
**Corps gras d'origines animale et
végétale — Composition relative des
corps gras et produits dérivés par
chromatographie en phase gazeuse
sur colonne capillaire (méthode
fingerprint)**

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

*Animal and vegetable fats and oils — Relative composition of oils and
derivatives by capillary gas chromatography (fingerprint method)*

ISO/PREF TS 22115

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9887538a-cd62-4260-878a-
aa07a74d3b73/iso-prf-ts-22115](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9887538a-cd62-4260-878a-aa07a74d3b73/iso-prf-ts-22115)

PROOF/ÉPREUVE



Numéro de référence
ISO/TS 22115:2020(F)

© ISO 2020

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO/PRF TS 22115

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9887538a-cd62-4260-878a-aa07a74d3b73/iso-prf-ts-22115>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2020

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, 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, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée 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 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Genève
Tél.: +41 22 749 01 11
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	3
8 Mode opératoire	3
8.1 Préparation de l'étalon interne, le tridécanylglycérol (5.2.5), c = 20 mg/ml	3
8.2 Préparation des solutions étalons individuelles pour la détermination des facteurs de réponse	4
8.3 Silylation des étalons	4
8.4 Préparation de l'échantillon	4
8.5 Solution de dosage	4
8.6 Silylation de l'échantillon	5
8.7 Chromatographie en phase gazeuse	5
8.8 Identification et intégration des pics	5
9 Résultats de la détermination	6
9.1 Calcul du facteur de réponse	6
9.2 Détermination quantitative	7
10 Fidélité de la méthode	7
10.1 Essai interlaboratoires	7
10.2 Répétabilité	7
10.3 Reproductibilité	7
11 Rapport d'essai	8
Annexe A (informative) Chromatogrammes types	9
Annexe B (informative) Résultats d'un essai interlaboratoires	19
Bibliographie	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).

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 rédigées 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 nature volontaire des normes, de la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute autre information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC) voir le lien suivant: www.iso.org/iso/fr/avant-propos.html.

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 11, *Corps gras d'origines animale et végétale*, en collaboration avec le comité technique CEN/TC 307, *Oléagineux, corps gras d'origine végétale et animale et leurs co-produits — Méthodes d'échantillonnage et d'analyse* du comité européen de normalisation (CEN), conformément à l'Accord de coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne).

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/members.html.

Corps gras d'origines animale et végétale — Composition relative des corps gras et produits dérivés par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire (méthode fingerprint)

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie une méthode d'analyse semi-quantitative des corps gras et échantillons dérivés de corps gras (déodistillats).

Il est applicable à l'analyse des corps gras et échantillons dérivés de corps gras pour obtenir des informations sur les composés majoritaires (par exemple triglycérides) et minoritaires (par exemple stérols, esters de stérol, tocophérols, esters de cire, alcools gras, glycérol) au cours d'une seule analyse. Pour une analyse réellement quantitative des classes de composés préalablement identifiées, les méthodes spécifiques sont plus appropriées.

La méthode peut également être utilisée comme outil d'analyse qualitative en vue d'effectuer une comparaison relative des compositions d'échantillons.

2 Références normatives

Les documents suivants sont cités dans le texte de sorte qu'ils constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences 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

Aucun terme n'est défini dans le présent document.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

- ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>

4 Principe

Les composés hydroxylés sont transformés en dérivés silylés. Cette opération n'a aucun effet sur les composés apolaires (non hydroxylés) également présents dans l'échantillon. L'échantillon préparé est analysé par chromatographie en phase gazeuse (CG) sur une colonne capillaire haute température de faible épaisseur de film, avec un injecteur on-column et un détecteur à ionisation de flamme.

Pour les analyses quantitatives, les composés sont quantifiés en présence d'un étalon interne (1,2,3-tridécanyolglycérol) et les facteurs de réponse sont déterminés à partir d'un étalon de référence de chaque classe.

5 Réactifs

AVERTISSEMENT — L'attention est attirée sur les réglementations qui s'appliquent à la manipulation de substances dangereuses. Des mesures de sécurité d'ordre technique, organisationnel et personnel doivent être suivies.

Pendant l'analyse, sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue, et de l'eau distillée ou déminéralisée ou de l'eau d'une pureté équivalente.

5.1 Mélange de réactifs de silylation: Méthylimidazole (n° CAS 616-47-7) et MSHFBA (n° CAS 53296-64-3).

Préparer un mélange de réactifs de silylation: 1 ml de MSHFBA + 50 µl de méthylimidazole.

NOTE Ce mélange ne peut pas être conservé plus d'une semaine en raison de l'absorption d'humidité. En effet, les dérivés silylés sont sensibles à l'humidité.

5.2 Substances de référence¹⁾.

5.2.1 Acide oléique (n° CAS 112-80-1).

5.2.2 1-Monooléine (n° CAS 111-03-5).

5.2.3 1,3-Dioléine (n° CAS 2465-32-9).

5.2.4 Trioléine (n° CAS 122-32-7).

5.2.5 Tridécanyolglycérol (n° CAS 621-71-6).

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9887538a-cd62-4260-878a-aa07a74d3b73/iso-prf-ts-22115>

5.2.6 Éicosanol (n° CAS 629-96-9).

5.2.7 α-Tocophérol (n° CAS 10191-41-0), **γ-tocophérol** (n° CAS 54-28-4), **δ-tocophérol** (n° CAS 119-13-1).

5.2.8 Cholestérol (n° CAS 57-88-5).

5.2.9 Palmitate de cholestérol (n° CAS 601-34-3).

5.2.10 Squalène (n° CAS 111-02-4).

5.2.11 Mélange de phytostérols²⁾ (n° CAS 474-67-9, 474-62-4, 83-48-7, 83-46-5).

5.3 Isooctane, pour l'analyse de traces organiques, pureté de 99 % min.

5.4 Chloroforme, pour chromatographie.

1) Les fournisseurs appropriés sont Sigma-Aldrich (www.sigmaaldrich.com) ou Larodan (www.larodan.com). Cette information est donnée par souci de commodité à l'intention des utilisateurs du présent document et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ce fournisseur.

2) Un fournisseur approprié est Larodan (www.larodan.com). Cette information est donnée par souci de commodité à l'intention des utilisateurs du présent document et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ce fournisseur.

6 Appareillage

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

6.1 Fiole jaugée, 100 ml et 10 ml.

6.2 Étuve, réglée à $103\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.

6.3 Flacons à échantillons coniques en verre, capacité de 10 ml.

6.4 Chromatographe en phase gazeuse pour colonnes capillaires, équipé d'un injecteur on-column ou dispositif équivalent, d'un four à température programmable et d'un détecteur à ionisation de flamme (FID).

6.5 Colonne capillaire en silice fondue, pouvant être programmée jusqu'à 400 °C (type « haute température ») pour laquelle les caractéristiques suivantes sont recommandées: phase stationnaire 100 % diméthylpolysiloxane ou 95 % diméthyl/5 % diphényl polysiloxane, longueur 30 m, diamètre interne 0,32 mm ou 0,25 mm, épaisseur de film 0,1 μm . D'autres colonnes de polarité et de sélectivité similaires peuvent également être utilisées.

6.6 Microseringue, capacité de 5 μl à 10 μl , pour l'injection on-column en chromatographie en phase gazeuse.

6.7 Balance analytique, précise à 0,001 g.

6.8 Bain à ultrasons.

6.9 Évaporateur sous azote.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO/PRF TS 22115
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9887538a-cd62-4260-878a-aa07a74d3b73/iso-prf-ts-22115>

7 Échantillon

7.1 Échantillonnage

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans le présent document. Une méthode d'échantillonnage recommandée est donnée dans l'ISO 5555^[1].

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif et n'ayant pas été endommagé ou modifié durant le transport ou le stockage.

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 l'étalon interne, le tridécanoylglycérol (5.2.5), c = 20 mg/ml

Dans une fiole jaugée de 10 ml, peser 200 mg de tridécanoylglycérol (5.2.5) et compléter au volume avec de l'isooctane (5.3).

8.2 Préparation des solutions étalons individuelles pour la détermination des facteurs de réponse

Une solution étalon à 5 mg/ml dans l'isooctane (5.3) est préparée pour chaque composé (voir le Tableau 1) pour déterminer le facteur de réponse de chaque groupe de composés.

Tableau 1 — Liste des étalons pour le calcul des facteurs de réponse

Classe déterminée	Étalon
Alcools	Éicosanol (5.2.6)
Acides gras libres	Acide oléique (5.2.1)
Hydrocarbures	Squalène (5.2.10)
Monoglycérides	Monooléine (5.2.2)
Tocophérols	α -Tocophérol (5.2.7)
Stérols	Cholestérol (5.2.8)
Diglycérides	Dioléine (5.2.3)
Esters de stérol	Palmitate de cholestérol (5.2.9)
Triglycérides	Trioléine (5.2.4)

8.3 Silylation des étalons

Dans un tube de silylation (6.3), introduire 100 μ l de la solution étalon interne, le tridécanylglycérol (5.2.5), $c = 20$ mg/ml, et 200 μ l de la solution étalon individuelle (chaque composé séparément) et évaporer à sec sous un courant d'azote (6.9). Introduire 100 μ l du mélange de silylation (5.1). Maintenir à 103 °C pendant 15 min (6.2), puis diluer avec 5 ml d'isooctane (5.3).

Lors de la préparation de la solution suivante, il est recommandé de contrôler la fidélité de la méthode (facultatif).

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9887538a-cd62-4260-878a-aa07a74d3b73/iso-prf-ts-22115>

Dans une fiole jaugée de 100 ml (6.1), peser exactement environ 50 mg de chaque étalon (5.2), y compris 50 mg de la solution étalon interne, le tridécanylglycérol (5.2.5), et diluer à 100 ml avec du chloroforme (5.4).

Cette solution peut être conservée pendant six mois à température ambiante.

Pour que la solution reste homogène dans le temps, elle doit être placée dans un bain à ultrasons pendant 10 min avant utilisation.

Introduire 0,5 ml de la solution dans un tube de silylation (6.3) et sécher sous un courant d'azote (6.9). Introduire 100 μ l du mélange de silylation (5.1). Maintenir à 103 °C pendant 15 min (6.2), puis diluer avec 10 ml d'isooctane (5.3).

8.4 Préparation de l'échantillon

Si l'échantillon est solide à température ambiante, faire complètement fondre l'échantillon dans un four (6.2) réglé à 103 °C et l'homogénéiser.

8.5 Solution de dosage

Dans une fiole jaugée de 10 ml (6.1), peser exactement environ 100 mg d'échantillon. Introduire exactement 1 ml de solution étalon interne (voir 8.1) et diluer à 10 ml avec de l'isooctane (5.3).

Si l'échantillon n'est pas totalement soluble dans l'isooctane, du chloroforme ou du toluène peut être utilisé à la place de l'isooctane.

8.6 Silylation de l'échantillon

Introduire 0,5 ml de la solution de dosage (voir 8.5) dans un tube de silylation (6.3) et évaporer à sec sous un courant d'azote (6.9). Introduire 100 µl du mélange de silylation (5.1). Maintenir à 103 °C pendant 15 min (6.2), puis diluer avec 10 ml d'isooctane (5.3).

8.7 Chromatographie en phase gazeuse

Installer la colonne dans le chromatographe en phase gazeuse et contrôler les conditions de fonctionnement en injectant le solvant, l'isooctane (5.3). Il convient que la ligne de base soit plate avec une légère dérive positive. Si la dérive est élevée, conditionner la colonne. Si la dérive est négative, contrôler les raccordements de la colonne.

Si la colonne est utilisée pour la première fois, il est nécessaire de conditionner la colonne en la chauffant dans le four selon un gradient de température allant jusqu'à 370 °C (suivant la température du four choisie pour l'analyse) en 4 h. Maintenir la température pendant 2 h.

Il est recommandé d'utiliser une colonne capillaire vide en silice fondue de 1 m de longueur et de 0,5 mm de diamètre comme pré-colonne.

Les conditions indiquées dans le Tableau 2 pour le chromatographe en phase gazeuse se sont avérées appropriées pour obtenir des chromatogrammes satisfaisants.

Il est recommandé d'utiliser le mode d'évacuation du solvant si l'injecteur employé le permet.

Optimiser le programme de températures et la vitesse d'écoulement du gaz vecteur de façon à obtenir les mêmes chromatogrammes que ceux illustrés aux Figures A.1 à A.10.

Tableau 2 — Conditions de chromatographie en phase gazeuse

Fonction	Conditions
Colonne	HP1 (30 m de longueur, 0,25 mm de diamètre interne, 0,10 µm d'épaisseur de film)
Température du four	Température initiale de 60 °C, augmentée par palier de 20 °C/min jusqu'à 170 °C, 10 °C/min jusqu'à 360 °C (maintenue pendant 10 min)
Gaz vecteur	Vitesse linéaire de 87,7 cm/s (gaz vecteur utilisé: H ₂)
Température du détecteur	370 °C
Injecteur	On-column (à froid)
Volume d'injection	1 µl de la solution préparée en 8.6

8.8 Identification et intégration des pics

Identifier les pics avec la solution étalon préparée en 8.2. Des chromatogrammes types sont illustrés à l'Annexe A. Les temps de rétention relatifs des composés ou des familles de composés identifié(e)s sont répertoriés dans le Tableau 3.

Lorsque le composé d'intérêt est présent sous la forme d'un pic unique, l'intégration selon des critères conventionnels est utilisée. Le niveau de résolution n'est pas toujours obtenu par famille car certains composés mineurs peuvent être présents. Il est donc recommandé d'intégrer conjointement l'ensemble des pics ou de les associer dans une somme.

Tableau 3 — Temps de rétention relatifs indicatifs des composés ou des familles de composés identifié(e)s

Temps de rétention par rapport au tridécanyolglycérol	Détermination ou classe de composés
< 0,53	Alcools (<i>dérivé silylé</i>)
0,57 à 0,63	Acides gras libres (<i>dérivé silylé</i>)
0,87	Squalène
0,82 à 0,86	Monoglycérides (<i>dérivé silylé</i>)
0,90	Delta-tocophérol (<i>dérivé silylé</i>)
0,94	Gamma-tocophérol (<i>dérivé silylé</i>)
0,99	α -Tocophérol (<i>dérivé silylé</i>)
0,98 à 1,05	Stérols (<i>dérivé silylé</i>)
1,00	Tridécanyolglycérol (<i>étalon interne</i>)
1,30 à 1,36	Diglycérides (<i>dérivé silylé</i>)
1,52 à 1,57	Esters de stérol
> 1,72	Triglycérides

9 Résultats de la détermination

9.1 Calcul du facteur de réponse

Calculer le facteur de réponse, F_x , de chaque composé représentatif de la famille x comme indiqué dans la [Formule \(1\)](#):

$$F_x = \frac{A_{IS} \cdot m_x}{m_{IS} \cdot A_x} \quad (1)$$

où

F_x est le facteur de réponse du composé x associé à la famille X ;

m_{IS} est la masse de tridécanyolglycérol (étalon interne), en mg;

m_x est la masse de composé de référence x , en mg;

A_{IS} est l'aire du tridécanyolglycérol (étalon interne);

A_x est l'aire du composé de référence x .

Des exemples de facteurs de réponse indicatifs sont répertoriés dans le [Tableau 4](#).

Si les facteurs de réponse observés sont très différents de ceux indiqués dans le [Tableau 4](#), par exemple comme avec le squalène, il est recommandé d'utiliser une autre molécule d'étalon interne de structure chimique similaire à celle du composé en question.

Tableau 4 — Facteurs de réponse indicatifs des étalons par rapport au tridécanyolglycérol (étalon interne)

Classe déterminée	Étalon	Facteur de réponse
Alcools	Éicosanol	0,70
Acides gras libres	Acide oléique	1,04
Hydrocarbures	Squalène	0,89
Monoglycérides	Monooléine	1,19
Tocophérols	α -Tocophérol	0,90

Tableau 4 (suite)

Classe déterminée	Étalon	Facteur de réponse
Stérols	Cholestérol	0,75
Étalon interne	Tridécanylglycérol	1,00
Diglycérides	Dioléine	1,03
Esters de stérol	Palmitate de cholestérol	1,05
Triglycérides	Trioléine	1,14

9.2 Détermination quantitative

La fraction massique des composés de la famille X est calculée comme indiqué dans la [Formule \(2\)](#):

$$w_x = \frac{F_x \cdot m_{IS} \cdot \sum A_x \cdot 100}{A_{IS} \cdot m} \quad (2)$$

où

w_x est la fraction massique des composés de la famille X (en mg/100 mg);

F_x est le facteur de réponse du composé x associé à la famille;

m_{IS} est la masse de tridécanylglycérol (étalon interne), en mg;

A_{IS} est l'aire du tridécanylglycérol (étalon interne);

$\sum A_x$ est la somme des aires des composés de la famille X.

m est la masse de l'échantillon, en mg.

ISO/PRE TS 22115
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9887538a-cd62-4260-878a-aa07a74d3b73/iso-prf-ts-22115>

10 Fidélité de la méthode

10.1 Essai interlaboratoires

Les détails de l'essai et 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 Répétabilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels indépendants, obtenus avec la même méthode sur un matériau identique soumis à l'essai dans le même laboratoire par le même opérateur utilisant le même équipement dans un court intervalle de temps, ne doit dépasser la valeur de r donnée dans le [Tableau B.1](#) que dans 5 % des cas au plus.

10.3 Reproductibilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels, obtenus avec la même méthode sur un matériau identique soumis à l'essai dans différents laboratoires par différents opérateurs utilisant différents équipements, ne doit dépasser la valeur de R donnée dans le [Tableau B.1](#) que dans 5 % des cas au plus.