



Norme
internationale

ISO 18363-3

Corps gras d'origines animale et végétale — Détermination des esters de chloropropanediols (MCPD) et d'acides gras et des esters de glycidol et d'acides gras par CPG/SM —

Partie 3:

Méthode par transestérification acide et mesure du 2-MCPD, du 3-MCPD et du glycidol

Animal and vegetable fats and oils — Determination of fatty-acid-bound chloropropanediols (MCPDs) and glycidol by GC/MS —

Part 3: Method using acid transesterification and measurement for 2-MCPD, 3-MCPD and glycidol

Deuxième édition
2024-06

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

[ISO 18363-3:2024](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/3df5ca72-aa17-41b4-a993-f79fa448af60/iso-18363-3-2024)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/3df5ca72-aa17-41b4-a993-f79fa448af60/iso-18363-3-2024>



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	2
5 Réactifs	2
5.1 Composés étalons et composés de référence	2
5.2 Solutions étalons	3
5.2.1 Généralités	3
5.2.2 Solutions mères (1 mg/ml)	3
5.2.3 Solutions de travail	3
5.3 Autres réactifs	4
5.4 Solutions de réactifs	4
6 Appareillage	5
7 Échantillon	6
7.1 Échantillonnage	6
7.2 Préparation de l'échantillon pour essai	6
8 Mode opératoire	6
8.1 Préparation de l'échantillon pour essai	6
8.2 Préparation de la droite d'étalonnage	7
8.3 Références relatives à la chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CPG/SM)	7
9 Expression des résultats	8
9.1 Quantification des esters de 3-MCPD	8
9.2 Quantification des esters de 2-MCPD	9
9.3 Quantification des esters de glycidol	10
10 Fidélité	11
10.1 Généralités	11
10.2 Répétabilité	11
10.3 Reproductibilité entre jours	11
11 Rapport d'essai	11
Annexe A (informative) Construction des droites d'étalonnage	12
Annexe B (informative) Résultats de l'essai interlaboratoires	16
Bibliographie	18

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).

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 18363-3:2017), dont elle constitue une révision mineure.

Les modifications principales sont les suivantes:

- révision du texte de l'Introduction pour qu'il soit en cohérence avec l'ISO 18363-4:2021.

Une liste de toutes les parties de la série ISO 18363 se trouve sur le site web de l'ISO.

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

La série ISO 18363^[1] peut être utilisée pour la détermination des esters de MCPD et de glycidol. La présente introduction décrit les méthodes spécifiées dans les différentes parties afin de permettre à l'analyste de décider des méthodes appropriées en fonction de son application. L'application détaillée de chaque méthode figure dans le domaine d'application de chaque méthode concernée.

L'ISO 18363-1 est une méthode différentielle équivalente à la norme C-VI 18 (10)^[2] de la DGF et identique à la méthode officielle Cd 29c-13^[3] de l'AOCs. En résumé, elle repose sur la libération rapide par catalyse alcaline de 3-MCPD et de glycidol à partir de leurs dérivés esters. Le glycidol est par la suite converti en 3-MCPD. Elle comprend deux parties. La première partie (A) permet de déterminer la somme des esters de 3-MCPD et des esters de glycidol, tandis que la seconde partie (B) ne détermine que les esters de 3-MCPD. Les deux analyses reposent sur la libération des analytes cibles, le 3-MCPD et le glycidol, à partir des esters par alcoololyse en présence d'un catalyseur alcalin à température ambiante. Dans la partie A, une solution acidifiée de chlorure de sodium est utilisée pour interrompre la réaction qui induit par la suite la conversion du glycidol en 3-MCPD. Il n'est par conséquent plus possible de faire la distinction entre le 3-MCPD et le glycidol dans la partie A. Dans la partie B, la réaction est interrompue par ajout d'une solution saline acidifiée exempte de chlorure qui évite aussi la conversion du glycidol en MCPD. La partie B permet ainsi de déterminer la véritable teneur en 3-MCPD. Enfin, la teneur en glycidol de l'échantillon est proportionnelle à la différence entre les deux analyses (A – B) et peut être calculée lorsque le coefficient de transformation du glycidol en 3-MCPD a été déterminé. L'ISO 18363-1 est applicable à la détermination rapide des esters de 3-MCPD et de glycidol dans les corps gras d'origine végétale raffinés et non raffinés. L'ISO 18363-1 peut également s'appliquer aux graisses animales et aux huiles de friture usagées, mais une étude de validation doit être menée avant de procéder à l'analyse de ces matrices. Les analytes libres éventuellement contenus dans l'échantillon sont habituellement inclus dans les résultats, mais le document ne permet pas de faire la distinction entre les analytes libres et les analytes liés. Néanmoins, les études disponibles au moment de la publication du présent document ne révèlent aucune teneur en analytes libres aussi élevée que la teneur en analytes estérifiés dans les corps gras d'origine végétale raffinés. En principe, l'ISO 18363-1 peut également être modifiée de façon à permettre la détermination du 2-MCPD, mais une fois encore, une étude de validation doit être menée avant d'analyser cet analyte.

L'ISO 18363-2 correspond à la méthode officielle Cd 29b-13^[4] de l'AOCs. En résumé, elle repose sur une libération alcaline lente de MCPD et de glycidol à partir des formes esters. Le glycidol est par la suite converti en 3-MCPD. L'ISO 18363-2 comprend deux préparations d'échantillons qui se distinguent par l'utilisation d'étalons internes. Les deux préparations sont utilisées pour la détermination des esters de 2-MCPD et de 3-MCPD. Un résultat préliminaire pour les esters de glycidol est déterminé dans la partie A. Comme le 3-MCPD présent dans l'échantillon est partiellement converti en glycidol lors de la préparation de l'échantillon, la partie B sert à quantifier la teneur en glycidol issue de cette transformation qui est ensuite soustraite du résultat préliminaire obtenu pour le glycidol dans la partie A. L'utilisation d'isomères isotopiques de MCPD libres dans l'analyse A et de formes isotopiques d'esters de 2-MCPD et de 3-MCPD dans la partie B permet de surveiller le rendement du clivage des esters. Les analyses A et B reposent toutes les deux sur la libération des analytes cibles, 2-MCPD, 3-MCPD et glycidol à partir des esters dans le cadre d'une alcoololyse lente en présence d'un catalyseur alcalin dans le froid. Dans les deux préparations d'échantillons, la réaction est interrompue par l'ajout d'une solution acidifiée et concentrée de bromure de sodium de façon à transformer le glycidol instable et volatil en 3-MCPD qui présente des propriétés comparables au 3-MCPD en matière de stabilité et de performances chromatographiques. De plus, l'excès important d'ions bromure empêche la formation non souhaitée de 3-MCPD à partir du glycidol dans les échantillons contenant naturellement des quantités de chlorure. L'ISO 18363-2 est applicable à la détermination des esters de 3-MCPD, de 2-MCPD et de glycidol dans les corps gras d'origine végétale raffinés et non raffinés. Elle s'applique également aux graisses animales et aux huiles de friture usagées, mais une étude de validation doit être menée avant de procéder à l'analyse de ces matrices. Les analytes libres éventuellement contenus dans l'échantillon sont inclus dans les résultats, mais le document ne permet pas de faire la distinction entre les analytes libres et les analytes liés. Néanmoins, les études disponibles au moment de la publication du présent document ne révèlent aucune teneur en analytes libres aussi élevée que la teneur en analytes estérifiés dans les corps gras d'origine végétale raffinés.

Le présent document (à savoir, l'ISO 18363-3) correspond à la méthode officielle Cd 29a-13^[5] de l'AOCs. En résumé, elle repose sur la transformation des esters de glycidol en esters de 3-MCPD et une libération lente par catalyse acide du MCPD et du MBPD à partir des formes esters. Le présent document repose sur la

préparation d'un échantillon unique dans lequel les esters de glycidol sont transformés en monoesters de MBPD puis les analytes libres 2-MCPD, 3-MCPD et 3-MBPD sont libérés par alcoololyse lente en présence d'un catalyseur acide. Le 3-MBPD représente la véritable teneur en glycidol issu des formes esters. Le présent document est applicable à la détermination des esters de 2-MCPD, de 3-MCPD et de glycidol dans les corps gras d'origine végétale raffinés et non raffinés. Il s'applique également aux graisses animales et aux huiles de friture usagées, mais une étude de validation doit être menée avant de procéder à l'analyse de ces matrices. La méthode est adaptée à l'analyse d'analytes liés (estérifiés), mais si cela est exigé, le présent document peut également être mis en œuvre sans la transformation initiale des esters de glycidol. Dans cette configuration, les formes libres et liées du 2-MCPD et du 3-MCPD sont toutes deux incluses dans les résultats et la teneur en analytes libres peut être calculée comme la différence entre deux déterminations réalisées dans les deux configurations. Néanmoins, les études disponibles au moment de la publication du présent document ne révèlent aucune teneur en analytes libres aussi élevée que la teneur en analytes estérifiés dans les corps gras d'origine végétale raffinés.

L'ISO 18363-4 spécifie un mode opératoire rapide reposant sur un clivage alcalin rapide des esters de MCPD et de glycidol. Le glycidol libéré est par la suite converti en 3-MBPD. Le pH du clivage alcalin rapide entraîne généralement la transformation partielle des MCPD libérés en glycidol au cours du clivage des esters, conduisant à une surestimation de la teneur en esters de glycidol de l'échantillon. En ajoutant deux étalons internes distincts d'ester de 3-MCPD et d'ester de glycidol marqués aux isotopes, il est possible de quantifier la quantité de glycidol marqué résultant de la dégradation de l'étalon interne libéré. Cette information peut être utilisée pour corriger la surestimation du glycidol issu des esters de glycidol par le glycidol issu du 3-MCPD. Les deux mêmes étalons internes sont utilisés pour la quantification des esters de MCPD et des esters de glycidol, nécessitant la préparation d'un seul échantillon pour quantifier les esters de 2-MCPD, 3-MCPD et de glycidol. De même que dans l'ISO 18363-1, l'ISO 18363-2 et le présent document, les MCPD et 3-MBPD libérés sont dérivés avec de l'acide phénylboronique avant l'analyse par CPG-SM/SM. Au contraire des autres parties de la série ISO 18363, l'ISO 18363-4 exige un appareil de type CPG-SM/SM pour détecter sans ambiguïté chaque MBPD (marqué aux isotopes) requis pour une quantification exacte du glycidol issu des esters de glycidol. L'ISO 18363-4 est applicable à la détermination des esters de 3-MCPD, de 2-MCPD et de glycidol dans les corps gras d'origine végétale raffinés et non raffinés. Elle s'applique également aux graisses animales et aux huiles de friture usagées, mais une étude de validation doit être menée avant de procéder à l'analyse de ces matrices. Les analytes libres éventuellement contenus dans l'échantillon sont inclus dans les résultats, mais l'ISO 18363-4 ne permettra pas de faire la distinction entre les analytes libres et les analytes liés. Néanmoins, les études disponibles au moment de la publication du présent document ne révèlent aucune teneur en analytes libres aussi élevée que la teneur en analytes estérifiés dans les corps gras d'origine végétale raffinés.

Corps gras d'origines animale et végétale — Détermination des esters de chloropropanediols (MCPD) et d'acides gras et des esters de glycidol et d'acides gras par CPG/SM —

Partie 3:

Méthode par transestérification acide et mesure du 2-MCPD, du 3-MCPD et du glycidol

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie un mode opératoire permettant la détermination simultanée des esters de 2-MCPD (2-MCPD lié), des esters de 3-MCPD (3-MCPD lié) et des esters de glycidol (glycidol lié) en un seul essai, basé sur le clivage des esters par catalyse acide et la dérivation des analytes clivés (libres) à l'acide phénylboronique (PBA) avant analyse par CPG/SM.

Le présent document est applicable aux corps gras solides et liquides. Pour l'ensemble des trois analytes, la limite de quantification (LOQ) est de 0,1 mg/kg et la limite de détection (LOD) est de 0,03 mg/kg.

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

3 Termes et définitions

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

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

2-MCPD lié

quantité de 2-MCPD clivé à partir de ses formes estérifiées (liées) par transestérification en présence d'un catalyseur acide conformément à la méthode de référence

Note 1 à l'article: La teneur en 2-MCPD est calculée et consignée sous forme de fraction massique, exprimée en milligrammes par kilogramme (mg/kg).

3.2

3-MCPD lié

quantité de 3-MCPD clivé à partir de ses formes estérifiées (liées) par transestérification en présence d'un catalyseur acide conformément à la méthode de référence

Note 1 à l'article: La teneur en 3-MCPD est calculée et consignée sous forme de fraction massique, exprimée en milligrammes par kilogramme (mg/kg).

3.3

glycidol lié

quantité de glycidol clivé à partir de ses formes estérifiées (liées) par transestérification en présence d'un catalyseur acide conformément à la méthode de référence

Note 1 à l'article: La teneur en glycidol est calculée et consignée sous forme de fraction massique, exprimée en milligrammes par kilogramme (mg/kg).

4 Principe

L'échantillon de corps gras est dissout dans du tétrahydrofurane et les étalons internes (diester de 3-MCPD pentadeutééré et ester de glycidol pentadeutééré) sont ajoutés. Durant la première étape de préparation de l'échantillon, les esters de glycidol sont transformés en monoesters de 3-MBPD par l'addition d'une solution acidifiée de bromure de sodium. À la fin de la réaction, la phase organique, contenant les esters de 2-MCPD et de 3-MCPD et les esters de 3-MBPD, est séparée et évaporée à sec. Dans la deuxième étape, le résidu est dissout dans du tétrahydrofurane et la transestérification acide est initiée par l'ajout d'une solution alcoolique acide. Après 16 h d'incubation à 40 °C, le mélange d'échantillon est neutralisé et les esters méthyliques d'acides gras générés durant la transestérification sont éliminés. Enfin, l'échantillon purifié (contenant les analytes clivés [libres]) est soumis à une dérivation avec de l'acide phénylboronique avant analyse par CPG/SM.

La quantification des esters de 2- et 3-MCPD (exprimés sous forme de 2- et 3-MCPD liés) est basée respectivement sur le rapport des signaux 2-MCPD/3-MCPD-d5 et 3-MCPD/3-MCPD-d5. La quantification des esters de glycidol (exprimés sous forme de glycidol lié) est basée sur le rapport de signaux 3-MBPD/3-MBPD-d5.

Cette méthode permet la quantification simultanée des trois analytes en un seul essai.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/3df5ca72-aa17-41b4-a993-f79fa448af60/iso-18363-3-2024>

5 Réactifs

AVERTISSEMENT — Le présent document nécessite la manipulation de substances dangereuses. Les mesures de sécurité sur les plans technique, organisationnel et du personnel doivent être suivies.

Sauf indication contraire, des réactifs analytiquement purs doivent être utilisés. L'eau doit être de qualité 3 conformément à l'ISO 3696.

5.1 Composés étalons et composés de référence

5.1.1 1,2-Dipalmitoyl-3-chloropropanediol (PP-3-MCPD), pureté ≥ 95 % (par exemple, obtenu auprès d'un fournisseur ou synthétisé à partir de 3-MCPD et de chlorure de palmitoyle comme décrit par la Référence [6]).

NOTE Le 1,2-dipalmitoyl-3-chloropropanediol peut être remplacé par le 1,2-dioléyl-3-chloropropanediol ou d'autres diesters d'acide gras du 3-MCPD de longueur de chaîne similaire (les C16-C18 sont préférés car ils sont les plus abondants dans la plupart des corps gras).

5.1.2 1,3-Dipalmitoyl-2-chloropropanediol (PP-2-MCPD), pureté ≥ 95 % (par exemple, synthétisé à partir de 2-MCPD et de chlorure de palmitoyle comme décrit par la Référence [6]).

NOTE Par analogie avec les recommandations fournies pour le PP-3-MCPD, le 1,3-dipalmitoyl-2-chloropropanediol peut être remplacé par d'autres diesters d'acide gras du 2-MCPD de longueur de chaîne similaire (les C16-C18 sont préférés car ils sont les plus abondants dans la plupart des huiles/grasses).

5.1.3 1,2-Dipalmitoyl-3-chloropropanediol pentadeutééré (PP-3-MCPD-d5), pureté ≥ 95 %.

NOTE La même considération que celle appliquée au 1,2-dipalmitoyl-3-chloropropanediol est également valable pour son analogue pentadeutééré, voir note en [5.1.1](#).

5.1.4 Palmitate de glycidyle (Gly-P), pureté ≥ 98 %.

NOTE Le palmitate de glycidyle peut être remplacé par l'oléate de glycidyle ou d'autres esters d'acide gras du glycidol de longueur de chaîne similaire (les C16-C18 sont préférés car ils sont les plus abondants dans la plupart des huiles/grasses).

5.1.5 Palmitate de glycidyle pentadeutééré (Gly-P-d5), pureté ≥ 98 %.

NOTE La même considération que celle appliquée au palmitate de glycidyle est également valable pour son analogue pentadeutééré, voir note en [5.1.4](#).

5.2 Solutions étalons

5.2.1 Généralités

Toutes les solutions étalons peuvent être préparées avec du toluène ([5.3.5](#)) ou du tétrahydrofurane ([5.3.1](#)). Le toluène est préféré pour les solutions étalons contenant des esters de glycidol.

5.2.2 Solutions mères (1 mg/ml)

- Peser 10 mg de PP-3-MCPD ([5.1.1](#)) dans une fiole jaugée de 10 ml. Compléter jusqu'au trait, en s'assurant que l'étalon est totalement dissout dans le solvant.
- Peser 10 mg de PP-2-MCPD ([5.1.2](#)) dans une fiole jaugée de 10 ml. Compléter jusqu'au trait, en s'assurant que l'étalon est totalement dissout dans le solvant.
- Peser 10 mg de PP-3-MCPD-d5 ([5.1.3](#)) dans une fiole jaugée de 10 ml. Compléter jusqu'au trait, en s'assurant que l'étalon est totalement dissout dans le solvant.
- Peser 10 mg de Gly-P ([5.1.4](#)) dans une fiole jaugée de 10 ml. Compléter jusqu'au trait, en s'assurant que l'étalon est totalement dissout dans le solvant.
- Peser 10 mg de Gly-P-d5 ([5.1.5](#)) dans une fiole jaugée de 10 ml. Compléter jusqu'au trait, en s'assurant que l'étalon est totalement dissout dans le solvant.

NOTE Les solutions mères sont stables pendant au moins trois mois lorsqu'elles sont conservées à -18 °C.

5.2.3 Solutions de travail

- Étalonnage I (PP-3-MCPD, 55 µg/ml). Pipeter 550 µl de la solution mère [[5.2.2 a\)](#)] dans une fiole jaugée de 10 ml et compléter jusqu'au trait avec le solvant.
- Étalonnage II (PP-3-MCPD, 5,5 µg/ml). Pipeter 1 ml de la solution Étalonnage I [[5.2.3 a\)](#)] dans une fiole jaugée de 10 ml et compléter jusqu'au trait avec le solvant.
- Étalonnage III (PP-2-MCPD, 55 µg/ml). Pipeter 550 µl de la solution mère [[5.2.2 b\)](#)] dans une fiole jaugée de 10 ml et compléter jusqu'au trait avec le solvant.
- Étalonnage IV (PP-2-MCPD, 5,5 µg/ml). Pipeter 1 ml de la solution Étalonnage III [[5.2.3 c\)](#)] dans une fiole jaugée de 10 ml et compléter jusqu'au trait avec le solvant.

- e) Étalonnage V (Gly-P, 100 µg/ml). Pipeter 1 ml de la solution mère [5.2.2 d)] dans une fiole jaugée de 10 ml et compléter jusqu'au trait avec le solvant.
- f) Étalonnage VI (Gly-P, 10 µg/ml). Pipeter 1 ml de la solution Étalonnage V [5.2.3 e)] dans une fiole jaugée de 10 ml et compléter jusqu'au trait avec le solvant.
- g) Étalon interne I (PP-3-MCPD-d5, 40 µg/ml). Pipeter 400 µl de la solution mère [5.2.2 c)] dans une fiole jaugée de 10 ml et compléter jusqu'au trait avec le solvant.
- h) Étalon interne II (Gly-P-d5, 50 µg/ml). Pipeter 500 µl de la solution mère [5.2.2 e)] dans une fiole jaugée de 10 ml et compléter jusqu'au trait avec le solvant.

Plutôt que de préparer des solutions étalons séparées pour chaque analyte, les trois [5.2.3 a), c) et e)] peuvent être combinées en une seule solution étalon à concentration élevée des trois analytes («Étalonnage mixte I»). Pour préparer la solution mixte, pipeter 550 µl de solution mère de PP-3-MCPD [5.2.2 a)], 550 µl de solution mère de PP-2-MCPD [5.2.2 b)] et 1 ml de solution mère de Gly-P [5.2.2 d)] dans une fiole jaugée de 10 ml et compléter jusqu'au trait avec le solvant. Les solutions [5.2.3 b), d) et f)] peuvent également être combinées en une solution étalon unique à faible concentration des trois analytes («Étalonnage mixte II»). Pour préparer la solution mixte, pipeter 1 ml de Étalonnage mixte I dans une fiole jaugée 10 ml et compléter jusqu'au trait avec le solvant.

Les solutions étalons internes [5.2.3 g et h)] peuvent également être combinées en une seule solution («étalon interne mixte»). Pour préparer la solution mixte, pipeter 400 µl de PP-3-MCPD-d5 [5.2.2 c)] et 500 µl de Gly-P-d5 [5.2.2 e)] dans une fiole jaugée de 10 ml et compléter jusqu'au trait avec le solvant.

5.3 Autres réactifs

5.3.1 **Tétrahydrofurane**, anhydre.

5.3.2 **Méthanol**, de qualité analytique.

5.3.3 **n-Heptane**, de qualité analytique.

5.3.4 **Acétone**, de qualité analytique.

[ISO 18363-3:2024](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/3df5ca72-aa17-41b4-a993-f79fa448af60/iso-18363-3-2024)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/3df5ca72-aa17-41b4-a993-f79fa448af60/iso-18363-3-2024>

5.3.5 **Toluène**, de qualité analytique.

5.3.6 **Eau**, ultrapure (par exemple, obtenue à l'aide d'un système de purification).

5.3.7 **Acide sulfurique**, pureté ≥ 95 %.

5.3.8 **Hydrogénocarbonate de sodium**, pureté ≥ 99 %.

5.3.9 **Sulfate de sodium**, pureté ≥ 99 %.

5.3.10 **Acide phénylboronique**, pureté ≥ 97 %.

5.3.11 **Bromure de sodium**, pureté ≥ 99,5 %.

5.4 Solutions de réactifs

5.4.1 **Solution aqueuse acidifiée de bromure de sodium** [bromure de sodium 3 mg/ml, acide sulfurique 5 % (fraction volumique)]. Préparer une solution aqueuse concentrée de bromure de sodium en dissolvant 1 g de bromure de sodium (5.3.11) dans 10 ml d'eau ultrapure (5.3.6). Transférer 180 µl de la