
**Corps gras d'origines animale et
végétale — Chromatographie en phase
gazeuse des esters méthyliques d'acides
gras —**

Partie 3:

**Préparation des esters méthyliques à
l'aide d'hydroxyde de triméthylsulfonium
(TMSH)**

*Animal and vegetable fats and oils — Gas chromatography of fatty acid
methyl esters —*
*Part 3: Preparation of methyl esters using trimethylsulfonium hydroxide
(TMSH)*



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 12966-3:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/714d0fb6-e909-488e-9455-706eb6969ac6/iso-12966-3-2009)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/714d0fb6-e909-488e-9455-706eb6969ac6/iso-12966-3-2009>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2009

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

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 12966-3 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 12966 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Corps gras d'origines animale et végétale — Chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras*:

- *Partie 2: Préparation des esters méthyliques d'acides gras*
- *Partie 3: Préparation des esters méthyliques à l'aide d'hydroxyde de triméthylsulfonium (TMSH)*

La partie suivante est en cours d'élaboration:

- *Partie 4: Détermination des acides gras saturés, mono- et poly-insaturés, cis ou trans, dans les corps gras d'origines végétale ou animale (non ruminant)*

La partie suivante est prévue:

- *Partie 1: Lignes directrices pour la chromatographie en phase gazeuse*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 12966-3:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/714d0fb6-e909-488e-9455-706eb6969ac6/iso-12966-3-2009>

Corps gras d'origines animale et végétale — Chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras —

Partie 3:

Préparation des esters méthyliques à l'aide d'hydroxyde de triméthylsulfonium (TMSH)

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 12966 spécifie une méthode de transestérification rapide des corps gras par catalyse basique avec de l'hydroxyde de triméthylsulfonium (TMSH), pour préparer des esters méthyliques d'acides gras. Cette méthode s'applique exclusivement à la préparation des esters méthyliques des corps gras pour l'analyse chromatographique en phase gazeuse-liquide (CPG). Elle s'applique à tous les corps gras y compris les matières grasses laitières et les mélanges contenant des matières grasses laitières. L'isomérisation des acides gras insaturés ne se produit que rarement et les acides gras isomérisés ne sont présents que dans la limite de détermination. Puisqu'il y a isomérisation, ce mode opératoire n'est pas recommandé pour l'acide linoléique conjugué (CLA). Puisque le CLA n'est pas correctement analysé, cette méthode ne s'applique pas à la détermination de la composition complète d'acide gras des échantillons de matières grasses laitières.

Seulement environ 70 % à 80 % des acides gras libres sont estérifiés. Dans le cas d'acides gras conjugués cyclopropyl et cyclopropényl, des réactions secondaires peuvent se produire mais n'interfèrent pas dans la détermination des acides gras.

NOTE La présente partie de l'ISO 12966 repose sur la Méthode normalisée allemande C-VI 11e (98) (voir Référence [8]).

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 Principe

L'échantillon est dissous dans de l'éther de méthyle *tert*-butyle (MTBE) et mélangé avec une solution méthanolique d'hydroxyde de triméthylsulfonium. Les glycérides sont transestérifiés par catalyse basique et les esters méthyliques d'acides gras sont formés (voir Références [4] à [8]). Les acides gras libres sont convertis en sels qui sont pyrolysés en esters méthyliques et en diméthylsulfure dans l'injecteur. L'excès de réactif est également pyrolysé en méthanol et en diméthylsulfure. Pour obtenir une réaction pyrolytique complète, un injecteur chaud (injection avec diviseur de débit) réglé à au moins 250 °C est nécessaire.

Pour déterminer les acides gras à chaîne courte (C_4 à C_8), l'ester méthylique d'acide pentanoïque (valérique) doit être utilisé comme étalon interne. Les lipides contenant des groupes hydroxyles sont partiellement convertis en dérivés de type éther méthylique (*O*-méthyl) pouvant interférer avec les esters méthyliques d'acides gras dans la séparation CPG (voir Référence [9]). Des pics provenant du réactif peuvent survenir en début de chromatogramme (région du C_4). Ces pics ne sont pas pris en compte.

4 Réactifs

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

Au cours de l'analyse, sauf spécification contraire, utiliser uniquement des réactifs et des solvants de qualité analytique reconnue.

4.1 Éther de méthyle *tert*-butyle (MTBE).

4.2 Hydroxyde de triméthylsulfonium (TMSH), solution méthanolique, concentration $c(\text{Me}_3\text{SOH}) = 0,2 \text{ mol/l}$.

La teneur de la solution peut être déterminée par acidimétrie: 5,0 ml de solution sont dilués dans 10 ml de méthanol, 2 gouttelettes de phénolphaléine sont ajoutées et le mélange est titré par HCl à 0,1 mol/l. Il convient que la concentration soit d'au moins 0,15 mol/l.

NOTE La solution reste stable pendant au moins deux mois si elle est conservée à 4 °C en petites quantités, à l'intérieur de tubes fermés.

5 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et, en particulier:

5.1 Tubes à essai, d'une capacité de 2 ml avec bouchon en verre rodé (flacons pour injecteur automatique).

5.2 Pipettes graduées, d'une capacité de 250 µl, 500 µl et 1 000 µl, ISO 835^[1] classe A.

6 Échantillonnage

Il convient qu'un échantillon représentatif ait été envoyé au laboratoire. Il convient qu'il n'ait été ni endommagé ni modifié au cours du transport ou du stockage.

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente partie de l'ISO 12966. Une méthode d'échantillonnage recommandée est indiquée dans l'ISO 5555^[3].

7 Préparation de l'échantillon pour essai

L'échantillon pour essai doit être liquide, sec et limpide. Opérer conformément à l'ISO 661, mais en chauffant l'échantillon juste au-dessus de son point de fusion.

Les échantillons solides sont fondus avec précaution à une température maximale de 10 °C au-dessus de leur point de fusion, puis homogénéisés. Éviter les températures excessives.

Les échantillons contenant de l'eau sont dissous dans de l'éther de pétrole et séchés pendant 30 min en ajoutant du sulfate de sodium anhydre. L'agent de séchage est éliminé par filtration à travers un papier-filtre plissé et le résidu est lavé soigneusement avec de l'éther de pétrole. Le solvant est ensuite éliminé au moyen d'un évaporateur rotatif.

8 Mode opératoire

8.1 Peser (10 ± 2) mg de l'échantillon pour essai dans un tube à essai (5.1).

8.2 Ajouter 500 μ l de MTBE (4.1) à l'aide d'une pipette (5.2) et dissoudre l'échantillon, en chauffant modérément si nécessaire.

NOTE Pour déterminer les acides gras à chaîne courte (C_4 à C_8), l'ester méthylique d'acide pentanoïque (valérique) est utilisé comme étalon interne. La solution d'étalon interne est utilisée pour dissoudre l'échantillon.

8.3 À l'aide d'une pipette (5.2), ajouter 250 μ l de solution de TMSH (4.2) dans le tube à essai et agiter vigoureusement pendant environ 30 s. La solution ainsi obtenue est prête pour l'injection dans le chromatographe en phase gazeuse. Du fait que les esters méthyliques se forment pendant l'injection, il est nécessaire que la température de l'injecteur soit d'au moins 250 °C.

Si nécessaire, utiliser un mélange de MTBE et de méthanol (9 volumes + 1 volume) pour diluer la solution.

IMPORTANT — Les acides gras libres réagissent avec le TMSH pour former les sels correspondants, lesquels sont pyrolysés en esters méthyliques et en diméthylsulfure dans l'injecteur. Il est donc nécessaire que la température de l'injecteur soit de 250 °C. Afin d'éviter les obstructions, le capillaire d'évent de division doit avoir un diamètre intérieur approprié (> 1 mm). Il convient de le nettoyer par chauffage régulier ou par rinçage avec un solvant. De plus, la vanne de division doit être protégée par un piège contenant du charbon actif.

9 Rapport d'essai

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Le rapport d'essai doit contenir au moins les informations suivantes:

- a) le résultat de la détermination; [ISO 12966-3:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/714d0fb6-e909-488e-9455-706eb6969ac6/iso-12966-3-2009)
- b) la méthode utilisée, avec référence à la présente partie de l'ISO 12966;
- c) toutes les informations nécessaires à l'identification complète de l'échantillon;
- d) tous les détails opératoires non spécifiés dans la présente partie de l'ISO 12966, ou considérés comme facultatifs, conjointement avec les détails de tout incident ayant pu influencer le(s) résultat(s).

Bibliographie

- [1] ISO 835, *Verrerie de laboratoire — Pipettes graduées*
- [2] ISO 1042, *Verrerie de laboratoire — Fioles jaugées à un trait*
- [3] ISO 5555, *Corps gras d'origines animale et végétale — Échantillonnage*
- [4] BUTTE, W.J. Rapid method for the determination of fatty acid profiles from fats and oils using trimethylsulfonium hydroxide for transesterification, *J. Chromatogr.* 1983, **261**, pp. 142-145
- [5] SCHULTE, E., WEBER, K. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from fats with trimethylsulfonium hydroxide, *Fat Sci. Technol.* 1989, **91**, pp. 181-183
- [6] ARENS, M., SCHULTE, E., WEBER, K. Fatty acid methyl esters — Transesterification with trimethylsulfonium hydroxide, *Fat Sci. Technol.* 1994, **96**, pp. 67-68
- [7] EL-HAMDY, A.H., CHRISTIE, W.W. Preparation of methyl esters of fatty acids with trimethylsulfonium hydroxyde — An appraisal, *J. Chromatogr.* 1993, **630**, pp. 438-441
- [8] DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR FETTWISSENSCHAFT. *Deutsche Einheitsmethoden zur Untersuchung von Fetten, Fettprodukten, Tensiden und verwandten Stoffen/German standard methods for the analysis of fats and other lipids*. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 2008
- [9] VOSMANN, K., SCHULTE, E., KLEIN, E., WEBER, N. Reactions of lipids containing hydroxyl groups with trimethylsulfonium hydroxide: Formation of O-methyl derivatives, *Lipids* 1996, **31**, pp. 349-352

[ISO 12966-3:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/714d0fb6-e909-488e-9455-706eb6969ac6/iso-12966-3-2009)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/714d0fb6-e909-488e-9455-706eb6969ac6/iso-12966-3-2009>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 12966-3:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/714d0fb6-e909-488e-9455-706eb6969ac6/iso-12966-3-2009>