

Première édition
2014-07-15

Version corrigée
2015-05-15

**Détermination de la teneur en stérols
individuels et totaux — Méthode par
chromatographie en phase gazeuse —**

**Partie 1:
Corps gras d'origines animale et
végétale**

iTeh STANDARD PREVIEW

(standards.iteh.ai)
*Determination of individual and total sterols contents — Gas
chromatographic method —*

Part 1: Animal and vegetable fats and oils

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/80e55fc8-9130-41d8-9958-0f079a8974b9/iso-12228-1-2014>



Numéro de référence
ISO 12228-1:2014(F)

© ISO 2014

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 12228-1:2014](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/80e55fc8-9130-41d8-9958-0f079a8974b9/iso-12228-1-2014)
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/80e55fc8-9130-41d8-9958-0f079a8974b9/iso-12228-1-2014>



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
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	1
5 Réactifs	2
6 Appareillage	3
7 Échantillon	3
7.1 Échantillonnage.....	3
7.2 Préparation de l'échantillon pour essai.....	4
8 Mode opératoire	4
8.1 Préparation de la colonne d'oxyde d'aluminium.....	4
8.2 Prise d'essai.....	4
8.3 Extraction de l'insaponifiable.....	4
8.4 Chromatographie sur couche mince.....	4
8.5 Isolement des stérols.....	4
8.6 Préparation des triméthylsilyléthers stéroliques.....	5
8.7 Chromatographie en phase gazeuse.....	5
9 Expression des résultats	5
9.1 Identification des stérols.....	5
9.2 Composition des stérols.....	6
9.3 Détermination de la teneur en stérols totaux.....	6
10 Fidélité	7
10.1 Essai interlaboratoires.....	7
10.2 Limite de répétabilité, r	7
10.3 Limite de reproductibilité, R	7
11 Rapport d'essai	7
Annexe A (informative) Figures	9
Annexe B (informative) Essai interlaboratoires	16
Bibliographie	25

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](http://standards.iteh.ai/catalog/standards/sis/80e551e8-9150-41d8-9958-0f079a8974b9/iso-12228-1-2014).

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 12228-2, cette première édition de l'ISO 12228-1 annule et remplace l'ISO 12228:1999, qui a fait l'objet d'une révision technique.

L'ISO 12228 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Détermination de la teneur en stérols individuels et totaux — Méthode par chromatographie en phase gazeuse*:

- *Partie 1: Corps gras d'origines animale et végétale*
- *Partie 2: Huile d'olive et huile de grignons d'olive*

La présente version corrigée de l'ISO 12228-1: 2014 incorpore les corrections suivantes:

- À l'[Annexe B](#), les données figurant dans les tableaux ont été modifiées et un nouveau tableau pour le β -Sitostérol ([Tableau B.11](#)) a été ajouté.

Détermination de la teneur en stérols individuels et totaux — Méthode par chromatographie en phase gazeuse —

Partie 1: Corps gras d'origines animale et végétale

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 12228 spécifie un mode opératoire de détermination, par chromatographie en phase gazeuse, de la teneur et de la composition des stérols contenus dans les corps gras d'origines animale et végétale. Toutefois, la détermination de la teneur et de la composition des stérols contenus dans les huiles d'olive et de grignons d'olive doit être réalisée en utilisant l'ISO 12228-2.

2 Références normatives

Les documents suivants, en tout ou partie, sont référencés de manière normative dans le présent document et sont indispensables pour 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 661, *Corps gras d'origines animale et végétale — Préparation de l'échantillon pour essai*

ISO 3696, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

3.1

composition des stérols

composition des stérols individuels contenus dans l'échantillon, en commençant par le cholestérol et en terminant par le Δ^7 -avénastérol (voir le [Tableau 1](#)), dans les conditions spécifiées par la présente partie de l'ISO 12228

Note 1 à l'article: La composition est exprimée en pourcentage d'aire de pic, ramenée à 100 %.

3.2

teneur en stérol total

masse de la somme de tous les stérols individuels, déterminée selon la méthode spécifiée dans la présente partie de l'ISO 12228, en commençant par le cholestérol et en terminant par le Δ^7 -avénastérol (voir le [Tableau 1](#)), divisée par la masse de la prise d'essai

Note 1 à l'article: La teneur est exprimée en milligrammes par kilogramme.

4 Principe

Saponification à reflux d'une prise d'essai par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium. Isolement de l'insaponifiable par extraction en phase solide sur une colonne d'oxyde d'aluminium. Utilisation de cette colonne pour retenir les anions d'acides gras tandis que les stérols traversent la colonne. Séparation de la fraction stérolique de l'insaponifiable par chromatographie sur couche

mince, puis détermination de la composition qualitative et quantitative de la fraction stérolique par chromatographie en phase gazeuse, en utilisant du cholestanol ou de la bétuline comme étalon interne.

5 Réactifs

AVERTISSEMENT — L'attention est attirée sur les réglementations qui spécifient la manipulation des substances dangereuses. Les mesures de sécurité d'ordre technique, organisationnel et personnel doivent être respectées.

Sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue, et de l'eau de qualité 3, conformément à l'ISO 3696[1].

5.1 Hydroxyde de potassium (KOH), solution éthanolique, avec une concentration molaire $c(\text{KOH})$ d'environ 0,5 mol/l.

Dissoudre 3 g d'hydroxyde de potassium dans 5 ml d'eau et diluer à 100 ml avec de l'éthanol (5.3). Il convient que la solution soit incolore ou de couleur paille.

5.2 Solution étalon interne, cholestanol (5 α -cholestan-3 β -ol) ou bétuline, avec une fraction volumique de la solution à 1,0 mg/ml dans de l'éthanol (voir la Note en 5.10).

NOTE En cas d'huiles hydrogénées, susceptibles de contenir du cholestanol, il est recommandé d'utiliser de la bétuline (pic 17 du Tableau 1).

5.3 Éthanol, de fraction volumique minimale $\varphi = 95\%$.

5.4 Oxyde d'aluminium, neutre, de granulométrie comprise entre 0,063 mm et 0,200 mm, d'activité I (teneur en eau = 0 %).

ISO 12228-1:2014

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/80e55fc8-9130-41d8-9958-999999999999/iso-12228-1-2014>

5.5 Éther diéthylique, fraîchement distillé, exempt de peroxydes et de résidus.

AVERTISSEMENT — L'éther diéthylique est hautement inflammable et peut engendrer la formation de peroxydes explosifs. Les limites d'explosion dans l'air sont comprises entre 1,7 % et 48 % (fraction volumique). Des précautions particulières doivent être prises lors de l'utilisation de cette substance. Tenir à l'écart des sources de chaleur et des rayons du soleil.

5.6 Plaques de chromatographie sur couche mince (CCM) au gel de silice, disponibles dans le commerce mesurant 20 cm x 20 cm, l'épaisseur de la couche étant de 0,25 mm.

5.7 Solvant de développement, hexane/éther diéthylique.

La fraction volumique de chaque solvant est de 50 ml/100 ml.

5.8 Solution étalon pour chromatographie sur couche mince, avec une fraction volumique de 1,0 mg/ml de cholestérol/cholestanol dans de l'acétone ou 5,0 mg/l de bétuline dans de l'acétone.

NOTE 1 Le cholestérol et le cholestanol ont la même valeur R_f (0,35) en CCM tandis que la valeur R_f de la bétuline est de 0,30 (voir la Figure A.1).

NOTE 2 En cas d'huiles hydrogénées, susceptibles de contenir du cholestanol, il est recommandé d'utiliser de la bétuline (pic 17 du Tableau 1).

5.9 Réactif de révélation, méthanol.

5.10 Réactif silylant, préparé en ajoutant 50 μl de 1-méthylimidazole à 1 ml de N-méthyl-N-(triméthylsilyl)-heptafluorobutyramide (MSHFBA).

NOTE Des solutions prêtes à l'emploi sont disponibles dans le commerce. D'autres réactifs de silylation, par exemple le bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide avec 1 % de triméthylchlorosilane, sont également disponibles et peuvent être utilisés lorsque le cholestanol est utilisé comme étalon interne. Toutefois, des précautions particulières doivent être prises avec la bétuline pour s'assurer que les deux groupes hydroxyle de la bétuline sont silylés. Dans le cas contraire, la bétuline peut présenter deux pics sur le chromatogramme.

6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et, en particulier, ce qui suit.

- 6.1 Ballons**, de 25 ml et 50 ml de capacité, à col rodé.
- 6.2 Réfrigérant à reflux**, muni d'un joint rodé s'adaptant aux ballons (6.1).
- 6.3 Colonne en verre**, munie d'un robinet en polytétrafluoroéthylène (PTFE), d'un verre fritté et d'un réservoir d'une capacité de 100 ml, mesurant 25 cm de longueur et 1,5 cm de diamètre interne.
- 6.4 Évaporateur rotatif**, relié à une pompe à vide, avec un bain-marie maintenu à 40 °C.
- 6.5 Cuve de développement**, en verre, muni d'un couvercle en verre rodé, pouvant être utilisé avec des plaques de 20 cm x 20 cm.
- 6.6 Microseringue**, de 100 µl de capacité.
- 6.7 Étuve**, maintenue à 105 °C ± 3 °C.
- 6.8 Dessiccateur**, contenant un déshydratant pour la conservation des plaques.
- 6.9 Tubes de réaction**, de 0,3 ml à (1,0 à 1,5) ml de capacité, munie d'un bouchon à vis et d'un joint d'étanchéité en PTFE, servant à la préparation des dérivés des stérols.
- 6.10 Chromatographe en phase gazeuse**, équipé pour colonnes capillaires, avec injecteur-diviseur, détecteur à ionisation de flamme et enregistreur adéquat.
- 6.11 Colonne capillaire**, en silice fondue ou en verre, de 25 m à 60 m de longueur, de 0,2 mm à 0,25 mm de diamètre intérieur, à phase stationnaire SE-54 (ou phase non polaire équivalente, avec une température limite d'au moins 280 °C à 300 °C); film d'environ 0,1 µm d'épaisseur.

NOTE Une meilleure résolution des pics est obtenue avec un film de 0,1 µm d'épaisseur.

- 6.12 Microseringue pour chromatographie en phase gazeuse**, destinée à injecter des volumes de 1 µl.
- 6.13 Balance analytique**, capable de peser à 0,001 g près et d'afficher les valeurs à 0,000 1 g près.

7 Échantillon

7.1 Échantillonnage

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente partie de l'ISO 12228. 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.

7.2 Préparation de l'échantillon pour essai

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

8 Mode opératoire

8.1 Préparation de la colonne d'oxyde d'aluminium

Mettre en suspension 10 g d'oxyde d'aluminium (5.4) dans 20 ml d'éthanol (5.3) et verser la bouillie obtenue dans la colonne en verre (6.3). Laisser reposer l'oxyde d'aluminium et le solvant s'écouler hors de la colonne, jusqu'à ce que le niveau du solvant atteigne le sommet de la couche d'oxyde d'aluminium.

8.2 Prise d'essai

Peser, à 1 mg près, environ 250 mg de l'échantillon pour essai et les introduire dans un ballon de 25 ml (6.1). Passer au [paragraphe 8.3](#).

Dans le cas des corps gras présentant une faible teneur en stérols (par exemple, moins de 2 000 mg par kilogramme) ou pour d'autres raisons, poursuivre en utilisant une quantité trois fois plus élevée d'échantillon pour essai. Ajuster les réactifs et l'appareillage en conséquence.

8.3 Extraction de l'insaponifiable

Ajouter exactement 1,00 ml de solution étalon interne (5.2) à la prise d'essai (8.2). Ajouter 5 ml de solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (5.1), ainsi que quelques granules régulateurs d'ébullition. Relier le réfrigérant à reflux (6.2) au ballon et porter lentement son contenu à ébullition pendant 15 min. Arrêter de chauffer. Diluer immédiatement le contenu du ballon, pendant qu'il est encore chaud, avec 5 ml d'éthanol (5.3) et faire tourner ou agiter pour obtenir l'homogénéisation.

Prélever, à l'aide d'une pipette, 5 ml de cette solution et les verser dans la colonne d'oxyde d'aluminium (8.1). Recueillir la substance résultant de l'éluion dans un ballon de 50 ml (6.1) et laisser reposer la colonne jusqu'à ce que le niveau du solvant ait atteint la tête de la colonne d'oxyde d'aluminium. Procéder à l'éluion de l'insaponifiable, en utilisant tout d'abord 5 ml d'éthanol (5.3), puis avec 30 ml d'éther diéthylique (5.5), en appliquant un débit d'environ 2 ml/min. Évaporer les solvants contenus dans le ballon, à l'aide de l'évaporateur rotatif (6.4).

AVERTISSEMENT — L'emploi de la colonne d'oxyde d'aluminium est fondamental pour ce mode opératoire. Elle ne doit pas être remplacée par des colonnes de silice ou d'autres colonnes ni par d'autres solvants d'extraction.

8.4 Chromatographie sur couche mince

Dissoudre l'insaponifiable obtenu en 8.3 dans une petite quantité (environ 0,5 ml) d'éther diéthylique (5.5). Appliquer la solution sous forme de bande, à une distance de 2 cm du bord inférieur d'une plaque CCM (5.6), en utilisant la microseringue (6.6). Laisser un espace d'au moins 3 cm de chaque bord de la plaque. Appliquer une goutte de 5 µl de solution étalon CCM (5.8) à 1,5 cm du bord. Remplir la cuve de développement (6.5) avec environ 100 ml de solvant de développement (5.7). Mettre la plaque dans la cuve et procéder au développement jusqu'à ce que le solvant atteigne le bord supérieur. Ôter la plaque de la cuve et laisser le solvant s'évaporer sous une hotte aspirante.

NOTE Il n'est pas nécessaire, à ce stade, de procéder au transvasement quantitatif du matériau (8.3) sur la plaque CCM. Il est possible d'utiliser un appareillage automatique pour l'application des dépôts d'échantillons. Aucune chambre de saturation n'est nécessaire.

8.5 Isolement des stérols

Vaporiser les plaques avec du méthanol (5.9) jusqu'à ce que la couleur blanche des zones stérolique (et bétulinique) ressorte sur un fond translucide (plus sombre). Le cholestanol fait partie de la zone des Δ^5 -

stérols (voir la [Figure A.1](#)). Marquer les zones à hauteur des dépôts d'étalon, 2 mm au-dessus et 4 mm au-dessous des zones visibles (voir la [Figure A.1](#)). Gratter entièrement cette partie de la couche à l'aide d'une spatule et recueillir quantitativement la silice dans un bécher de faible capacité.

NOTE 1 La marge plus grande prise sur le bord inférieur des zones visibles (4 mm contre 2 mm sur le bord supérieur) est une précaution visant à éviter les pertes partielles de bétuline à ce stade. L'huile de tournesol peut présenter trois bandes ($\Delta 5$ -stérols, $\Delta 7$ -stérols et bétuline).

NOTE 2 La bétuline, si elle est utilisée comme étalon interne, apparaît légèrement en dessous de la zone des stérols (voir la [Figure A.1](#)).

Ajouter 0,5 ml d'éthanol au gel de silice recueilli. Procéder à l'extraction du gel de silice à l'intérieur du bécher, à trois reprises, en utilisant 5 ml d'éther diéthylique ([5.5](#)) et en le filtrant dans un ballon ([6.1](#)). Réduire les extraits d'éther combinés à environ 1 ml à l'aide de l'évaporateur rotatif ([6.4](#)) et transvaser la solution restante dans le tube de réaction ([6.9](#)). Éliminer le solvant contenu dans le tube de réaction en appliquant un courant d'azote.

8.6 Préparation des triméthylsilyléthers stéroliques

Ajouter 100 μ l de réactif silylant ([5.10](#)) dans le tube de réaction ([6.9](#)) contenant les stérols isolés. Obturer et faire chauffer le tube pendant 15 min à l'intérieur de l'étuve à (105 ± 3) °C. Laisser le flacon de réaction refroidir à la température ambiante et injecter directement la solution dans le chromatographe en phase gazeuse ([6.10](#)).

8.7 Chromatographie en phase gazeuse

Optimiser le programme de température et le débit du courant gazeux, de façon à obtenir des chromatogrammes similaires à ceux des [Figures A.2](#) à [A.7](#). Faire un essai de séparation à l'aide des fractions de stérols silylés provenant d'huiles connues, comme indiqué aux [Figures A.2](#) à [A.7](#).

NOTE 1 Les paramètres suivants ont fait l'objet d'essais et se sont révélés satisfaisants (voir les chromatogrammes de l'[Annexe A](#)): colonne de CPG: SE-54, 50 m de longueur, 0,25 mm de diamètre intérieur, 0,10 μ m d'épaisseur de film; gaz vecteur: H₂, vitesse du gaz vecteur: 36 cm/s, division: 1:20, détecteur/injecteur: 320 °C, programme de température: entre 245 °C et 265 °C à 5 °C/min, isotherme à 265 °C pendant 40 min; volume injecté: 1 μ l. Des colonnes capillaires de qualité équivalente peuvent être utilisées.

NOTE 2 Il est possible d'employer une solution étalon contenant du cholestérol, du campestérol, du stigmastérol et du sitostérol pour contrôler les temps de rétention. Effectuer un essai à blanc (par exemple cholestérol) afin de dépister une contamination éventuelle provenant des solvants, des parois de verre, du filtre, des empreintes de doigts, etc.

9 Expression des résultats

9.1 Identification des stérols

Pour identifier les stérols présents dans l'échantillon pour essai, déterminer les temps de rétention relatifs (TRR) en divisant le temps de rétention (TR) du stérol concerné par le TR du cholestérol et/ou de la bétuline. Le [Tableau 1](#) indique les TRR des différents stérols correspondant respectivement au cholestérol (TRR_C) et à la bétuline (TRR_B), avec la phase stationnaire SE-54.

NOTE Les TRR mentionnés dans le [Tableau 1](#) (déterminés selon les conditions de la Note 1 en [8.7](#)) ont uniquement pour but de favoriser l'identification des stérols individuels et d'illustrer la séquence d'éluion (voir également la [Figure A.1](#)). Les valeurs de TRR réelles peuvent s'écarter légèrement des TRR mentionnés dans le [Tableau 1](#), du fait de la variabilité du TRR en fonction des conditions expérimentales (type et longueur de la colonne CPG, programme de température et qualité de la phase stationnaire).

9.2 Composition des stérols

Calculer la masse w_i , du stérol i , en g/100 g (pourcentage), à l'aide de l'équation suivante:

$$w_i = \frac{A_i}{\sum A} \cdot 100 \quad (1)$$

où

A_i est l'aire de pic du stérol i ;

$\sum A$ est la somme des aires de pic relatives à l'ensemble des stérols (pics 1, 3 à 16 ou 1 à 16, si de la bétuline est utilisée).

Tableau 1 — Identification par TRR des pics de chromatographie en phase gazeuse des stérols individuels et de la bétuline (phase stationnaire SE-54)

Pic n°	Dénominations usuelles des stérols	Dénominations systématiques des stérols	TRR _C	TRR _B
1	Cholestérol	Cholest-5-en-3β-ol	1,00	0,44
2	Cholestanol	5α-Cholestan-3β-ol	1,02	0,45
3	Brassicastérol	[24S]-24-Méthyl-cholesta-5,22-dien-3β-ol	1,09	0,48
4	24-Méthylène cholestérol	24-Méthylène-cholesta-5,24-dien-3β-ol	1,21	0,53
5	Campestérol	[24R]-24-Méthyl-cholest-5-en-3β-ol	1,23	0,54
6	Campestanol	[24R]-24-Méthyl-cholestan-3β-ol	1,25	0,55
7	Stigmastérol	[24S]-24-Éthyl-cholesta-5,22-dien-3β-ol	1,31	0,57
8	Δ7-Campestérol	[24R]-24-Méthyl-cholest-7-en-3β-ol	1,38	0,59
9	Δ5,23-Stigmastadiérol	[24R,S]-24-Éthyl-cholesta-5,23-dien-3β-ol	1,40	0,60
10	Clérostérol	[24S]-24-Éthyl-cholesta-5,25-dien-3β-ol	1,42	0,62
11	Sitostérol	[24R]-24-Éthyl-cholest-5-en-3β-ol	1,47	0,64
12	Sitostanol	[24R]-24-Éthyl-cholestan-3β-ol	1,50	0,65
13	Δ5-Avenastérol	[24Z]-24(28)-Éthylidène-cholest-5-en-3β-ol	1,52	0,66
14	Δ5,24-Stigmastadiérol	[24R,S]-24-Éthyl-cholesta-5,24-dien-3β-ol	1,59	0,69
15	Δ7-Stigmastérol	[24R,S]-24-Éthyl-cholest-7-en-3β-ol	1,65	0,72
16	Δ7-Avenastérol	[24Z]-24(28)-Éthylidène-cholest-7-en-3β-ol	1,70	0,74
X	(Érythrodiol)		2,03	0,88
Y	(Uvaol)		2,17	0,95
17	Bétuline	Lup-20[29]-ene-3β,28-diol	2,30	1,00

TRR_C: Temps de rétention relatif calculé sur la base du cholestérol = 1,00.
 TRR_B: Temps de rétention relatif calculé sur la base de la bétuline = 1,00.

NOTE Le sitostérol peut se trouver en coélution avec l'α-spinastérol et avec le Δ7,22,25-stigmastatriérol. Le [24R]-24-Éthyl-cholesta-7,25(27)-dien-3β-ol est présent dans les stérols de l'huile de tournesol et de graine de potiron et peut se trouver en coélution avec le pic 14 (Δ5,24-stigmastadiérol).

9.3 Détermination de la teneur en stérols totaux

Pour les besoins de la présente méthode, on suppose que les facteurs de réponse de tous les stérols et de la bétuline sont égaux.

NOTE Lors de plusieurs essais, les stérols et la bétuline silylés ont, en quantité égale, donné une réponse identique sur le détecteur, en utilisant un détecteur FID dans ces conditions.

Calculer la teneur en stérols totaux, w , en milligrammes par kilogramme de matière grasse, à l'aide de la Formule (2):

$$w = \frac{\sum(A) \cdot m_{IS} \cdot 1\,000}{A_{IS} \cdot m} \quad (2)$$

où

m_{IS} est la masse de l'étalon interne (cholestanol), en milligrammes;

$\sum(A)$ est la somme des aires de pic relatives à l'ensemble des stérols (pics 1, 3 à 16 ou 1 à 16, si de la bétuline est utilisée);

A_{IS} est l'aire de pic de l'étalon interne;

m est la masse de l'échantillon pour essai, en grammes.

Pour calculer la teneur en stérols totaux, prendre en compte tous les pics de stérols, en commençant par le cholestérol et en terminant par le Δ^7 -avénastérol (pic 16), exceptés l'érythrodiol et l'uvaol (pics X et Y).

10 Fidélité

10.1 Essai interlaboratoires

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

10.2 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.

10.3 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.

11 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit indiquer:

- toutes les informations nécessaires à l'identification complète de l'échantillon;
- la méthode d'échantillonnage utilisée, si elle est connue;
- la méthode d'essai utilisée, ainsi qu'une référence à la présente partie de l'ISO 12228 (c'est-à-dire, l'ISO 12228-1);

- d) tous les détails opératoires non spécifiés dans la présente Norme internationale, ou considérés comme facultatifs, ainsi que les détails de tous les incidents susceptibles d'avoir influencé le(s) résultat(s) d'essai;
- e) le(s) résultat(s) d'essai obtenu(s) ou, si la répétabilité a été vérifiée, le résultat final cité qui a été obtenu.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 12228-1:2014](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/80e55fc8-9130-41d8-9958-0f079a8974b9/iso-12228-1-2014)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/80e55fc8-9130-41d8-9958-0f079a8974b9/iso-12228-1-2014>