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

Partie 1:

**Lignes directrices relatives à la
chromatographie en phase gazeuse
moderne des esters méthyliques
d'acides gras**

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e9bad044-cf91-44ac-bdca-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e9bad044-cf91-44ac-bdca-324111111111)

**Animal and vegetable fats and oils — Gas chromatography of fatty
acid methyl esters —**

*Part 1: Guidelines on modern gas chromatography of fatty acid
methyl esters*



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 12966-1:2014

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e9bad044-cf91-44ac-bdca-3a40d0a38324/iso-12966-1-2014>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2014

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, 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, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au 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 Principe	2
4 Préparation des EMAG	2
5 Colonnes	3
6 Chromatographie en phase gazeuse (CPG) des EMAG	4
7 Évaluation des chromatogrammes	5
7.1 Aire du pic et pourcentage de l'aire du pic.....	5
7.2 Évaluation au moyen d'un étalon interne ou de facteurs de correction.....	5
8 Rapport d'essai	5
Bibliographie.....	6

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 12966-1:2014](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e9bad044-cf91-44ac-bdca-3a40d0a38324/iso-12966-1-2014)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e9bad044-cf91-44ac-bdca-3a40d0a38324/iso-12966-1-2014>

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 (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'OMC concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: Avant-propos — Informations supplémentaires.
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e9bad044-cf91-44ac-bdca-3a40d0a38324/iso-12966-1-2014>

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est l'ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 11, *Corps gras d'origines animale et végétale*.

Conjointement avec l'ISO 12966-4, cette première édition de l'ISO 12966-1 annule et remplace l'ISO 5508:1990 et l'ISO 15304:2002 qui ont fait l'objet d'une révision technique.

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 1: Lignes directrices relatives à la chromatographie en phase gazeuse moderne 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)*
- *Partie 4: Méthode par chromatographie capillaire en phase gazeuse*

Introduction

La présente partie de l'ISO 12966 fait partie d'une série de quatre Normes internationales relatives à la préparation et à la détermination des esters méthyliques d'acides gras par chromatographie en phase gazeuse dans les corps gras d'origines animale et végétale. L'ISO 12966 (toutes les parties) s'applique aux corps gras et aux acides gras bruts, raffinés, partiellement ou totalement hydrogénés, dérivés de sources animales et végétales.

L'ISO 12966 (toutes les parties) ne convient pas pour l'analyse des produits laitiers, des corps gras de ruminants (y compris le lait et les produits dérivés du lait ou les matières grasses provenant du lait et des produits laitiers), ou des produits additionnés d'acide linoléique conjugué (CLA). En outre, elle n'est pas destinée à être appliquée aux corps gras polymérisés et oxydés.

La présente partie de l'ISO 12966 est une ligne directrice relative à la chromatographie en phase gazeuse moderne des esters méthyliques d'acides gras, alors que l'ISO 12966-2 et l'ISO 12966-3 traitent de la préparation des esters méthyliques d'acides gras par différentes méthodes. L'ISO 12966-4 donne les conditions d'analyse des esters méthyliques d'acides gras par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire.

Cette série de Normes internationales remplace les Normes internationales suivantes:

- l'ISO 5508:1990 est remplacée par l'ISO 12996-1 et l'ISO 12996-4
- l'ISO 15304:2002 est remplacée par l'ISO 12996-1 et l'ISO 12996-4
- l'ISO 5509:2000 est remplacée par l'ISO 12996-2 et l'ISO 12996-3

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 12966-1:2014](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e9bad044-cf91-44ac-bdca-3a40d0a38324/iso-12966-1-2014)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e9bad044-cf91-44ac-bdca-3a40d0a38324/iso-12966-1-2014>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 12966-1:2014](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e9bad044-cf91-44ac-bdca-3a40d0a38324/iso-12966-1-2014)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e9bad044-cf91-44ac-bdca-3a40d0a38324/iso-12966-1-2014>

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

Partie 1:

Lignes directrices relatives à la chromatographie en phase gazeuse moderne des esters méthyliques d'acides gras

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 12966 donne un aperçu de la détermination par chromatographie en phase gazeuse des acides gras, libres et liés, dans les corps gras d'origines animale et végétale après leur conversion en esters méthyliques d'acides gras (EMAG).

La détermination qualitative et quantitative de la composition des acides gras par chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une application couramment utilisée dans l'analyse des lipides. Elle est utilisée pour la caractérisation des corps gras ou des produits alimentaires gras après l'extraction de l'huile de la matrice. Les acides gras liés des triacylglycérols (TAG) et, selon la méthode d'estérification, les acides gras libres (AGL) et autres lipides, sont convertis en esters méthyliques d'acides gras (EMAG), qui sont déterminés par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire. Selon le nombre d'acides gras différents (théoriquement plus de 50 acides gras différents peuvent être présents) des colonnes capillaires d'une longueur de 10 m à 100 m sont utilisées pour la séparation.

La CPG des EMAG s'applique à tous les mélanges naturels et synthétiques de tri-, di- et mono-acylglycérols, aux esters d'acides gras, acides gras libres, savons et autres composés gras. Avec cette série de normes, les EMAG de C4 à C26 peuvent être déterminés, y compris les esters méthyliques d'acides gras saturés, les esters méthyliques d'acides gras mono-insaturés *cis* et *trans* et les esters méthyliques d'acides gras poly-insaturés *cis* et *trans*.

Pour la détermination des acides gras à chaîne courte, des esters isopropyliques et butyliques sont souvent utilisés de manière à éviter les interférences avec le pic du solvant et afin de réduire les écarts de réponse du détecteur.

2 Références normatives

Les documents suivants, en tout ou partie, sont référencés de façon normative dans le présent document et sont indispensables à son application. 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 12966-2, *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*

ISO 12966-3, *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)*

ISO 12966-4:—¹⁾, *Corps gras d'origines animale et végétale — Détermination des esters méthyliques d'acides gras — Partie 4: Méthode par chromatographie capillaire en phase gazeuse*

1) En préparation. À publier.

3 Principe

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est utilisée pour l'analyse qualitative et quantitative des EMAG. Les EMAG sont préparés conformément à l'ISO 12996-2 ou l'ISO 12996-3, et les EMAG dissous sont ensuite injectés et vaporisés dans l'injecteur. La séparation des EMAG est obtenue sur des colonnes d'analyse de différentes polarités et longueurs. Pour la détection des EMAG, un détecteur à ionisation de flamme (FID) est utilisé.

Dans la chromatographie en phase gazeuse des EMAG avec FID, il convient que l'hydrogène soit utilisé comme gaz vecteur (phase mobile). Pour des applications avec détecteur sélectif de masse (MSD), l'hélium doit être utilisé. La séparation peut être effectuée dans un délai plus court avec des pics plus fins en utilisant de l'hydrogène. La phase stationnaire est une couche microscopique d'un mince film liquide sur une surface solide inerte en acier, verre ou silice fondue.

Les composés volatilisés analysés interagissent, pendant leur passage dans le tube capillaire, avec la phase stationnaire recouvrant la surface interne de la colonne. En raison de l'interaction différente des différents composés, ceux-ci sortent de la colonne, ou sont élués, au terme d'un délai différent, qui est appelé temps de rétention du composé pour un ensemble donné de paramètres d'analyse. La comparaison des temps de rétention est utilisée pour l'identification des différents composés.

AVERTISSEMENT — Lorsqu'un détecteur sélectif de masse est utilisé, des précautions particulières doivent être prises pour obtenir des résultats quantitatifs en raison des différences dans les profils de fragmentation des EMAG individuels. De plus, pour la spectrométrie de masse, des dérivés autres que les EMAG mentionnés dans la présente partie de la norme ISO 12966 sont utilisés, par exemple des esters picoliniques ou des diméthyl oxazolidines et autres.

4 Préparation des EMAG

(standards.iteh.ai)

Les esters méthyliques d'acides gras doivent être préparés conformément à l'ISO 12966-2 et l'ISO 12966-3. Un aperçu est donné dans le [Tableau 1](#).

Tableau 1 — Aperçu des différentes méthodes d'estérification

Méthode	Principe	Injecteur CG	Note	–
ISO 12966-2, paragraphe 4.2	<p>Transméthylation rapide en conditions de catalyse alcalines avec KOH</p> <p>Les AGL ne sont pas convertis en EMAG</p> <p>Risque de formation de savon</p>	<p>On-column</p> <p>Avec division/ Sans division</p>	<p>Applicable aux corps gras contenant des acides gras à partir de l'acide butanoïque (C4:0)</p> <p>Transestérification à température ambiante, évaporation du solvant inutile</p>	<p>De plus, pour les triglycérides à chaîne moyenne (TCM) et les acides gras à chaîne courte, formation d'artéfacts insignifiante. Étalon interne pour la détermination de l'acide butanoïque/hexanoïque</p> <p>Les EMAG à chaîne courte sont facilement perdus pendant la partition entre phase aqueuse saline/phase solvant</p>
ISO 12966-2, paragraphe 4.3	<p>Transméthylation/méthylation générale en conditions alcalines et acides séquentielles (NaOCH₃)</p> <p>Les AGL sont convertis en EMAG</p>	<p>On-column</p> <p>Avec division/ Sans division</p>	<p>Applicable aux corps gras</p> <p>Déconseillée pour les huiles lauriques</p>	<p>Les EMAG à chaîne courte sont facilement perdus pendant le reflux et la partition entre phase aqueuse saline/phase solvant</p>

Tableau 1 (suite)

Méthode	Principe	Injecteur CG	Note	–
ISO 12966-2, paragraphe 4.4	Transméthylation/méthylation au trifluorure de bore (BF ₃) Le réactif est très toxique. Utiliser uniquement dans des fioles fermées et des sorbonnes Formation d'artéfacts possible	On-column Avec division/ Sans division	La solution méthanolique de BF ₃ à 14 % doit être achetée et n'est pas préparée en raison de sa toxicité La solution a une durée de conservation limitée (vieillessement)	Applicable aux huiles de poisson Non applicable aux composés ayant des groupes oxygène secondaires.
ISO 12966-2, paragraphe 4.5	Acide sulfurique ou acide chlorhydrique en solution méthanolique Formation d'artéfacts possible Évaporation nécessaire, sauf pour les acides gras époxydés	On-column Avec division/ Sans division	Le réactif doit être préparé; estérification dans des conditions d'ébullition dans une ampoule scellée pendant 3 h	Également pour les échantillons ayant une teneur élevée en acides gras libres
ISO 12966-3	Hydroxyde de triméthylsulfonium (TMSH) Des pics perturbateurs dus à des sous-produits de la réaction apparaissent dans le chromatogramme à proximité des signaux associés aux EMAG à chaîne courte.	Injection avec division uniquement possible	La solution de TMSH est une solution prête à l'emploi disponible	Méthode très rapide pour C4 à C26; l'estérification des acides gras libres est d'environ 80 %; formation de faibles quantités d'acides gras <i>trans</i>

(standards.iteh.ai)

5 Colonnes

ISO 12966-1:2014

Au moment de la publication de la présente partie de l'ISO 12966-1, pour la séparation des EMAG, des tubes capillaires ouverts à paroi revêtue (WCOT) sont utilisés car ils offrent de nombreux avantages par rapport à une colonne remplie, notamment des séparations nettement améliorées avec une plus grande résolution, un temps d'analyse réduit, une taille d'échantillon plus petite et des sensibilités plus élevées. Tous ces avantages sont liés à la possibilité d'utiliser de très longues colonnes avec un grand nombre de plateaux théoriques.

La capacité d'échantillon augmente avec le diamètre de la colonne, des diamètres plus faibles permettant d'atteindre une plus grande efficacité et de meilleures résolutions. Par conséquent, pour des échantillons complexes, des colonnes de faible diamètre et de faible capacité d'échantillon sont utilisées. Les diamètres intérieurs (DI) couramment disponibles vont de 0,1 mm (colonne CPG rapide) à 0,53 mm (colonne de grand diamètre); l'épaisseur du film est comprise entre 0,1 µm et 0,3 µm. Le diamètre de la colonne doit être adapté au type de système d'injection de l'échantillon (les colonnes ayant un diamètre intérieur de 0,20 mm, 0,25 mm ou 0,32 mm sont destinées aux systèmes d'injection avec et sans division, celles ayant un diamètre intérieur de 0,32 mm aux injections sans division et on-column et celles ayant un diamètre intérieur de 0,53 mm aux systèmes d'injection directe). La rétention et la capacité d'échantillon augmentent avec l'épaisseur du film, alors que dans le même temps l'efficacité de la colonne diminue. L'épaisseur du film est inversement proportionnelle au nombre de plateaux, mais directement proportionnelle au temps d'analyse. Cela signifie également qu'un film plus épais donne une rétention plus élevée qui nécessite une température du four plus élevée dans des conditions isothermes.

La longueur des colonnes varie de 10 m à 100 m selon la résolution souhaitée et le problème de séparation. Avec des colonnes courtes, des informations limitées, mais rapides, peuvent être obtenues, par exemple pour le contrôle d'un procédé, etc. Différents types de colonnes capillaires avec des phases stationnaires non polaires, polaires et hautement polaires sont utilisés pour la séparation des EMAG. L'ordre d'éluion pour des colonnes de polarité différente est indiqué dans l'ISO 12966-4 (voir Annexe B et Annexe C).

Des colonnes en silice fondue revêtues de phases stationnaires hautement polaires de cyanoalkyl polysiloxane sont utilisées pour l'analyse d'échantillons contenant des mélanges complexes d'isomères