

---

---

---

**Corps gras d'origines animale  
et végétale — Détermination  
des hydrocarbures aromatiques  
polycycliques**

*Animal and vegetable fats and oils — Determination of polycyclic  
aromatic hydrocarbons*

**iTeh Standards**  
**(<https://standards.iteh.ai>)**  
**Document Preview**

[ISO 15753:2016](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/e7068979-a51b-4eba-bac6-7084b5d14e6b/iso-15753-2016>



Numéro de référence  
ISO 15753:2016(F)

**iTeh Standards**  
**(<https://standards.iteh.ai>)**  
**Document Preview**

[ISO 15753:2016](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/e7068979-a51b-4eba-bac6-7084b5d14e6b/iso-15753-2016>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2016, Publié en Suisse

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  
Ch. de Blandonnet 8 • CP 401  
CH-1214 Vernier, Geneva, Switzerland  
Tel. +41 22 749 01 11  
Fax +41 22 749 09 47  
copyright@iso.org  
www.iso.org

# Sommaire

Page

<b>Avant-propos</b>	iv	
<b>1</b>	<b>Domaine d'application</b>	1
<b>2</b>	<b>Références normatives</b>	1
<b>3</b>	<b>Termes et définitions</b>	1
<b>4</b>	<b>Principe</b>	2
<b>5</b>	<b>Réactifs et matériaux</b>	2
<b>6</b>	<b>Appareillage</b>	3
<b>7</b>	<b>Échantillonnage</b>	5
<b>8</b>	<b>Préparation de l'échantillon</b>	5
<b>9</b>	<b>Mode opératoire pour la détermination des HAP à partir des corps gras: Méthode générale</b>	5
9.1	Remarques préliminaires	5
9.2	Essai à blanc	6
9.3	Détermination des valeurs des taux de récupération (sans matrice)	6
9.4	Extraction (extraction liquide/liquide)	6
9.5	Purification sur des cartouches de phase greffée en C18 (extraction solide/liquide)	7
9.6	Purification sur des cartouches de phase greffée de Florisil (extraction solide/liquide)	7
<b>10</b>	<b>Mode opératoire pour la détermination des HAP à partir des corps gras: Méthode spécifique pour l'huile de coprah</b>	8
10.1	Première extraction (extraction liquide/liquide)	8
10.2	Deuxième extraction (extraction liquide/liquide)	9
10.3	Purification sur des cartouches de phase greffée en C18 (extraction solide/liquide)	9
10.4	Purification sur des cartouches de phase greffée de Florisil (extraction solide/liquide)	9
<b>11</b>	<b>Chromatographie liquide à haute performance (CLHP)</b>	10
11.1	Conditions de fonctionnement	10
11.2	Paramètres de détection	11
11.3	Analyse des échantillons et des étalons	12
11.4	Confirmation de la présence des HAP	13
<b>12</b>	<b>Expression des résultats</b>	13
<b>13</b>	<b>Fidélité</b>	13
13.1	Essai interlaboratoires	13
13.2	Répétabilité	13
13.3	Reproductibilité	14
<b>14</b>	<b>Rapport d'essai</b>	14
<b>Annexe A (informative) Valeurs des taux de récupération, schémas fonctionnels, chromatogrammes et séquences d'injection</b>		15
<b>Annexe B (informative) Résultats de l'essai interlaboratoires</b>		20
<b>Bibliographie</b>		23

## 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.

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*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 15753:2006), dont elle constitue une révision mineure. Elle incorpore également l'Amendement ISO 15753:2006/Amd.1:2011. Un énoncé relatif à la non applicabilité au lait et aux produits laitiers a été ajouté au Domaine d'application.

# Corps gras d'origines animale et végétale — Détermination des hydrocarbures aromatiques polycycliques

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale décrit deux méthodes pour la détermination de 15 hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans les corps gras d'origines animale et végétale:

- une méthode générale;
- une méthode spécifique pour l'huile de coprah et les huiles végétales avec acides gras à chaînes courtes.

Ces méthodes ne sont pas quantitatives pour les composés très volatils tels que le naphtalène, l'acénaphtène et le fluorène. En raison des interférences causées par la matrice elle-même, l'huile de palme et l'huile de grignons d'olive ne peuvent pas être analysées par cette méthode.

La limite de quantification est de 0,2 µg/kg pour la majorité des composés analysés, à l'exception du fluoranthène et du benzo(*g,h,i*)pérylène, dont la limite de quantification est de 0,3 µg/kg, et de l'indéno(1,2,3-*c,d*)pyrène, dont la limite de quantification est de 1,0 µg/kg.

**NOTE** Les résultats pour l'huile de grignons d'olive dans l'[Annexe B](#) montrent que cette méthode n'est pas applicable à ce type d'huile. Les données de fidélité déterminées sont très médiocres.

Le lait et les produits laitiers (ou la graisse provenant du lait et des produits laitiers) sont exclus du domaine d'application de la présente Norme internationale.

## 2 Références normatives

[ISO 15753:2016](#)

Les documents suivants, en tout ou partie, sont référencés de façon 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*

## 3 Termes et définitions

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

### 3.1

#### hydrocarbures aromatiques polycycliques

##### HAP

composés contenant au moins deux noyaux d'hydrocarbures aromatiques condensés (accolés) et dont la teneur peut être déterminée à l'aide de la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale

Note 1 à l'article: La teneur est indiquée en microgrammes par kilogramme.

Note 2 à l'article: On divise, en général, les HAP en HAP légers, avec deux à quatre noyaux aromatiques, et HAP lourds avec au moins cinq noyaux aromatiques.

#### EXEMPLE

Les HAP légers incluent:

le naphtalène (n° CAS [91-20-3]), l'acénaphtène (n° CAS [83-32-9]), l'acénaphthylène (n° CAS [208-96-8]), le fluorène (n° CAS [86-73-7]), l'anthracène (n° CAS [120-12-7]), le phénanthrène (n° CAS [85-01-8]), le fluoranthène (n° CAS [206-44-0]), le chrysène (n° CAS [218-01-9]), le benzo(*a*)anthracène (n° CAS [56-55-3]), le pyrène (n° CAS [129-00-0]).

Les HAP lourds incluent:

le benzo(*a*)pyrène (n° CAS [50-32-8]), le benzo(*b*)fluoranthène (n° CAS [205-99-2]), le benzo(*k*)fluoranthène (n° CAS [207-08-9]), le benzo(*g,h,i*)pérylène (n° CAS [191-24-2]), le dibenzo(*a,h*)anthracène (n° CAS [53-70-3]), l'indéno(1,2,3-*c,d*)pyrène (n° CAS [193-39-5]).

## 4 Principe

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques sont extraits avec un mélange acétonitrile/acétone, puis purifiés sur des cartouches de phase inversée C18 et, ensuite, sur des cartouches de Florisil. La détermination de la teneur en hydrocarbures aromatiques polycycliques individuels après séparation est réalisée par le biais de la chromatographie liquide à haute pression (CLHP) en mesurant la fluorescence à des longueurs d'onde d'excitation et d'émission différentes.

## 5 Réactifs et matériaux

**AVERTISSEMENT — L'attention est attirée sur la réglementation régissant la manipulation de matières dangereuses. Il convient de respecter des mesures de sécurité sur le plan technique, organisationnel et personnel.**

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue, sauf indication contraire.

Vérifier la qualité des solvants avant utilisation en concentrant le solvant environ 1 000 fois par évaporation, puis analyser le concentré par CLHP (300 ml à 300 µl). Le chromatogramme doit être exempt de pics dans la zone d'élution des HAP.

**5.1 Méthanol**, qualité «ultra resi-analysed»<sup>1)</sup>.

[ISO 15753:2016](#)

**5.2 Hexane**, qualité CLHP<sup>1)</sup>.

**5.3 Acétonitrile**, qualité CLHP<sup>1)</sup>.

**5.4 Acétone**, qualité CLHP<sup>1)</sup>.

**5.5 Dichlorométhane**, qualité CLHP<sup>1)</sup>.

**5.6 Toluène**, qualité CLHP<sup>1)</sup>.

**5.7 Eau**, qualité CLHP<sup>1)</sup>.

**5.8 Tétrahydrofurane**, qualité CLHP<sup>1)</sup>.

**5.9 Mélange de solvants 1:** acétonitrile/acétone (fraction volumique 60 %/40 %).

Quantité utilisée par échantillon: 41 ml pour la méthode générale, 36 ml pour la méthode spécifique pour l'huile de coprah.

1) Ces produits peuvent, par exemple, être obtenus auprès de Baker. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif des produits ainsi désignés. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

**5.10 Mélange de solvants 2:** acétonitrile/acétone (fraction volumique 80 %/20 %).

Quantité utilisée par échantillon: 2 × 11 ml pour la méthode spécifique pour l'huile de coprah.

**5.11 Mélange de solvants 3:** hexane/dichlorométhane (fraction volumique 75 %/25 %).

Quantité utilisée par échantillon: 7 ml pour la méthode générale, 2 × 7 ml pour la méthode spécifique pour l'huile de coprah.

**5.12 Mélange de tétrahydrofurane (THF)/méthanol (MeOH)** (fraction volumique 50 %/50 %).

**5.13 Solution étalon avec 16 HAP certifiés prioritaires par l'EPA (Agence de protection de l'environnement) dans le toluène<sup>2)</sup>,** à une concentration de 100 µg/ml (100 mg/l): le naphtalène, l'acénaphthylène, l'acénaphtène, le fluorène, le phénanthrène, l'anthracène, le fluoranthène, le pyrène, le benzo(*a*)anthracène, le chrysène, le benzo(*b*)fluoranthène, le benzo(*k*)fluoranthène, le benzo(*a*)pyrène, le dibenzo(*a,h*)anthracène, le benzo(*g,h,i*)pérylène, l'indéno(1,2,3-*c,d*)pyrène.

NOTE 1 Cette solution est conservée à -20 °C.

Avant emploi, laisser la solution se réchauffer à température ambiante pendant au minimum 1 h.

NOTE 2 L'acénaphthylène n'est pas fluorescent et ne peut donc pas être déterminé par ces méthodes.

**5.14 Solution mère étalon,** à 200 ng/ml (200 µg/l).

Ajouter 100 µl de solution étalon (5.13) avec une seringue de 250 µl (6.11) dans une fiole jaugée de 50 ml (6.20) et diluer au volume avec de l'acétonitrile.

**5.15 Solution étalon de travail,** à 50 ng/ml (50 µg/l).

Ajouter 250 µl de solution mère étalon (5.14) avec une seringue de 250 µl (6.11) à 750 µl de mélange THF/méthanol (5.12) ou d'acétonitrile (5.3).

**5.16 Cartouches de phase greffée en C18<sup>3)</sup>,** phase 2 g, capacité de 12 ml.**5.17 Cartouches de phase greffée de Florisil<sup>3)</sup>,** phase 500 mg, capacité de 3 ml.**5.18 Flux d'azote,** pression contrôlée à 34,5 kPa (5 psi, environ 1,5 l/min).

## 6 Appareillage

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

L'utilisation de tubes jetables en verre est acceptable. L'utilisation généralisée du verre est nécessaire parce que les plastiques peuvent contenir des HAP.

**6.1 Centrifugeuse,** tournant au moins à 4 000 min<sup>-1</sup>, convenant pour les tubes de 100 ml et de 10 ml.

2) Ce produit peut, par exemple, être obtenu auprès de Promochem. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

3) Ce produit peut, par exemple, être obtenu auprès de Varian. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

**6.2 Système de CLHP avec élution de gradient binaire**, avec réservoir de solvant d'une capacité de 1 l, filtre à membrane pour phase mobile, pompe, passeur d'échantillons, régulation de température de colonne réglée à 25 °C, détecteur fluorimétrique programmable dans le temps pour des longueurs d'onde d'excitation et d'émission différentes et un système d'acquisition et de traitement des données assisté par ordinateur.

**6.3 Colonne de phase inversée C18**<sup>4)</sup>, 250 mm de longueur, 4,6 mm de diamètre intérieur, particules de 5 µm, convenant pour l'analyse des HAP.

**6.4 Agitateur vortex.**

**6.5 Évaporateur automatique**<sup>5)</sup>, pour un tube de 10 ml (facultatif) ou bain-marie ([6.6](#)).

Conditions de fonctionnement recommandées:

- température du bain-marie 35 °C;
- pression d'azote 34,5 kPa.

**6.6 Bain-marie**, réglé à 35 °C.

**6.7 Balance**, lisibilité de 0,1 mg.

**6.8 Tubes à centrifuger**, d'une capacité de 100 ml (un par échantillon).

**6.9 Tubes à centrifuger coniques**, d'une capacité de 11 ml (trois par échantillon) avec capuchons vissés munis de joints en polytétrafluoroéthylène (PTFE) (un par échantillon).

**6.10 Éprouvettes graduées**, ISO 4788<sup>[6]</sup>, classe A.

[ISO 15753:2016](#)

**6.11 Microseringue**, de 250 µl.

**6.12 Seringue**, de 1 000 µl.

**6.13 Pipette graduée**, de capacité 5 ml, ISO 835<sup>[4]</sup>, classe A.

**6.14 Seringue**, de 5 ml, munie d'un bouchon adaptateur pour les cartouches SPE.

**6.15 Flacons pour passeur d'échantillons.**

**6.16 Microflacons**, d'une capacité de 250 µl, adaptés au système CLHP.

**6.17 Bain à ultrasons**, température de l'eau ne dépassant pas 40 °C.

---

4) Ce produit peut, par exemple, être obtenu auprès de Vydac, réf. 201TP54. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

5) Ce produit peut, par exemple, être obtenu auprès de Zymark, turbo-évaporateur Zymark TurboVap LV. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

**6.18 Pipettes Pasteur**, munies de coton dans la partie supérieure pour éviter toute contamination, ISO 7712<sup>[2]</sup>.

**6.19 Appareil disposant d'un support et de pinces<sup>6)</sup>** pour maintenir les cartouches SPE ou, si possible, une station de travail SPE automatique.

NOTE Selon la station de traitement d'échantillons SPE utilisée, les méthodes d'extraction proposées peuvent nécessiter de légères adaptations (temps, pression, volumes).

**6.20 Fiole jaugée à un trait**, d'une capacité de 50 ml, ISO 1042<sup>[5]</sup>, classe A.

## 7 Échantillonnage

Il convient que le laboratoire reçoive un échantillon représentatif, qui n'a été ni endommagé ni modifié pendant le transport ou le stockage.

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale. Une méthode d'échantillonnage recommandée est fournie dans l'ISO 5555.

## 8 Préparation de l'échantillon

Préparer l'échantillon pour essai conformément à la méthode indiquée dans l'ISO 661. Avant l'échantillonnage, les échantillons liquides doivent être à température ambiante et être homogénéisés par agitation magnétique.

Échantillonner la matrice solide en fondant la totalité de l'échantillon ou en fondant, puis en homogénéisant, plusieurs carottes d'échantillons.

## 9 Mode opératoire pour la détermination des HAP à partir des corps gras: Méthode générale

[ISO 15753:2016](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/e7068979-a51b-4eba-bac6-7084b5d14e6b/iso-15753-2016>

### 9.1 Remarques préliminaires

Pour obtenir des résultats répétables, la température ambiante du laboratoire doit être régulée ( $\leq 20^{\circ}\text{C}$ ). Ce paramètre est très important pour l'extraction des HAP à partir de l'huile de coprah (ou des huiles végétales contenant des acides gras à chaînes courtes). Ces huiles contiennent des acides gras à chaînes courtes et longues; si la température ambiante dépasse  $20^{\circ}\text{C}$ , la solubilité des acides gras à chaînes courtes augmente.

Avant emploi, rincer la totalité de la verrerie trois fois avec de l'hexane ([5.2](#)).

Chaque séquence d'échantillons doit inclure un essai à blanc ([9.2](#)) et une solution étalon extraite dans les mêmes conditions que l'échantillon afin de calculer les taux de récupération de l'extraction ([9.3](#)). Les valeurs des taux de récupération doivent être comprises entre 70 % et 110 %. Les valeurs des taux de récupération moyens sont données dans le [Tableau A.1](#).

Pour une analyse quantitative, deux prises d'essai doivent être extraites et analysées séparément, le résultat final étant la valeur moyenne des résultats des deux sous-échantillons.

Il n'est pas possible d'effectuer la totalité de l'analyse en une journée. Les extraits des échantillons doivent être conservés jusqu'au lendemain dans des conditions de surgélation à  $-18^{\circ}\text{C}$ :

— 1<sup>er</sup> jour: étape 1, étape 2 et étape 3 jusqu'à la purification sur cartouche C18 (voir [Figure A.1](#));

6) Ce produit peut, par exemple, être obtenu auprès de Zymark, Zymark Rapid Trace. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

- 2<sup>e</sup> jour: étape 3, purification sur cartouche de Florisil et préparation du système CLHP pour l'analyse d'échantillon (voir [Figure A.1](#));
- nuit et jour(s) suivants: analyse des échantillons (voir [Tableau A.2](#)).

## 9.2 Essai à blanc

Pour garantir l'absence de contamination des solvants et cartouches, l'opération de purification (conformément à [9.5](#), à [9.6](#) et à l'[Article 11](#)) doit d'abord être effectuée sur un échantillon à blanc (échantillon avec un mélange de solvants mais sans l'huile). Le chromatogramme obtenu doit être exempt de composés d'intérêt. Si le chromatogramme contient des interférences, l'origine de ces interférences doit être déterminée et éliminée. Les valeurs des essais à blanc ne peuvent pas être utilisées pour corriger les valeurs des échantillons puisque les valeurs des essais à blanc ne sont généralement pas homogènes (répétabilité).

## 9.3 Détermination des valeurs des taux de récupération (sans matrice)

Afin de vérifier l'efficacité d'extraction des cartouches, effectuer un essai avec une solution étalon. Complémenter 1 750 µl de mélange de solvants 1 ([5.9](#)) avec 250 µl de solution étalon de travail ([5.15](#)) à l'aide d'une seringue de 250 µl ([6.11](#)). Déposer sur une cartouche C18, puis suivre le mode opératoire décrit en [9.5](#), en [9.6](#) et à l'[Article 11](#).

**AVERTISSEMENT — Lors de l'élimination du solvant sous un flux d'azote (voir [9.5.6](#)), ne pas évaporer à sec mais conserver environ 50 µl dans le tube afin de ne pas perdre les HAP volatils.**

## 9.4 Extraction (extraction liquide/liquide)

<https://standards.iteh.ai>

[9.4.1](#) Le schéma fonctionnel du mode opératoire d'isolation est fourni à la [Figure A.1](#).

[9.4.2](#) Peser, à 1 mg près, environ 2,5 g de l'échantillon dans un tube à centrifuger de 100 ml ([6.8](#)).

Ajouter 10 ml de mélange de solvants 1 ([5.9](#)). [ISO 15753:2016](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/e7068979-a51b-4eba-bac6-7084b5d14e6b/iso-15753-2016>

[9.4.3](#) Agiter le tube à centrifuger pendant 30 s à l'aide de l'agitateur vortex (demi-vitesse), puis placer le tube dans un bain à ultrasons ([6.17](#)) pendant 5 min.

[9.4.4](#) Centrifuger pendant 5 min à 4 000 min<sup>-1</sup>.

[9.4.5](#) Prélever avec précaution la phase supérieure à l'aide d'une pipette Pasteur ([6.18](#)), puis la transférer dans un tube conique taré ([6.9](#)).

[9.4.6](#) Évaporer le solvant du tube conique pendant 30 min à 40 min sous un flux d'azote ([5.18](#)) en utilisant un bain-marie à 35 °C ([6.6](#)) ou un évaporateur automatique ([6.5](#)).

[9.4.7](#) Répéter l'extraction deux fois avec 10 ml supplémentaires de mélange de solvants 1 ([5.9](#)).

Concentrer les extraits dans le même tube conique sous un flux d'azote ([5.18](#)) en utilisant un bain-marie à 35 °C ([6.6](#)) ou un évaporateur automatique ([6.5](#)). Il convient que le résidu de corps gras soit d'environ 200 mg à 800 mg.

Si le poids du résidu de corps gras est supérieur à 800 mg, la méthode générale (voir [Article 9](#)) n'est pas appropriée; il convient, dans ce cas, d'utiliser la méthode spécifique pour l'huile de coprah (voir [Article 10](#)).