

# PROJET DE NORME INTERNATIONALE

## ISO/DIS 12966-1

ISO/TC 34/SC 11

Secrétariat: BSI

Début de vote:  
2013-09-26

Vote clos le:  
2014-02-26

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

### Partie 1: Directive de chromatographie en phase gazeuse moderne des esters méthyliques d'acides gras

*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*

[Révision de la deuxième édition (ISO 5508:1990) et de la première édition (ISO 15304:2002) ]

ICS: 67.200.10

CE DOCUMENT EST UN PROJET DIFFUSÉ POUR OBSERVATIONS ET APPROBATION. IL EST DONC SUSCEPTIBLE DE MODIFICATION ET NE PEUT ÊTRE CITÉ COMME NORME INTERNATIONALE AVANT SA PUBLICATION EN TANT QUE TELLE.

OUTRE LE FAIT D'ÊTRE EXAMINÉS POUR ÉTABLIR S'ILS SONT ACCEPTABLES À DES FINS INDUSTRIELLES, TECHNOLOGIQUES ET COMMERCIALES, AINSI QUE DU POINT DE VUE DES UTILISATEURS, LES PROJETS DE NORMES INTERNATIONALES DOIVENT PARFOIS ÊTRE CONSIDÉRÉS DU POINT DE VUE DE LEUR POSSIBILITÉ DE DEVENIR DES NORMES POUVANT SERVIR DE RÉFÉRENCE DANS LA RÉGLEMENTATION NATIONALE.

LES DESTINATAIRES DU PRÉSENT PROJET SONT INVITÉS À PRÉSENTER, AVEC LEURS OBSERVATIONS, NOTIFICATION DES DROITS DE PROPRIÉTÉ DONT ILS AURAIENT ÉVENTUELLEMENT CONNAISSANCE ET À FOURNIR UNE DOCUMENTATION EXPLICATIVE.

### TRAITEMENT PARRALLÈLE ISO/CEN

Le présent projet a été élaboré dans le cadre de l'Organisation internationale de normalisation (ISO) et soumis selon le mode de collaboration **sous la direction de l'ISO**, tel que défini dans l'Accord de Vienne.

Le projet est par conséquent soumis en parallèle aux comités membres de l'ISO et aux comités membres du CEN pour enquête de cinq mois.

En cas d'acceptation de ce projet, un projet final, établi sur la base des observations reçues, sera soumis en parallèle à un vote d'approbation de deux mois au sein de l'ISO et à un vote formel au sein du CEN.

Pour accélérer la distribution, le présent document est distribué tel qu'il est parvenu du secrétariat du comité. Le travail de rédaction et de composition de texte sera effectué au Secrétariat central de l'ISO au stade de publication.



Numéro de référence  
ISO/DIS 12966-1:2013(F)

© ISO 2013

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

Full standard:  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e9bad044-e91-44ac-bdca-3a40d0a38324/iso-12966-1-2014>

### Notice de droit d'auteur

Ce document de l'ISO est un projet de Norme internationale qui est protégé par les droits d'auteur de l'ISO. Sauf autorisé par les lois en matière de droits d'auteur du pays utilisateur, aucune partie de ce projet ISO ne peut être reproduite, enregistrée dans un système d'extraction ou transmise sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie, les enregistrements ou autres, sans autorisation écrite préalable.

Les demandes d'autorisation de reproduction doivent être envoyées 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](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Toute reproduction est soumise au paiement de droits ou à un contrat de licence.

Les contrevenants pourront être poursuivis.

## Sommaire

Page

1	Domaine d'application .....	1
2	Références normatives .....	1
3	Principe.....	2
4	Préparation des EMAG.....	2
5	Colonnes .....	4
6	Chromatographie en phase gazeuse (CPG) des EMAG .....	5
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.....	6

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

Full standard:  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e9bad044-e91-44ac-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 (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 12966-1 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 11, *Corps gras d'origines animale et végétale*.

Cette deuxième/troisième/... édition annule et remplace la première/deuxième/... édition (), dont [l' (les) article(s) / le(s) paragraphe(s) / le (les) tableau(x) / la (les) figure(s) / l' (les) annexe(s) a/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: Directive de chromatographie en phase gazeuse moderne des esters méthyliques d'acides gras*

## Introduction

La présente Norme internationale est la partie 1 d'une série de quatre normes 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, les matières grasses à tartiner et les corps gras extraits des produits alimentaires. Les normes ne s'appliquent pas aux matières grasses ou acides gras polymérisés et oxydés.

La partie 1 est une directive de chromatographie en phase gazeuse moderne des esters méthyliques d'acides gras, alors que les parties 2 et 3 traitent de la préparation des esters méthyliques d'acides gras par différentes méthodes. La partie 4 de la présente Norme internationale donne les conditions d'analyse des esters méthyliques d'acides gras par chromatographie en phase gazeuse (CPG).

Cette série de normes remplace les normes 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 12996-4 ;
- l'ISO 5509:2000 est remplacée par l'ISO 12996-2 et l'ISO 12996-3.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
(standards.iteh.ai)  
Full standard:  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e9bad044-c91-44ac-bdca-3a40d0a38324/iso-12966-1-2014>

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

Full standard:  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e9bad044-e91-44ac-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: Directive de chromatographie en phase gazeuse moderne des esters méthyliques d'acides gras

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale 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 mètres à 100 mètres 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, *Corps gras d'origines animale et végétale — Chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras — 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)*

### 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, partie 2 ou 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, l'hydrogène doit être 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.

NOTE 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 ici sont utilisés, par exemple des esters picoliniques ou des diméthyl oxazolidines et autres.

### 4 Préparation des EMAG

Les esters méthyliques d'acides gras doivent être préparés conformément à la partie 2 ou 3 de l'ISO 12966. Un aperçu est donné dans le Tableau 1.

ITeH STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)  
Full standard:  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/e9b04410-c991-44ac-bdca-3a40d0a38324/iso-12966-1-2014>

Tableau 1 — Aperçu des différentes méthodes d'estérification

Méthode	Principe	Injecteur CG	Note	
ISO 12966-2 Paragraphe 4.2	Transméthylation rapide en conditions de catalyse alcalines avec KOH Les AGL ne sont pas convertis en EMAG Risque de formation de savon	On-column Avec division/ Sans division	Applicable aux corps gras contenant des acides gras à partir de l'acide butanoïque (C4:0) Transestérification à température ambiante, évaporation du solvant inutile	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. Les EMAG à chaîne courte sont facilement perdus pendant la partition entre phase aqueuse saline/phase solvant.
ISO 12966-2 Paragraphe 4.3	Transméthylation/méthylation générale en conditions alcalines et acides séquentielles (NaOCH <sub>3</sub> ) Les AGL sont convertis en EMAG	On-column Avec division/ Sans division	Applicable aux corps gras Déconseillée pour les huiles lauriques	Les EMAG à chaîne courte sont facilement perdus pendant le reflux et la partition entre phase aqueuse saline/phase solvant.
ISO 12966-2 Paragraphe 4.4	Transméthylation/méthylation au trifluorure de bore (BF <sub>3</sub> ) 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 <sub>3</sub> 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, aux matières grasses laitières et aux matières grasses laitières contenant des corps gras et des cires
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> .