange de solvants A à l'échantillon. Mélanger vigoureusement et transférer environ 2 ml de cette solution dans la colonne, à l'aide d'une pipette Pasteur (6.3).

Ajuster le débit à 1,5 ml/min à 2 ml/min et rincer trois fois la surface intérieure de la colonne en verre avec environ 3 ml du mélange de solvants A. Ne pas laisser la colonne s'assécher et laisser environ 5 mm de hauteur de solvant au-dessus du garnissage de colonne avant d'ajouter la fraction suivante du solvant.

9.3.2 Chromatographie sur colonne

Mélange de solvants B: *n*-hexane (5.1) et dichlorométhane (5.2), fraction volumique d'hexane, $\varphi_{C_6H_{14}} = 80 \text{ ml}/100 \text{ ml}$ et de dichlorométhane, $\varphi_{CH_2Cl_2} = 20 \text{ ml}/100 \text{ ml}$.

Éluer les cires avec 190 ml de mélange de solvants B. Ajuster le débit à environ 3 ml/min.

Collecter la totalité de la matière éluée de la colonne dans un ballon à fond rond (6.5) et évaporer le solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide (6.4). Dissoudre le résidu dans une petite quantité de chloroforme (5.4), transférer la solution dans un flacon en forme de poire (6.6), évaporer à nouveau le solvant et redissoudre les cires dans environ 1 ml de chloroforme. L'analyse par CG est effectuée en utilisant cette solution.

9.4 Détermination de la teneur en cires par chromatographie en phase gazeuse

9.4.1 Conditions recommandées pour la chromatographie en phase gazeuse

Colonne:	HP-1 (25 m × 0,20 mm, film de 0,11 μm)
Four:	170 °C (0,1 min); 170 °C à 350 °C (6 °C/min); isotherme à 350 °C (20 min)
Gaz vecteur:	H ₂
Débit:	1,4 ml/min

Injecteur: 355 °C, rapport de fuite: 1:30

Détecteur: 360 °C (FID)

Ces conditions peuvent être ajustées conformément aux caractéristiques du chromatographe en phase gazeuse et de la colonne de façon à obtenir une bonne séparation des composés de cire.

9.4.2 Détermination du facteur de réponse

Mélanger des volumes égaux des solutions étalons (5.7.2 et 5.8.1) et injecter 1 µl du mélange dans le chromatographe en phase gazeuse pour déterminer le facteur de réponse, F_r

$$F_r = \frac{A_{IS} \rho}{A \rho_{IS}}$$

où

A_{IS} est la surface de pic de l'hexatriacontane (5.7.2);

A est la surface de pic du stéarate de stéaryle;

ρ est la concentration en masse en stéarate de stéaryle (5.8.1);

ρ_{IS} est la concentration en masse en hexatriacontane (5.7.2).

Il convient que la valeur de F_r soit comprise entre 1,1 et 1,2. Conserver cette solution dans un flacon hermétique, à l'abri de la lumière, et répéter la détermination comme requis, normalement une fois par semaine.

ISO/TS 23647:2010

9.4.3 Calcul de la teneur en cires

Injecter 1,5 µl à 2 µl de solution de cires (isolées conformément à 9.3) dans le CG. L'ordre d'éluion est le suivant: solvant, hydrocarbures, étalon interne (hexatriacontane), cires.

Si l'isolement (9.3) est effectué correctement, il convient que la fraction de cires (en particulier la cire de tournesol) présente un profil type: une surface de pic continuellement décroissante après le pic du C_{48} (voir la Figure A.1 et le Tableau C.1). Toutefois, la présence de pics se chevauchant ou de pics larges (par exemple les esters de stérols et les triglycérides) à l'extrémité de la région des cires peut rendre l'analyse des données impossible. Dans ce cas, répéter la chromatographie sur colonne (voir la Figure A.4).

9.4.3.1 Huile de tournesol

Les principaux composants de la cire de tournesol sont les cires C_{44} , C_{46} et C_{48} . La cire de tournesol contient principalement des cires ayant un nombre pair d'atomes de carbone, par exemple C_{44} , C_{46} , C_{48} , C_{50} , C_{52} , C_{54} . Parmi ces principaux pics, on peut également trouver des pics mineurs ayant un nombre impair d'atomes de carbone. Tous les pics (pics mineurs et majeurs) sont utilisés lors du calcul.

Le calcul repose sur une série de mesurages préalables et sur la littérature (Références [5][6][7]). La teneur en cires, w_t , exprimée en fraction massique en milligrammes par kilogramme d'huile, est calculée par

$$w_t = \frac{F_r \left[A_{>C_{44}} + (1+k) A_{C_{44}} \right] m_{IS}}{A_{IS} m}$$