

ISO/TC 34/SC 11

Secrétariat: BSI

Début de vote:
2016-02-11

Vote clos le:
2016-04-11

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)

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

Part 3: Preparation of methyl esters using trimethylsulfonium hydroxide (TMSH)

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.

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.

Veillez consulter les notes administratives en page iii



Numéro de référence
ISO/FDIS 12966-3:2016(F)

TRAITEMENT PARALLÈLE ISO/CEN

Le présent projet final 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 final a été établi sur la base des observations reçues lors de l'enquête parallèle sur le projet.

Le projet final est par conséquent soumis aux comités membres de l'ISO et aux comités membres du CEN en parallèle à un vote d'approbation de deux mois au sein de l'ISO et à un vote formel au sein du CEN.

Les votes positifs ne doivent pas être accompagnés d'observations.

Les votes négatifs doivent être accompagnés des arguments techniques pertinents.

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9927daf0-00dd-4079-850f-d59ce6ee67d6/iso-12966-3-2016>



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
Avant-propos.....	iv
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Principe	1
4 Réactifs	2
5 Appareillage	2
6 Échantillonnage	2
7 Préparation de l'échantillon pour essai	2
8 Mode opératoire	2
9 Rapport d'essai	3
Bibliographie	4

iTeh STANDARD PREVIEW
 (standards.iteh.ai)

Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9927daf0-00dd-4079-850f-d59ce6ee67d6/iso-12966-3-2016>

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](#).

Le comité chargé de l'élaboration de ce 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 12966-3:2009), dont elle constitue une révision mineure.

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: Détermination par chromatographie capillaire en phase gazeuse*

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)

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 12966 spécifie une méthode de transestérification rapide des corps gras par catalyse basique avec de l'hydroxyde de triméthylsulfonium (TMSH), pour préparer des esters méthyliques d'acides gras. Cette méthode s'applique exclusivement à la préparation des esters méthyliques des corps gras pour l'analyse chromatographique en phase gazeuse-liquide (CPG). Elle s'applique à tous les corps gras, à l'exclusion de ceux issus du lait et des produits laitiers. L'isomérisation des acides gras insaturés ne se produit que rarement et les acides gras isomérisés ne sont présents que dans la limite de détermination. Puisqu'il y a isomérisation, ce mode opératoire n'est pas recommandé pour l'acide linoléique conjugué (CLA).

Seulement environ 70 % à 80 % des acides gras libres sont estérifiés. Dans le cas d'acides gras conjugués cyclopropyl et cyclopropényl, des réactions secondaires peuvent se produire mais n'interfèrent pas dans la détermination des acides gras.

NOTE La présente partie de l'ISO 12966 repose sur la Méthode normalisée allemande C-VI 11e (98) (voir Référence[8]).

2 Références normatives

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 Principe

L'échantillon est dissous dans de l'éther de méthyle et de *tert*-butyle (MTBE) et mélangé avec une solution méthanolique d'hydroxyde de triméthylsulfonium. Les glycérides sont transestérifiés par catalyse basique et les esters méthyliques d'acides gras sont formés (voir Références[4] à[8]). Les acides gras libres sont convertis en sels qui sont pyrolysés en esters méthyliques et en diméthylsulfure dans l'injecteur. L'excès de réactif est également pyrolysé en méthanol et en diméthylsulfure. Pour obtenir une réaction pyrolytique complète, un injecteur chaud (injection avec diviseur de débit) réglé à au moins 250 °C est nécessaire.

Pour déterminer les acides gras à chaîne courte (C₄ à C₈), l'ester méthylique d'acide pentanoïque (valérique) doit être utilisé comme étalon interne. Les lipides contenant des groupes hydroxyles sont partiellement convertis en dérivés de type éther méthylique (*O*-méthyl) pouvant interférer avec les esters méthyliques d'acides gras dans la séparation CPG (voir Référence[9]). Des pics provenant du réactif peuvent survenir en début de chromatogramme (région du C₄). Ces pics ne sont pas pris en compte.

4 Réactifs

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

Au cours de l'analyse, sauf spécification contraire, utiliser uniquement des réactifs et des solvants de qualité analytique reconnue.

4.1 Éther de méthyle et de *tert*-butyle (MTBE).

4.2 Hydroxyde de triméthylsulfonium (TMSH), solution méthanolique, concentration $c(\text{Me}_3\text{SOH}) = 0,2 \text{ mol/l}$.

La teneur de la solution peut être déterminée par acidimétrie: 5,0 ml de solution sont dilués dans 10 ml de méthanol, 2 gouttelettes de phénolphthaléine sont ajoutées et le mélange est titré par HCl à 0,1 mol/l. Il convient que la concentration soit d'au moins 0,15 mol/l.

NOTE La solution reste stable pendant au moins deux mois si elle est conservée à 4 °C en petites quantités, à l'intérieur de tubes fermés.

5 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et, en particulier:

5.1 Tubes à essai, d'une capacité de 2 ml avec bouchon en verre rodé (flacons pour injecteur automatique).

5.2 Pipettes graduées, d'une capacité de 250 µl, 500 µl et 1 000 µl, ISO 835^[1] classe A.

6 Échantillonnage

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

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente partie de l'ISO 12966. Une méthode d'échantillonnage recommandée est indiquée dans l'ISO 5555.^[3]

7 Préparation de l'échantillon pour essai

L'échantillon pour essai doit être liquide, sec et limpide. Opérer conformément à l'ISO 661, mais en chauffant l'échantillon juste au-dessus de son point de fusion.

Les échantillons solides sont fondus avec précaution à une température maximale de 10 °C au-dessus de leur point de fusion, puis homogénéisés. Éviter les températures excessives.

Les échantillons contenant de l'eau sont dissous dans de l'éther de pétrole et séchés pendant 30 min en ajoutant du sulfate de sodium anhydre. L'agent de séchage est éliminé par filtration à travers un papier-filtre plissé et le résidu est lavé soigneusement avec de l'éther de pétrole. Le solvant est ensuite éliminé au moyen d'un évaporateur rotatif.

8 Mode opératoire

8.1 Peser (10 ± 2) mg de l'échantillon pour essai dans un tube à essai (5.1).

8.2 Ajouter 500 µl de MTBE (4.1) à l'aide d'une pipette (5.2) et dissoudre l'échantillon, en chauffant modérément si nécessaire.

NOTE Pour déterminer les acides gras à chaîne courte (C₄ à C₈), l'ester méthylique d'acide pentanoïque (valérique) est utilisé comme étalon interne. La solution d'étalon interne est utilisée pour dissoudre l'échantillon.

8.3 À l'aide d'une pipette (5.2), ajouter 250 µl de solution de TMSH (4.2) dans le tube à essai et agiter vigoureusement pendant environ 30 s. La solution ainsi obtenue est prête pour l'injection dans le chromatographe en phase gazeuse. Du fait que les esters méthyliques se forment pendant l'injection, il est nécessaire que la température de l'injecteur soit d'au moins 250 °C.

Si nécessaire, utiliser un mélange de MTBE et de méthanol (9 volumes + 1 volume) pour diluer la solution.

IMPORTANT — Les acides gras libres réagissent avec le TMSH pour former les sels correspondants, lesquels sont pyrolysés en esters méthyliques et en diméthylsulfure dans l'injecteur. Il est donc nécessaire que la température de l'injecteur soit de 250 °C. Afin d'éviter les obstructions, le capillaire d'évent de division doit avoir un diamètre intérieur approprié (>1 mm). Il convient de le nettoyer par chauffage régulier ou par rinçage avec un solvant. De plus, la vanne de division doit être protégée par un piège contenant du charbon actif.

9 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit comprendre les informations suivantes:

- a) le résultat de la détermination;
- b) la méthode d'essai utilisée, avec une référence à la présente partie de l'ISO 12966, c'est-à-dire ISO 12966-3;
- c) toutes les informations nécessaires à l'identification complète de l'échantillon;
- d) tous les détails opératoires non spécifiés dans la présente partie de l'ISO 12966, ou considérés comme facultatifs, conjointement avec les détails de tout incident ayant pu influencer le(s) résultat(s).

Bibliographie

- [1] ISO 835, *Verrerie de laboratoire — Pipettes graduées*
- [2] ISO 1042, *Verrerie de laboratoire — Fioles jaugées à un trait*
- [3] ISO 5555, *Corps gras d'origines animale et végétale — Échantillonnage*
- [4] BUTTE W.J. Rapid method for the determination of fatty acid profiles from fats and oils using trimethylsulfonium hydroxide for transesterification. *J. Chromatogr. A.* 1983, **261** pp. 142–145
- [5] SCHULTE E., & WEBER K. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from fats with trimethylsulfonium hydroxide or sodium methylate. *Fat Sci. Technol.* 1989, **91** pp. 181–183
- [6] ARENS M., SCHULTE E., WEBER K. Fettsäuremethylester, Umesterung mit trimethylsulfoniumhydroxid [Fatty acid methyl esters, transesterification with trimethylsulfonium hydroxide]. *Fat Sci. Technol.* 1994, **96** pp. 67–68
- [7] EL-HAMDY A.H., & CHRISTIE W.W. Preparation of methyl esters of fatty acids with trimethylsulphonium hydroxide — An appraisal. *J. Chromatogr. A.* 1993, **630** pp. 438–441
- [8] DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR FETTWISSENSCHAFT. *Deutsche Einheitsmethoden zur Untersuchung von Fetten, Fettprodukten, Tensiden und verwandten Stoffen/German standard methods for the analysis of fats and other lipids.* Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 2008
- [9] VOSMANN K., SCHULTE E., KLEIN E, WEBER N. Reactions of lipids containing hydroxy groups with trimethylsulfonium hydroxide: Formation of O-methyl derivatives. *Lipids.* 1996, **31** pp. 349–352

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9927daf0-00dd-4079-850f-d59ce6ee67d6/iso-12966-3-2016>