

---

---

**Détermination de la composition  
en triglycérides des corps gras —  
Détermination par chromatographie  
en phase gazeuse sur colonne  
capillaire**

*Determination of the triacylglycerol composition of fats and oils —  
Determination by capillary gas chromatography*  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO/TS 17383:2014](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/98434df9-c128-45bf-9d13-e27c2fdd0022/iso-ts-17383-2014)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/98434df9-c128-45bf-9d13-  
e27c2fdd0022/iso-ts-17383-2014](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/98434df9-c128-45bf-9d13-e27c2fdd0022/iso-ts-17383-2014)



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

ISO/TS 17383:2014

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/98434df9-c128-45bf-9d13-e27c2fdd0022/iso-ts-17383-2014>



**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](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

## Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
<b>1</b> <b>Domaine d'application</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b> <b>Références normatives</b> .....	<b>1</b>
<b>3</b> <b>Termes et définitions</b> .....	<b>1</b>
<b>4</b> <b>Principe</b> .....	<b>1</b>
<b>5</b> <b>Réactifs</b> .....	<b>2</b>
<b>6</b> <b>Appareillage</b> .....	<b>2</b>
<b>7</b> <b>Échantillonnage</b> .....	<b>3</b>
<b>8</b> <b>Préparation de l'échantillon pour essai</b> .....	<b>3</b>
<b>9</b> <b>Mode opératoire</b> .....	<b>3</b>
9.1    Purification des échantillons (le cas échéant).....	3
9.2    Séparation des triglycérides individuels par GC.....	3
9.3    Identification.....	4
9.4    Vérification des coefficients de réponse.....	4
<b>10</b> <b>Calculs</b> .....	<b>4</b>
<b>11</b> <b>Fidélité</b> .....	<b>5</b>
11.1   Essais interlaboratoires.....	5
11.2   Limite de répétabilité ( <i>r</i> ).....	5
11.3   Limite de reproductibilité ( <i>R</i> ).....	5
<b>12</b> <b>Rapport d'essai</b> .....	<b>5</b>
<b>Annexe A</b> (informative) <b>Chromatogrammes</b> .....	<b>6</b>
<b>Annexe B</b> (informative) <b>Résultats des essais interlaboratoires</b> .....	<b>10</b>

## 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](http://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](http://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.

(standards.iteh.ai)

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.

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*.

# Détermination de la composition en triglycérides des corps gras — Détermination par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire

## 1 Domaine d'application

La présente Spécification technique décrit le mode opératoire pour la détermination, par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire, de la composition qualitative et semi-quantitative des triglycérides individuels présents dans les corps gras et leurs mélanges. La séparation des triglycérides repose sur leur rétention qui dépend du nombre de carbones des acides gras des triglycérides et de leur degré d'insaturation.

La présente Spécification technique s'applique aux corps gras d'origines animale et végétale, ainsi qu'aux mélanges de triglycérides naturels et synthétiques, dans la mesure où

- la composition en acides gras du corps gras ne contient pas une teneur élevée en acide linoléique (l'huile de lin, par exemple) et
- la longueur totale de la chaîne n'excède pas 60 atomes de carbone.

NOTE Si les résultats attendus sont d'ordre quantitatif, les coefficients de réponse de plusieurs triglycérides doivent être vérifiés car l'augmentation du degré d'insaturation des triglycérides réduit la sensibilité.

## 2 Références normatives

ISO/TS 17383:2014

Les documents ci-après, dans leur intégralité ou non, sont des références normatives indispensables à 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

#### **proportion du triglycéride ou du groupe de triglycérides**

composition du mélange de triglycérides exprimée en pourcentage d'aire, en considérant que l'aire totale des pics des triglycérides est normalisée à 100 %

## 4 Principe

Les triglycérides de polarités différentes sont séparés par chromatographie en phase gazeuse sur une colonne capillaire contenant une phase stationnaire fortement polaire, sans autre préparation des échantillons. Après normalisation de toutes les aires des pics, la teneur des triglycérides d'intérêt élués au même temps de rétention est exprimée sous forme de proportion (pourcentage) de la somme de toutes les aires de pics exprimées en pour-cent.

## 5 Réactifs

**AVERTISSEMENT** — L'attention des lecteurs est attirée sur les règles qui spécifient la manipulation des substances dangereuses. Les mesures de sécurité sur les plans technique, organisationnel et personnel doivent être suivies.

Sauf indication contraire, les réactifs utilisés doivent être analytiquement purs.

5.1 **n-hexane**, de qualité analytique.

5.2 **Éther diéthylique**, de qualité analytique.

5.3 **Mélange de solvants hexane/éther diéthylique**, fraction volumique d'hexane  $\varphi = 87$  ml/100 ml, fraction volumique d'éther diéthylique  $\varphi = 13$  ml/100 ml.

5.4 **Isooctane**, de qualité analytique.

5.5 **Substances de référence**, triglycérides (tripalmitine, tristéarine, trioléine, trilinoléine, etc.) et corps gras d'origines végétale et animale de composition connue.

5.6 **Air synthétique**, approprié pour la chromatographie en phase gazeuse.

5.7 **Hydrogène**, adapté à la chromatographie en phase gazeuse.

## 6 Appareillage

6.1 **Flacons d'injection pour GC**, [ISO/TS 17383:2014](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/98434d9-c128-45bf-9d13-e27c2fdd0022/iso-ts-17383-2014)  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/98434d9-c128-45bf-9d13-e27c2fdd0022/iso-ts-17383-2014>

6.2 **Chromatographe en phase gazeuse (GC)**, équipé d'un système d'injection à froid sur colonne (on-column) et d'un détecteur à ionisation de flamme (FID).

NOTE D'autres systèmes d'injection, par exemple un injecteur à débit divisé, un vaporisateur à température programmable (PTV) ou un injecteur à aiguille mobile, peuvent être employés à condition qu'ils produisent les mêmes résultats que ceux indiqués en [Annexe A](#).

6.3 La séparation et la détection se sont avérées satisfaisantes lorsque les conditions expérimentales suivantes sont satisfaites:

- Colonne capillaire pour GC haute température: silice fondue revêtue de phénylméthylpolysiloxane à 50 % à 65 % thermostable, 25 m à 30 m (longueur) × 0,25 (diamètre intérieur), épaisseur de film de 0,1  $\mu\text{m}$  à 0,15  $\mu\text{m}$ .
- Programme de température: maintien à 100 °C pendant 1 min (température initiale), passage de 100 °C à 325 °C à 30 °C/min, de 325 °C à 345 °C à 1 °C/min, de 345 °C à 370 °C à 5 °C/min, maintien à 370 °C pendant 5 min (température finale).
- Gaz vecteur: hydrogène (pureté  $\geq 99,999$  %).

NOTE Il convient d'employer des conditions opératoires et un type de colonne GC permettant d'obtenir des résultats identiques à ceux indiqués en [Annexe A](#).

6.4 **Microseringue pour GC**, volume d'injection 1  $\mu\text{l}$  à 2  $\mu\text{l}$ .

6.5 **Pipettes**, de 1 ml.

- 6.6 Balance d'analyse**, offrant une précision de lecture de 0,1 mg.
- 6.7 Fioles jaugées**, de 10 ml.
- 6.8 Cartouches de gel de silice pour extraction en phase solide**, de 1 g (6 ml).
- 6.9 Évaporateur rotatif**.
- 6.10 Micropipette**.

## 7 Échantillonnage

Il convient de transmettre au laboratoire un échantillon représentatif. Il convient également que cet échantillon n'ait pas été endommagé ou modifié lors du transport ou du stockage.

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente Spécification technique. Une méthode d'échantillonnage recommandée est donnée dans l'ISO 5555.

## 8 Préparation de l'échantillon pour essai

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

Chauffer les corps gras solides et semi-solides à des températures légèrement supérieures à leur point de fusion jusqu'à ce qu'ils soient parfaitement limpides, puis bien les mélanger. Filtrer les échantillons liquides ou fondus, ou leurs solutions, s'ils contiennent encore une contamination visible.

## 9 Mode opératoire

ISO/TS 17383:2014

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/98434df9-c128-45bf-9d13-e27c2fdd0022/iso-ts-17383-2014>

### 9.1 Purification des échantillons (le cas échéant)

Il convient de fractionner au préalable les échantillons contenant des monoglycérides, des diglycérides, des acides gras libres ou des graisses polymérisées en proportions plus élevées, par chromatographie sur colonne préparative, selon le mode opératoire ci-après.

Laver une cartouche de gel de silice pour SPE (6.8) avec 6 ml d'hexane. Placer un flacon conique sous la cartouche. Introduire une solution de l'échantillon (environ 0,12 g) dans 0,5 ml d'hexane (5.1) dans la colonne, puis éluer la fraction de triglycérides avec 10 ml du mélange de solvants (5.3) hexane-éther diéthylique (87:13 v/v). Évaporer à sec le solvant élué, dans un évaporateur rotatif (6.9) sous pression réduite, à température ambiante.

NOTE Les corps gras peuvent également être purifiés sur colonne de gel de silice, comme décrit dans l'ISO 8420.

### 9.2 Séparation des triglycérides individuels par GC

Préparer une solution de l'échantillon dans l'isooctane, à environ 0,50 mg/ml (5.4). Peser 50 mg de l'échantillon dans une fiole jaugée de 10 ml (6.7) et compléter au volume avec de l'isooctane (5.4). Transférer à la pipette 1 ml (6.5) de la solution résultante dans une autre fiole jaugée de 10 ml (6.7) et compléter au volume avec le même solvant.

Injecter 1,0 µl de la solution pour essai finale dans le système de GC au moyen du système d'injection à froid sur colonne.

Les conditions opératoires employées (température) doivent permettre de séparer de façon satisfaisante les triglycérides en C50 (POP/PLP), les triglycérides en C52 (POS/POO/PLO) et les triglycérides en C54 (SOO/OOO/OLO), tel qu'illustré en Annexe A.

### 9.3 Identification

Pour identifier les pics du chromatogramme en phase gazeuse, les temps de rétention relatifs, par rapport à la tripalmitine par exemple, doivent être comparés à ceux des substances d'essai.

En général, l'ordre d'apparition des triglycérides suit un nombre d'atomes de carbone croissant et, pour un même nombre d'atomes de carbone, un degré d'insaturation croissant. L'ordre d'élution des triglycérides est indiqué dans les chromatogrammes donnés à titre d'exemple ([Annexe A](#)).

### 9.4 Vérification des coefficients de réponse

Préparer une solution des substances de référence (5.5) à environ 0,1 mg/ml dans l'isooctane (5.4). Peser 50 mg de l'échantillon dans une fiole jaugée de 10 ml (6.7) et compléter au volume avec de l'isooctane (5.4). Transférer à la pipette 0,2 ml (6.10) de la solution résultante dans une autre fiole jaugée de 10 ml (6.7) et compléter au volume avec le même solvant.

Injecter 1,0 µl de la solution pour essai finale dans le système de GC au moyen du système d'injection à froid sur colonne.

Calculer le coefficient de réponse comme le rapport de l'aire de la tripalmitine sur l'aire du triglycéride vérifié:

$$F_{\text{TGi}} = \frac{A_{\text{PPP}}}{A_{\text{TGi}}} \quad (1)$$

où

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

$F_{\text{TGi}}$  est le coefficient de réponse du triglycéride  $i$ ;

$A_{\text{TGi}}$  est l'aire de pic du triglycéride  $i$ ; [ISO/TS 17383:2014](#)

$A_{\text{PPP}}$  est l'aire du pic de la tripalmitine. <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/98434d9-c128-45bf-9d13-c27c2fdd0022/iso-ts-17383-2014>

## 10 Calculs

Calculer la composition du mélange sous la forme d'un pourcentage d'aire, en intégrant tous les pics du chromatogramme. Les pics inconnus sont rassemblés dans une catégorie nommée «autres TAG». L'hypothèse préalable au calcul selon la méthode des 100 % est que tous les groupes de triglycérides de l'échantillon sont parfaitement séparés dans le chromatogramme en phase gazeuse, avec la même réponse.

Calcul des groupes de triglycérides individuels d'après la Formule (2) suivante:

$$C_{\text{TGi}} = \frac{A_{\text{TGi}}}{A_{\text{T}}} \times 100 \quad (2)$$

où

$C_{\text{TGi}}$  est la proportion du triglycéride ou du groupe de triglycérides  $i$ , en %;

$A_{\text{TGi}}$  est l'aire de pic du triglycéride  $i$ ;

$A_{\text{T}}$  est la somme des aires de pics de tous les triglycérides ( $\Sigma A_{\text{TGi}}$ ).

**NOTE** L'analyse quantitative ne nécessite pas de corriger les aires de pics au moyen des coefficients de réponse, dès lors que la vérification du coefficient de réponse produit des valeurs inférieures ou égales à 1,2 pour les triglycérides présents dans l'échantillon. Par exemple, la valeur estimée du coefficient de réponse de la trioléine est de 1,18.



## 11 Fidélité

### 11.1 Essais interlaboratoires

Les détails d'un essai interlaboratoires relatif à la fidélité de la méthode sont résumés dans l'[Annexe B](#). Les valeurs obtenues à partir de cet essai peuvent ne pas s'appliquer aux plages de concentrations et matrices autres que celles indiquées.

### 11.2 Limite de répétabilité ( $r$ )

La limite de répétabilité ( $r$ ) est la valeur au-dessous de laquelle ou à laquelle on doit s'attendre à ce que se situe, avec une probabilité de 95 %, la différence absolue entre deux résultats d'essai obtenus dans des conditions de répétabilité.

Les conditions de répétabilité sont les conditions pour lesquelles des résultats d'essai indépendants sont obtenus à l'aide de la même méthode sur des matériaux d'essai identiques, dans le même laboratoire par le même opérateur utilisant le même appareillage dans un court intervalle de temps.

### 11.3 Limite de reproductibilité ( $R$ )

La limite de reproductibilité ( $R$ ) est la valeur au-dessous de laquelle ou à laquelle on doit s'attendre à ce que se situe, avec une probabilité de 95 %, la différence absolue entre deux résultats d'essai obtenus dans des conditions de reproductibilité.

Les conditions de reproductibilité sont les conditions pour lesquelles des résultats d'essai indépendants sont obtenus à l'aide de la même méthode sur des matériaux d'essai identiques, dans des laboratoires différents par des opérateurs différents utilisant des appareillages différents.

## 12 Rapport d'essai

ISO/TS 17383:2014

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/98434d9-c128-45bf-9d13-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/98434d9-c128-45bf-9d13-e27c2fd0022/iso-ts-17383-2014)

[e27c2fd0022/iso-ts-17383-2014](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/98434d9-c128-45bf-9d13-e27c2fd0022/iso-ts-17383-2014)

Le rapport d'essai doit comporter les informations suivantes:

- la méthode selon laquelle l'échantillonnage a été réalisé (si elle est connue);
- la méthode utilisée;
- le(s) résultat(s) d'essai obtenu(s);
- si la répétabilité a été vérifiée, le résultat final obtenu.

Il doit également mentionner tous les détails de fonctionnement non spécifiés dans la présente Spécification technique, ou considérés comme facultatifs, ainsi que les détails de tous les incidents susceptibles d'avoir influencé le(s) résultat(s). Le rapport d'essai doit inclure toutes les informations nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

## Annexe A (informative)

### Chromatogrammes

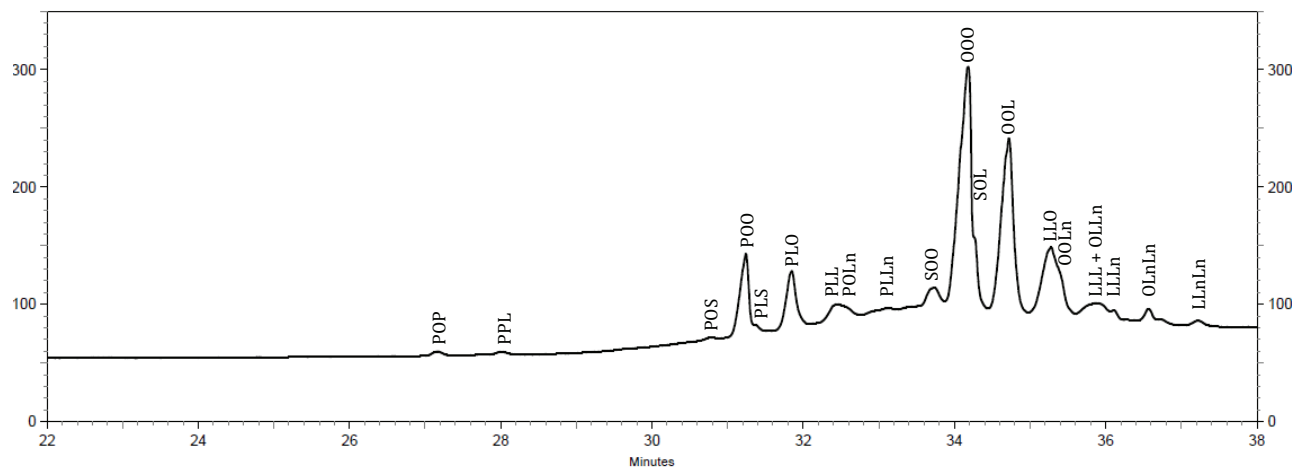
Conditions expérimentales:	Colonne de CG: 30 m x 0,25 mm, colonne capillaire en silice fondue, revêtue d'un film 0,1 µm de Restek RTX65TG
Température du four:	maintien à 100 °C pendant 1 min, montée de 100 °C à 325 °C à 30 °C/min, de 325 °C à 345 °C à 1 °C/min, de 345 °C à 370 °C à 5 °C/min, maintien à 370 °C pendant 5 min.
Injecteur:	injecteur à froid sur colonne (on-column)
Détecteur (FID):	370 °C
Gaz vecteur:	H <sub>2</sub> à 1,1 ml/min
Volume d'injection:	1 µl d'une solution à 0,25 mg/ml

Voir les [Figures A.1](#) à [A.5](#) pour des exemples de chromatogrammes.

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

[ISO/TS 17383:2014](#)

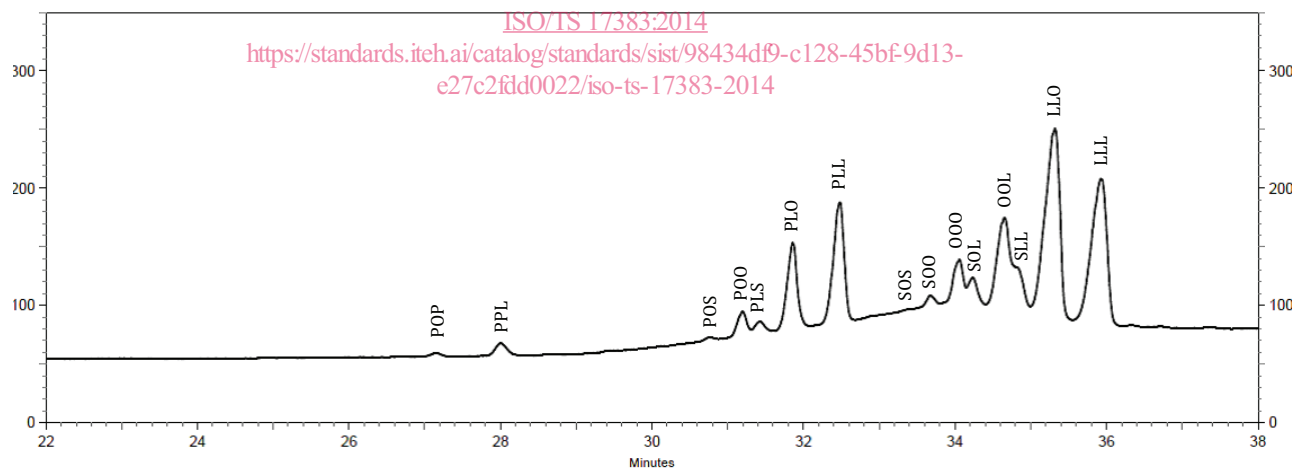
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/98434d9-c128-45bf-9d13-e27c2fdd0022/iso-ts-17383-2014>



### Légende

- P palmitique
- S stéarique
- O oléique
- L linoléique
- Ln linoléique

**Figure A.1 — Profil des triglycérides de l'huile de colza  
(standards.iteh.ai)**



### Légende

- P palmitique
- S stéarique
- O oléique
- L linoléique
- Ln linoléique

**Figure A.2 — Profil des triglycérides de l'huile de tournesol**