



**Norme
internationale**

ISO 20122

**Huiles végétales — Dosage
des hydrocarbures saturés
d'huile minérale (MOSH) et des
hydrocarbures aromatiques d'huile
minérale (MOAH) par analyse
par chromatographie en phase
liquide haute performance et
chromatographie en phase gazeuse
couplées à un détecteur à ionisation
de flamme (CLHP-CG-FID) en ligne
— Méthode pour une faible limite
de quantification**

**Première édition
2024-04**

Vegetable oils — Determination of mineral oil saturated hydrocarbons (MOSH) and mineral oil aromatic hydrocarbons (MOAH) with online-coupled high performance liquid chromatography-gas chromatography-flame ionization detection (HPLC-GC-FID) analysis — Method for low limit of quantification

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

[ISO 20122:2024](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/ccdd7d7b-c0ba-4b37-9211-c6b2645433ae/iso-20122-2024)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/ccdd7d7b-c0ba-4b37-9211-c6b2645433ae/iso-20122-2024>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2024

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
Introduction	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	3
5 Réactifs	3
6 Appareillage	6
7 Échantillon	8
7.1 Échantillonnage	8
7.2 Préparation de l'échantillon final pour les corps gras liquides et solides	8
8 Modes opératoires	8
8.1 Généralités	8
8.2 Extraction à l'hexane/éthanol pour l'élimination des substances interférentes	9
8.3 Saponification	9
8.4 Élimination des <i>n</i> -alcanes biogènes avec de l'oxyde d'aluminium pour le dosage de la fraction MOSH	9
8.5 Purification avant époxydation pour séparer les substances polaires	10
8.6 Époxydation éthanolique de la fraction MOAH pour oxyder les composés non aromatiques insaturés	10
8.7 Interface CLHP-CG	10
8.7.1 Conditions opératoires de CLHP	10
8.7.2 Configuration du CG	11
8.7.3 Configuration de la sortie de vapeur de solvant	12
8.7.4 Identification des pics	12
8.7.5 Essai d'aptitude à l'emploi du système	13
8.8 Essai à blanc	14
8.9 Contrôle qualité	14
9 Résultat du dosage	15
9.1 Contrôle des chromatogrammes pour déterminer le degré d'époxydation et d'autres paramètres pertinents	15
9.2 Calcul	15
10 Fidélité de la méthode	16
10.1 Limite de répétabilité	16
10.2 Limite de reproductibilité	17
11 Rapport d'essai	17
Annexe A (informative) Graphiques et chromatogrammes	18
Annexe B (informative) Données de fidélité	29
Annexe C (informative) Méthode alternative pour l'époxydation de la fraction MOAH (époxydation par l'acide performique)	42
Bibliographie	43

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'ISO attire l'attention sur le fait que la mise en application du présent document peut entraîner l'utilisation d'un ou de plusieurs brevets. L'ISO ne prend pas position quant à la preuve, à la validité et à l'applicabilité de tout droit de brevet revendiqué à cet égard. À la date de publication du présent document, l'ISO n'avait pas reçu notification qu'un ou plusieurs brevets pouvaient être nécessaires à sa mise en application. Toutefois, il y a lieu d'avertir les responsables de la mise en application du présent document que des informations plus récentes sont susceptibles de figurer dans la base de données de brevets, disponible à l'adresse www.iso.org/brevets. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié tout ou partie de tels droits de propriété.

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, 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'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir www.iso.org/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le comité technique 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'origines 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/fr/members.html.

Introduction

Pour obtenir une faible limite de quantification (LQ), la présente méthode inclut des étapes de traitement supplémentaires et partiellement modifiées, des spécifications pour le traitement uniforme de groupes de produits définis et des exigences supplémentaires relatives à l'aptitude à l'emploi du système au regard de l'EN 16995:2017.

Cette méthode a été soumise à essai dans le cadre d'une étude interlaboratoires en procédant à l'analyse d'échantillons d'huiles végétales naturellement contaminés et dopés, à des teneurs comprises entre 1 mg/kg et 75 mg/kg pour les MOSH et entre 1 mg/kg et 7 mg/kg pour les MOAH.

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

[ISO 20122:2024](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/ccdd7d7b-c0ba-4b37-9211-c6b2645433ae/iso-20122-2024)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/ccdd7d7b-c0ba-4b37-9211-c6b2645433ae/iso-20122-2024>

Huiles végétales — Dosage des hydrocarbures saturés d'huile minérale (MOSH) et des hydrocarbures aromatiques d'huile minérale (MOAH) par analyse par chromatographie en phase liquide haute performance et chromatographie en phase gazeuse couplées à un détecteur à ionisation de flamme (CLHP-CG-FID) en ligne — Méthode pour une faible limite de quantification

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie un mode opératoire pour le dosage des hydrocarbures saturés et aromatiques (de C10 à C50) dans les matières grasses et huiles végétales en utilisant la chromatographie en phase liquide haute performance et la chromatographie en phase gazeuse couplées à un détecteur à ionisation de flamme (CLHP-CG-FID) en ligne^{[4][5][6]}. Le présent document ne s'applique pas à d'autres matrices.

La méthode s'applique à l'analyse des hydrocarbures saturés d'huile minérale (MOSH) et/ou des hydrocarbures aromatiques d'huile minérale (MOAH).

D'après les résultats des études interlaboratoires, il a été démontré que la méthode est adaptée pour des concentrations massiques de MOSH supérieures à 3 mg/kg et des concentrations massiques de MOAH supérieures à 2 mg/kg.

En cas de suspicion d'interférences, l'origine fossile des fractions MOSH et MOAH peut être vérifiée par un examen par chromatographie en phase gazeuse à deux dimensions, couplée à la spectrométrie de masse (CG×CG-SM).

ISO 20122:2024

Une méthode alternative d'époxydation de la fraction MOAH (époxydation par l'acide performique) est proposée dans l'[Annexe C](#). Cette méthode donne des résultats comparables à l'époxydation éthanolique de la fraction MOAH décrite en [8.6](#). Cette méthode alternative d'époxydation s'est avérée efficace pour les échantillons présentant de fortes interférences dans la fraction MOAH (par exemple, les huiles tropicales)^[14].

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

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

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 <https://www.electropedia.org/>

3.1

hydrocarbures saturés d'huile minérale

MOSH

hydrocarbures paraffiniques (chaîne ouverte, généralement ramifiée) et naphténiques (cycliques, alkylés) provenant d'huiles minérales et situés dans l'intervalle d'ébullition des *n*-alcane avec une chaîne carbonée constituée de 10 à 50 atomes de carbone, obtenus par chromatographie en phase liquide haute performance et chromatographie en phase gazeuse couplées à un détecteur à ionisation de flamme (CLHP-CG-FID) en ligne en appliquant la présente méthode

3.2

hydrocarbures aromatiques d'huile minérale

MOAH

hydrocarbures aromatiques principalement alkylés provenant d'huiles minérales et situés dans l'intervalle d'ébullition des *n*-alcane avec une chaîne carbonée constituée de 10 à 50 atomes de carbone, obtenus par chromatographie en phase liquide haute performance et chromatographie en phase gazeuse couplées à un détecteur à ionisation de flamme (CLHP-CG-FID) en ligne

3.3

mélange complexe non résolu

UCM

mélange complexe d'hydrocarbures saturés ou aromatiques non résolus par chromatographie en phase gazeuse, comme les paraffines ramifiées, les naphtènes alkylés et les aromatiques alkylés, qui forme une enveloppe lorsqu'il est analysé par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CG-FID)

3.4

hydrocarbures saturés d'oligomères de polyoléfines

POSH

hydrocarbures synthétiques provenant d'oligomères de polyoléfines, tels que le polyéthylène, le polypropylène et les polybutylènes

Note 1 à l'article: Les produits destinés à entrer en contact avec les aliments dans lesquels ils sont présents comprennent les sacs, les récipients ou les films en plastique, les feuilles thermoscellables et autres films de lamination, ainsi que les adhésifs et les plastifiants.

Note 2 à l'article: Les POSH peuvent être distingués des hydrocarbures saturés d'huile minérale (MOSH) par leur profil chromatographique, mais il est difficile de les différencier et de les isoler par chromatographie s'ils sont tous deux présents^[5].

3.5

hydrocarbures saturés d'oligomères de résine

ROSH

hydrocarbures saturés synthétiques (oligomères de monoterpènes, cyclopentadiènes et autres monomères C5 ou C9) qui entrent dans la composition des adhésifs thermofusibles et peuvent migrer dans l'échantillon principalement par transfert en phase gazeuse ou par contact direct

3.6

hydrocarbures aromatiques d'oligomères de résine

ROAH

hydrocarbures aromatiques synthétiques qui entrent dans la composition des adhésifs thermofusibles et peuvent migrer dans l'échantillon principalement par transfert en phase gazeuse ou par contact direct

3.7

poly-alpha-oléfines

PAO

isoparaffines synthétiques à chaînes latérales courtes ou longues, utilisées comme lubrifiants ou dans les adhésifs et les colles thermofusibles

Note 1 à l'article: Lorsqu'ils sont analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CG-FID), ils sont reconnaissables à des séries d'enveloppes plutôt étroites d'hydrocarbures ramifiés non résolus, régulièrement espacées entre elles^[5].

4 Principe

L'échantillon est saponifié. Le résidu insaponifiable est ensuite utilisé pour obtenir des fractions purifiées en suivant d'autres étapes. Ces fractions sont séparées en fractions MOSH et MOAH sur une colonne de gel de silice du système de CLHP-CG-FID; chacune d'elles est transférée individuellement vers le chromatographe en phase gazeuse (CG) couplé en ligne. La majeure partie du solvant est éliminée par une sortie de vapeur de solvant située entre la précolonne exempte de phase stationnaire et la colonne de séparation de la CG.

Afin de satisfaire aux exigences liées aux diverses substances secondaires interférentes présentes dans les échantillons, des modes opératoires spécifiques de préparation des échantillons sont décrits pour les différents groupes de produits. L'époxydation est une étape de purification nécessaire pour la quantification des MOAH pour tous les échantillons d'huiles végétales. Cette étape de purification permet l'élimination des oléfines, telles que le squalène, qui sont éluées dans la fraction MOAH et interfèrent avec la quantification. Selon l'échantillon, cette réaction peut induire l'époxydation d'une partie des MOAH ou l'élimination incomplète des oléfines interférentes.

L'aire du signal pour l'huile minérale est calculée en soustrayant les pics en chevauchement de l'aire totale. Le chevauchement des pics peut être causé par les *n*-alcane (hydrocarbures naturels), les terpènes, les stérènes, le squalène et leurs produits d'isomérisation, entre autres substances. Les MOSH et les MOAH sont quantifiés au moyen d'un étalon interne ajouté avant analyse. Des étalons de vérification sont ajoutés pour surveiller les conditions appropriées de fractionnement par CLHP et de transfert au CG.

NOTE L'étape d'époxydation peut induire une dégradation des MOAH avec trois noyaux aromatiques ou plus.

5 Réactifs

AVERTISSEMENT — Il est fait référence aux règlements qui régissent la manipulation des substances dangereuses. Les mesures de sécurité sur les plans technique, organisationnel et humain doivent être suivies.

Tous les matériaux doivent être soumis à un essai à blanc afin de déterminer leur influence. Il est recommandé de chauffer toute la verrerie dans un four conformément aux instructions. Il convient que tous les autres matériaux entrant en contact direct avec l'échantillon soient également chauffés et ne soient pas en polyéthylène ou en polypropylène.

<https://standards.iteh.ai>

Sauf indication contraire: [catalog/standards/iso/ccdd7d7b-c0ba-4b37-9211-c6b2645433ae/iso-20122-2024](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/ccdd7d7b-c0ba-4b37-9211-c6b2645433ae/iso-20122-2024)

- des réactifs analytiques purs doivent être utilisés;
- l'eau doit être distillée ou de pureté correspondante;
- le terme «solution» désigne une solution aqueuse.

5.1 Gel de silice 60¹⁾ extra pur, pour chromatographie sur colonne avec une taille de particules de 60 µm à 200 µm (70 mesh à 230 mesh), conservé en bouteille de verre pour éviter la contamination. Le gel de silice est chauffé dans une étuve à 400 °C pendant au moins 16 h et refroidi dans un dessiccateur propre (sans graisse).

5.2 Sulfate de sodium anhydre, de qualité analytique et de pureté ≥ 99 %.

En cas de contamination, chauffer le sulfate de sodium dans une étuve à 400 °C pendant au moins 16 h et laisser refroidir dans un dessiccateur propre (sans graisse).

1) Ce gel de silice est disponible auprès de Merck, sous la référence 7754 ou 7734. Ceci est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. 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 produit. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils aboutissent aux mêmes résultats.

5.3 *n*-Hexane, exempt d'hydrocarbures dans l'intervalle d'ébullition des *n*-alcane C10 à C50 et d'autres impuretés telles que les produits d'oxydation de l'hexane.

Vérifier la pureté du *n*-hexane comme suit:

- mélanger 30 ml de *n*-hexane avec 25 µl de solution étalon interne (5.17) et deux gouttes de maléate (5.26);
- faire s'évaporer à l'aide d'une unité d'évaporation;
- dissoudre le résidu dans 0,2 ml de *n*-hexane;
- injecter 50 µl dans le système de CLHP-CG-FID pour analyse.

Il convient que l'aire de l'enveloppe mesurée (à l'exclusion de tout pic fin isolé) ne dépasse pas un dixième du signal obtenu à la LQ.

NOTE Les hydrocarbures dans l'intervalle d'ébullition étudié interfèrent avec la détection spécifique des constituants des huiles minérales au cours de la chromatographie en phase gazeuse des fractions MOSH et MOAH, tandis que les composés polaires, tels que les produits d'oxydation de l'hexane, interfèrent avec la séparation des *n*-alcane à longue chaîne au cours de la chromatographie sur colonne d'alumine.

5.4 Dichlorométhane (DCM) d'une pureté ≥ 99 %.

Contrôler la pureté en suivant le même mode opératoire que pour le *n*-hexane (5.3) avec 30 ml de DCM.

5.5 Toluène.

5.6 Pérylène (PER) d'une pureté > 99 %.

5.7 5- α -Cholestane (CHO), d'une pureté ≥ 97 %.

5.8 *n*-Undécane (C11), d'une pureté ≥ 99 %.

5.9 *n*-Tridécanne (C13), d'une pureté ≥ 99 %.

5.10 Tri-*tert*-butylbenzène (TBB), d'une pureté ≥ 97 %.

5.11 Bicyclohexyle (CYCY), d'une pureté ≥ 99 %.

5.12 1-Méthylnaphtalène (1-MN), d'une pureté ≥ 95 %.

5.13 2-Méthylnaphtalène (2-MN), d'une pureté ≥ 97 %.

5.14 Pentylbenzène (PB), d'une pureté ≥ 99 %.

5.15 Solution mère, concentrations massiques, $\rho = 5$ mg/ml, 10 mg/ml ou 20 mg/ml. Par exemple, peser à 1 mg près 50 mg de C13 (5.9), respectivement 100 mg de C11 (5.8), TBB (5.10), CYCY (5.11), 1-MN (5.12), 2-MN (5.13) et PB (5.14) ainsi que 200 mg de CHO (5.7) et de PER (5.6), puis compléter jusqu'au trait dans une fiole jaugée de 10 ml avec du toluène (5.5). Conserver ces solutions à température ambiante pour les maintenir stables. Dissoudre les cristaux éventuellement formés pendant la période de conservation en réchauffant doucement la solution.

La vérification du début de la fraction MOAH basée sur le TBB peut entraîner des pertes de benzènes et de naphthalènes fortement alkylés lorsqu'ils sont présents dans les échantillons (c'est-à-dire dans les cosmétiques) et lorsque les performances chromatographiques de la colonne sont limitées. Dans ce cas, le di(2-éthylhexyle) benzène (DEHB) peut être utilisé en complément comme étalon de vérification et le fractionnement doit être adapté^[10].

5.16 Solution étalon interne 1 (EI1)²⁾, concentrations massiques $\rho = 150 \mu\text{g/ml}$ (C13), $300 \mu\text{g/ml}$ (C11, CYCY, PB, 1-MN, 2-MN et TBB) et $600 \mu\text{g/ml}$ (CHO et PER). Transférer $300 \mu\text{l}$ de solution mère (5.15) dans une fiole jaugée de 10 ml et compléter jusqu'au trait avec du toluène (5.5).

5.17 Solution étalon interne 2 (EI2), de concentrations massiques $\rho = 30 \mu\text{g/ml}$ (C13), $60 \mu\text{g/ml}$ (C11, TBB, CYCY, 1-MN, 2-MN et PB) et $120 \mu\text{g/ml}$ (PER et CHO): diluer la solution EI1 (5.16) d'un facteur 5; par exemple, compléter $1\,000 \mu\text{l}$ de solution EI1 (5.16) à 5 ml avec du *n*-hexane.

5.18 Oxyde d'aluminium 90, alcalin, pour chromatographie sur colonne, de $0,063 \text{ mm}$ à $0,2 \text{ mm}$, activé. Chauffer l'alumine avant utilisation pendant au moins 16 h à $500 \text{ }^\circ\text{C}$ dans une étuve et la refroidir à température ambiante dans un dessiccateur nettoyé (sans graisse broyée).

5.19 Acide méta-chloroperbenzoïque (mCPBA), dont les quantités déclarées sont basées sur une pureté $\leq 77 \%$ environ;

Le mCPBA disponible sur le marché contient différentes quantités de mCPBA, d'acide méta-chlorobenzoïque et d'eau. Pour la purification du réactif, éliminer les hydrocarbures contaminants: par exemple, mettre soigneusement en suspension 5 g de mCPBA avec 200 ml de *n*-hexane dans un bécher en polyéthylène téréphtalate (PET) placé dans un bain à ultrasons et filtrer sur verre fritté sous vide. Laisser sécher le mCPBA purifié dans une hotte de laboratoire. Ne pas stocker dans des récipients en verre, car le mCPBA se décompose sur les surfaces en verre. Le mCPBA disponible sur le marché contient toujours de l'acide méta-chlorobenzoïque et de l'humidité résiduelle de sorte à garantir la sécurité de la manipulation en laboratoire. En revanche, le mCPBA pur est explosif. Par conséquent, il n'est pas recommandé d'isoler le mCPBA en tant que substance pure, ce qui va au-delà du cadre de la purification décrite ici. L'élution avec un mélange de solvants composé de 200 ml de *n*-hexane et de 20 ml de DCM peut permettre d'éliminer d'autres impuretés, mais conduit également à des pertes plus importantes (elle ne permet d'obtenir que 75% du mCPBA initial, avec une teneur d'environ 74 g à 84 g de mCPBA pour 100 g de matière première dans le produit purifié).

Pour le dosage de la teneur en mCPBA du réactif, peser environ $0,2 \text{ g}$ de mCPBA dans un bécher en PET, ajouter 50 ml d'eau distillée et bien mélanger. Ajouter 5 ml d'acide acétique concentré et 10 ml de solution d'iodure de sodium (10 g d'iodure de sodium dans 100 ml d'eau). Procéder ensuite à un pré-titrage de rouge foncé à jaune clair avec la solution de thiosulfate de sodium de normalité $0,1 \text{ N}$. Ajouter quelques gouttes de solution d'indicateur à l'amidon et titrer de bleu foncé à incolore au point d'équivalence (consommation généralement inférieure à 20 ml).

Calculer la teneur w (mCPBA) en pourcentage en masse comme indiqué par la [Formule \(1\)](#):

$$w = \frac{N \times V \times 86,29 \times 100}{E} \quad (1)$$

où

N est la normalité de la solution de thiosulfate de sodium;

V est le volume total de la solution de thiosulfate de sodium consommée, en l;

E est la masse du réactif, en g.

5.20 Solution de mCPBA dans l'éthanol, $\rho = 100 \text{ mg/ml}$: par exemple, dissoudre 1 g de mCPBA (5.19) dans 10 ml d'éthanol (5.28). Préparer une nouvelle solution pour chaque jour de travail.

5.21 Thiosulfate de sodium, anhydre, d'une pureté $> 90,0 \%$.

2) Ce mélange étalon est disponible auprès, par exemple, de Restek Corp., réf. 31070. Ceci est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. 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 produit. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils aboutissent aux mêmes résultats.

5.22 Carbonate de sodium hydrogéné (ou carbonate de sodium), anhydre, d'une pureté > 90,0 %.

5.23 Solution de désactivation de l'excédent de mCPBA: solution de thiosulfate de sodium et de carbonate de sodium, $\rho = 50$ g/l: par exemple, dissoudre 5 g de thiosulfate de sodium et 5 g de carbonate de sodium hydrogéné (ou de carbonate de sodium) dans 100 ml d'eau distillée et bien mélanger.

5.24 Colonne d'alumine et de gel de silice. Placer un filtre (6.4) dans une colonne en verre (6.3). Ajouter et comprimer 10 g d'alumine (5.18), 3 g de gel de silice (5.1) et 1 g de sulfate de sodium (5.2).

5.25 Colonne de purification. Placer un filtre (6.4) dans une cartouche vide d'extraction en phase solide en verre (d'un volume de 6 ml), ajouter 3 g de gel de silice (5.1), comprimer et recouvrir avec 1 g de sulfate de sodium (5.2).

5.26 bis (2-éthylhexyle) maléate, d'une pureté de 90 %. Contrôler la pureté par un essai à blanc.

Le bis (2-éthylhexyle) maléate peut être remplacé par du bis(2-éthylhexyle) sébacate afin de limiter le risque de perturbation du procédé d'époxydation.

5.27 Solution étalon de *n*-alcane avec des longueurs de chaîne de 10 à 50 atomes de carbone dans la même concentration massique, pour contrôler la discrimination des substances à faible ou à haut point d'ébullition, $\rho = 1$ µg/ml. Conserver cette solution à température ambiante, faute de quoi le C50 risque de cristalliser.

5.28 Éthanol, absolu.

Contrôler la pureté comme pour le *n*-hexane (5.3) avec 30 ml d'éthanol.

5.29 Mélange d'éthanol et de *n*-hexane, de fraction volumique $\varphi = 50$ %: par exemple, mélanger 50 ml d'éthanol (5.28) avec 50 ml de *n*-hexane (5.3).

5.30 Mélange d'élution de *n*-hexane et de DCM: par exemple, mélanger 30 ml de DCM (5.4) avec 70 ml de *n*-hexane (5.3). En raison de la volatilité du DCM, la solution doit être fraîchement préparée.

5.31 Solution d'hydroxyde de potassium: par exemple, 50 g d'hydroxyde de potassium dans 100 ml d'eau distillée, $w = 33$ g/100 g.

6 Appareillage

La méthode suivante s'est avérée efficace pour obtenir un niveau de blanc suffisamment bas: il convient que la verrerie (à l'exception des fioles jaugées) soit chauffée dans un four à 430 °C pendant 4 h ou pendant la nuit à 400 °C, puis conservée dans des dessiccateurs ou d'autres contenants avant d'être utilisée. Il est par ailleurs recommandé:

- d'effectuer plusieurs dosages dans différentes séries sans les faire se succéder directement;
- de ne pas utiliser de graisse pour les joints rodés;
- de ne pas utiliser de crème pour les mains;
- de ne manipuler les échantillons qu'avec des gants;
- d'utiliser de la verrerie si possible;
- de vérifier la pureté de l'azote en cas de séchage à l'azote;
- de rincer au préalable les fioles jaugées, les pipettes en verre et toute autre verrerie requise avec du *n*-hexane.

- 6.1 **Balance analytique**, d'une précision d'affichage de 0,000 1 g, et d'une exactitude de pesée de 0,001 g.
- 6.2 **Centrifugeuse et tubes à centrifuger.**
- 6.3 **Colonne en verre, sans robinet**, de 15 cm à 20 cm de long et de 15 mm à 20 mm de diamètre intérieur.
- 6.4 **Filtre pour colonne de verre, extrait ou chauffé**, filtre en laine de quartz/fibre de verre.
- 6.5 **Flacon en verre, 40 ml**, avec bouchon à vis hermétique en polytétrafluoroéthylène (PTFE).
- 6.6 **Évaporateur rotatif**, sous vide et avec bain-marie à 35 °C.

Il est également possible d'utiliser des dispositifs similaires. Veiller à éviter toute contamination. Si nécessaire, nettoyer méticuleusement le système entre les dosages.

6.7 **Colonne de CLHP**, par exemple LiChrospher Si 60 ou Allure Silica³⁾, matériau 5 µm, 2 x 250 mm ou comparable.

6.8 **Précolonne de CG exempte de phase stationnaire, capillaire en silice fondue ou en métal**, par exemple HydroGuard® MXT®⁴⁾, 10 m × 0,53 mm ou comparable.

NOTE Les capillaires de 6.8 à 6.12 se sont avérés appropriés et peuvent être adaptés au système pour répondre aux exigences et obtenir des résultats comparables.

6.9 **Colonne de séparation de CG**, capillaire en silice fondue ou en métal, température programmée stable jusqu'à au moins 370 °C: phase stationnaire de 100 % de diméthyl-polysiloxane ou de 95 % diméthyl et 5 % diphenyl-méthylpolysiloxane; longueur: 15 m; diamètre intérieur (DI): 0,32 mm ou 0,25 mm; épaisseur du film: 0,10 µm à 0,25 µm.

6.10 **Capillaire en silice fondue ou en métal**, désactivé, pour le transfert des fractions obtenues par CLHP de la vanne au connecteur en T du CG; longueur: 1 m; DI: 0,1 mm.

6.11 **Capillaire désactivé**, du connecteur en T à la sortie de vapeur entre la précolonne et la colonne de séparation.

6.12 **Capillaire de restriction à la sortie de vapeur**, désactivé; longueur: 1 m; DI: 0,05 mm.

6.13 **Seringue de 100 µl**, adaptée à l'injection de 5 µl à 100 µl pour la chromatographie en phase liquide.

6.14 **Pipette Pasteur en verre.**

NOTE L'utilisation d'embouts de pipette en plastique et de film de polyéthylène entraîne une augmentation des niveaux de blanc.

6.15 **Système de CLHP-CG-FID en ligne**, composé d'un équipement de CLHP capable de réaliser un gradient binaire, d'une vanne d'injection, d'une colonne de CLHP (6.7), d'un détecteur UV (longueur d'onde de détection: 230 nm), de vannes de transfert pour le rinçage à circulation inversée de la colonne et le transfert de fraction dans le CG, dudit CG avec sortie de vapeur de solvant et d'un système de commande pneumatique et d'évaluation. Un système de commande automatique est également recommandé.

3) LiChrospher Si 60 et Allure Silica sont des exemples de produits appropriés disponibles sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO approuve l'emploi des produits ainsi désignés.

4) HydroGuard® MXT® est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. 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 produit.

6.16 Agitateur de tube à essai avec contrôle de la température et agitation (par exemple, 500 r/min ou comparable).

7 Échantillon

7.1 Échantillonnage

L'échantillonnage ne fait pas partie de la présente méthode. L'échantillon ne peut être conservé que dans des flacons en verre, en aluminium ou dans d'autres matériaux non susceptibles de libérer des hydrocarbures. Les conditionnements en papier, polyéthylène ou polypropylène ne sont pas adaptés. Dans certains cas, des récipients en PET ou des sachets fabriqués à partir d'un polyamide haute performance tel que le RILSAN⁵⁾ peuvent être utilisés. Une attention particulière doit également être portée aux fermetures et aux matériaux d'étanchéité des récipients. Il convient d'éviter l'utilisation de crème pour les mains lors de la manipulation des échantillons. L'échantillonnage doit être vérifié par des essais à blanc en utilisant du *n*-hexane au lieu d'un échantillon.

Une méthode d'échantillonnage recommandée est indiquée dans l'ISO 5555.

7.2 Préparation de l'échantillon final pour les corps gras liquides et solides

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

Les traitements spéciaux de l'échantillon pour essai (tels que la filtration et la fusion) doivent être mentionnés.

8 Modes opératoires

8.1 Généralités

Selon le type de corps gras, les échantillons doivent être préparés différemment. Les cas spécifiques A à C sont indiqués ci-dessous:

- A: préparer les corps gras ayant une teneur inconnue ou élevée en alcanes biogènes à longue chaîne et en composés insaturés^[2], comme l'huile d'olive, l'huile de colza et l'huile de tournesol, ainsi que des échantillons comparables conformément à [8.2](#) (distribution de l'hexane/l'éthanol). En utilisant deux fractions distinctes de 10 ml d'extrait, appliquer le mode opératoire décrit en [8.3](#) (saponification) sur la première fraction pour le dosage de la teneur en MOSH conformément à [8.4](#) (colonne d'oxyde d'aluminium), puis répéter ce mode opératoire de saponification ([8.3](#)) sur la deuxième fraction pour le dosage de la teneur en MOAH conformément à [8.5](#) (purification) et [8.6](#) (époxydation).
- B: préparer les corps gras contenant peu d'alcanes biogènes à longue chaîne et de composés insaturés perturbateurs, tels que la graisse de coco, l'huile de lin et l'huile de palme, ainsi que des échantillons comparables sans utiliser la purification sur colonne d'alumine, conformément à [8.2](#) (extraction à l'hexane/éthanol), [8.3](#) (saponification), [8.5](#) (purification) et [8.6](#) (époxydation). Doser les fractions MOSH et MOAH à partir de la solution obtenue.
- C: pour l'utilisation automatisée de la colonne d'alumine, préparer les corps gras conformément à [8.2](#) (extraction à l'hexane/éthanol), [8.3](#) (saponification), [8.5](#) (purification) et [8.6](#) (époxydation). Injecter dans le système de CLHP-CG-FID. Après séparation des MOSH, qui sont transférés dans une colonne d'oxyde d'aluminium intégrée en ligne, la fraction MOAH peut être dosée au cours du même cycle à l'aide d'un système à deux canaux.

Tout laboratoire ayant recours à des procédés automatisés doit effectuer des essais pour s'assurer que les résultats obtenus avec ces procédés automatisés ne diffèrent pas des résultats obtenus avec un procédé manuel.

5) RILSAN est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. 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 produit.