



Norme
internationale

ISO 18363-2

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 2:

Méthode par transestérification alcaline lente et mesure pour le 2-MCPD, le 3-MCPD et le glycidol

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

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

Deuxième édition
2025-01

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

[ISO 18363-2:2025](https://standards.itih.ai/catalog/standards/iso/cbc7b51a-9ba3-47a4-b0ac-15c941a3175b/iso-18363-2-2025)

<https://standards.itih.ai/catalog/standards/iso/cbc7b51a-9ba3-47a4-b0ac-15c941a3175b/iso-18363-2-2025>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2025

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	3
5.1 Généralités	3
5.2 Solvants et produits chimiques	3
5.3 Composés étalons et composés de référence	3
5.4 Solutions de travail	4
5.5 Autres solutions	4
6 Appareillage	4
7 Échantillon	5
7.1 Échantillonnage	5
7.2 Préparation de l'échantillon pour essai	5
8 Mode opératoire	5
8.1 Ajout d'étalon de substitution et homogénéisation	5
8.2 Clivage des esters et transformation du glycidol	6
8.3 Élimination de la matrice	6
8.4 Dérivatisation	6
8.5 Références relatives à la chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CPG/SM)	6
9 Expression des résultats	7
9.1 Détermination du glycidol lié	7
9.2 Détermination du 2-MCPD lié	9
9.3 Détermination du 3-MCPD lié	9
9.4 Détermination du degré de clivage des diesters	9
9.5 Contrôle qualité	10
10 Notes	10
Annexe A (informative) Exemples de chromatogrammes pertinents et d'évaluation des données basés sur de l'huile de palme «à faible teneur en MCPD»	13
Annexe B (informative) Résultats des essais interlaboratoires	20
Bibliographie	22

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 18363-2:2018), dont elle constitue une révision mineure pour aligner l'Introduction 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. Cette introduction décrit les méthodes spécifiées dans les différentes parties pour que les analystes puissent décider des méthodes qui conviennent à leurs applications. L'application détaillée de chaque méthode figure dans le domaine d'application de chaque méthode concernée.

L'ISO 18363-1^[2] est une méthode différentielle équivalente à la norme C-VI 18 (10)^[3] de la DGF et identique à la méthode officielle Cd 29c-13^[4] 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 alcoolyse 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 et induire 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 s'applique 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 corps gras de friture usagés, 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,^[5] mais une fois encore, une étude de validation doit être menée avant d'analyser cet analyte.

Le présent document (à savoir l'ISO 18363-2) correspond à la méthode officielle Cd 29b-13^{[6][7]} de l'AOCs. Pour des informations sur les données de validation correspondantes, voir l'[Annexe B](#). 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. Le présent document 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 alcoolyse 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-MBPD 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. Le présent document s'applique 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 corps gras de friture usagés, 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.

L'ISO 18363-3^[8] correspond à la méthode officielle Cd 29a-13^{[9][10]} de l'AOCs. En résumé, elle repose sur la transformation des esters de glycidol en esters de 3-MBPD et une libération lente par catalyse acide du MCPD

et du MBPD à partir des formes esters. L'ISO 18363-3 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 lié. L'ISO 18363-3 s'applique 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. Elle s'applique également aux graisses animales et aux corps gras de friture usagés, 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, l'ISO 18363-3 peut également être mise 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^[11] 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, le présent document et l'ISO 18363-3, 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 corps gras de friture usagés, 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 2:

Méthode par transestérification alcaline lente et mesure pour le 2-MCPD, le 3-MCPD et le glycidol

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie un mode opératoire permettant la détermination parallèle du glycidol ainsi que du 2-MCPD et du 3-MCPD présents sous forme liée ou libre dans les corps gras. La méthode repose sur un clivage des esters par catalyse alcaline, une transformation du glycidol ainsi libéré en monobromopropanediol (MBPD) et une dérivatisation des diols libres (MCPD et MBPD) en présence d'acide phénylboronique (PBA). Bien qu'il soit considéré que du MCPD et du glycidol libres ne sont présents dans les corps gras qu'en quantités faibles ou négligeables, dans le cas où des analytes libres seraient présents, ceux-ci contribueraient proportionnellement aux résultats. Les résultats sont toujours la somme de la forme libre et de la forme liée d'un même analyte.

La présente méthode est applicable aux corps gras solides et liquides. Le présent document peut également s'appliquer aux graisses animales et aux huiles de friture usagées, mais une étude de validation est menée avant de procéder à l'analyse de ces matrices.

Le lait et les produits laitiers (ou les corps gras issus du lait et des produits laitiers) sont exclus du domaine d'application du présent document.

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

somme de tous les dérivés de 2-MCPD soumis à un clivage par alcoolyse en présence d'un catalyseur alcalin

Note 1 à l'article: La teneur en 2-MCPD lié est consignée en milligrammes par kilogramme (mg/kg).

3.2

3-MCPD lié

somme de tous les dérivés de 3-MCPD soumis à un clivage par alcoololyse en présence d'un catalyseur alcalin

Note 1 à l'article: La teneur en 3-MCPD lié est consignée en milligrammes par kilogramme (mg/kg).

3.3

glycidol lié

somme de tous les dérivés du glycidol soumis à un clivage par alcoololyse en présence d'un catalyseur alcalin

Note 1 à l'article: La teneur en glycidol lié est consignée en milligrammes par kilogramme (mg/kg).

4 Principe

Pour la détermination du 2-MCPD lié, du 3-MCPD lié et du glycidol lié sous forme de 2-MCPD libre, de 3-MCPD libre et de 3-MBPD libre (3-monobromopropanediol), deux fractions aliquotes (A et B) de l'échantillon sont mises en solution avec les étalons de substitution (2-MCPD-d₅, 3-MCPD-d₅, ester de glycidol-d₅ pour l'analyse A et 2-MCPD-d₅-1,3-diester, 3-MCPD-d₅-1,2-diester pour l'analyse B) puis sont dissoutes dans de l'éther diéthylique. Les deux analyses sont menées en parallèle. L'ajout d'une solution diluée d'hydroxyde de sodium ou de méthylate de sodium dans du méthanol à froid va permettre la formation de 2-MCPD libre, de 3-MCPD libre et de glycidol libre sur une période de 8 h à 12 h. Cette réaction est interrompue par ajout d'un excès de bromure de sodium en solution acide. En milieu acide, le glycidol libre réagit avec le bromure inorganique pour former du 3-MBPD et une petite quantité de 2-MBPD. Les composés apolaires indésirables de l'échantillon sont éliminés par double extraction de la phase aqueuse avec de l'isohexane. Les analytes, ainsi que les étalons de substitution, sont transférés dans une phase organique par extractions multiples de la phase aqueuse à l'aide d'éther diéthylique, d'acétate d'éthyle ou d'un mélange des deux solvants. La dérivatisation se produit dans la phase organique par réaction avec l'acide phénylboronique (PBA). Afin d'éliminer l'excès de PBA, concentrer les analytes et les transférer dans un solvant organique inerte. L'extrait d'échantillon est placé sur une petite quantité de sulfate de sodium anhydre puis il est évaporé à sec sous flux d'azote avant d'être à nouveau dissout dans de l'iso-octane pour mesurage par CPG/SM.

La transestérification par catalyse alcaline à froid permet de réduire au minimum la transformation non souhaitée du 3-MCPD en glycidol et qui est importante à température ambiante. Néanmoins, en présence de grandes quantités de 3-MCPD, même une faible transformation en glycidol pourrait augmenter artificiellement les résultats du glycidol de l'analyse A. Afin d'obtenir des résultats de glycidol corrects, même en présence d'une grande quantité de 3-MCPD, l'analyse B permet de déterminer la transformation non souhaitée du 3-MCPD-glycidol en déterminant la teneur en glycidol-d₅ générée à partir du 3-MCPD-d₅-diester lors de la préparation de l'échantillon. Le coefficient de transformation correspondant permet de corriger la valeur de glycidol provenant de l'analyse A. Un autre point à prendre en compte est que le 3-MCPD est converti environ 1,2 fois plus rapidement en 3-MBPD via le glycidol que le 3-MCPD-d₅ en 3-MBPD-d₅ via le glycidol-d₅. Par conséquent, il faut tenir compte du facteur isotopique I = 1,2 dans la détermination quantitative de la quantité de glycidol générée accidentellement à partir du 3-MCPD non marqué lors du traitement alcalin de l'analyse A.

La quantification des analytes est réalisée par un étalonnage interne à un point en utilisant les esters d₅ comme étalons de substitution. Aucun étalonnage externe n'est donc nécessaire. De même, aucun rendement d'analyte ne doit être pris en compte. Cependant, il se peut que les taux de clivage diffèrent entre les monoesters et les diesters de MCPD, et comme seuls les diesters de MCPD-d₅ servent d'étalons internes, il convient de déterminer le degré de clivage des esters sur une grande étendue. C'est pourquoi le degré de variation du clivage des esters est surveillé en calculant la différence entre les résultats du 3-MCPD obtenus pour les analyses A et B. Pour en savoir plus sur la façon de tirer des données quantitatives à partir des chromatogrammes correspondants, voir l'expression des résultats^[9] et l'[Annexe A](#).

Comme du 3-MCPD peut apparaître dans certains polymères utilisés pour humidifier des résines de renfort et dans d'autres buts, il peut également apparaître à la suite de l'utilisation de consommables tels que les filtres ou les flacons à bouchon vissé. Conditionner la verrerie entre 400 °C et 500 °C peut réduire ce risque, la meilleure solution restant toutefois l'utilisation de matériaux non contaminés.

5 Réactifs

5.1 Généralités

AVERTISSEMENT — Le présent document exige 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 ISO 3696.

5.2 Solvants et produits chimiques

5.2.1 Toluène.

5.2.2 *tert*-Butyl méthyl éther (*t*BME), (2-méthoxy-2-méthylpropane).

5.2.3 Méthanol.

5.2.4 *Iso*-Hexane (2-méthylpentane).

5.2.5 Acétate d'éthyle.

5.2.6 Oxyde diéthylique.

5.2.7 *Iso*-octane.

5.2.8 Sulfate de sodium anhydre, poudre.

5.3 Composés étalons et composés de référence

5.3.1 2-MCPD.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/cbc7b51a-9ba3-47a4-b0ac-15c941a3175b/iso-18363-2-2025>

5.3.2 2-MCPD- d_5 .

5.3.3 2-MCPD-1,3-*bis*-stéaroylester.¹⁾

5.3.4 2-MCPD- d_5 -1,3-*bis*-stéaroylester.¹⁾

5.3.5 3-MCPD.

5.3.6 3-MCPD- d_5 .

5.3.7 3-MCPD-1,2-*bis*-palmitoylester.¹⁾

5.3.8 3-MCPD- d_5 -1,2-*bis*-palmitoylester.¹⁾

5.3.9 Oléate de glycidyle.¹⁾

5.3.10 Oléate de glycidyle- d_5 .¹⁾

1) Il est permis de substituer ces produits par d'autres esters d'acides gras des analytes disponibles sur le marché.

5.4 Solutions de travail²⁾

5.4.1 2-MCPD: 10,0 µg/ml dans du méthanol.

5.4.2 2-MCPD-d₅: 10,0 µg/ml dans du méthanol.

5.4.3 3-MCPD: 10,0 µg/ml dans du méthanol.

5.4.4 3-MCPD-d₅: 10,0 µg/ml dans du méthanol.

5.4.5 2-MCPD-1,3-*bis*-stéaroyléster: 29,1 µg/ml dans du toluène; équivalent à 5,0 µg/ml de 2-MCPD libre.

5.4.6 2-MCPD-d₅-1,3-*bis*-stéaroyléster: 29,3 µg/ml dans du toluène; équivalent à 5,0 µg/ml de 2-MCPD libre.

5.4.7 3-MCPD-1,2-*bis*-palmitoyléster: 26,6 µg/ml dans du toluène; équivalent à 5,0 µg/ml de 2-MCPD libre.

5.4.8 3-MCPD-d₅-1,2-*bis*-palmitoyléster: 26,8 µg/ml dans du toluène; équivalent à 5,0 µg/ml de 2-MCPD libre.

5.4.9 Oléate de glycidyle: 22,8 µg/ml dans du toluène; équivalent à 5,0 µg/ml de glycidol libre.

5.4.10 Oléate de glycidyle-d₅: 23,2 µg/ml dans du toluène; équivalent à 5,0 µg/ml de glycidol libre.

5.5 Autres solutions

5.5.1 Solution d'hydroxyde de sodium. Peser 0,25 g d'hydroxyde de sodium fraîchement broyé et les placer dans un flacon en plastique de 100 ml. Ajouter 100 ml de méthanol et fermer hermétiquement le flacon. Agiter vigoureusement (à l'aide d'un agitateur de type vortex) jusqu'à dissolution complète. Stocker au congélateur entre -22 °C et -25 °C (voir [10.1](#)).

5.5.2 Solution acidifiée de bromure de sodium. Peser 600 g de bromure de sodium et les placer dans une fiole jaugée en verre de 1 l munie d'un bouchon à vis, puis compléter avec de l'eau désionisée jusqu'à 1 l. Acidifier le mélange avec 3 ml d'acide *ortho*-phosphorique (à 85 %), fermer hermétiquement et agiter (à l'aide d'un agitateur de type vortex) jusqu'à obtention d'une solution transparente. 600 µl de cette solution doivent neutraliser 350 µl de solution d'hydroxyde de sodium ([5.5.1](#)). Ajuster la valeur du pH dans la plage acide (pH 3 à pH 1). Stocker la solution au congélateur entre -22 °C et -25 °C (voir [10.1](#)).

5.5.3 Solution saturée d'acide phénylboronique (PBA) dans de l'éther diéthylique. Placer environ 200 mg de PBA dans un flacon à bouchon vissé de 10 ml rempli d'éther diéthylique. Bien agiter puis laisser décanter le PBA non dissout. Aux fins de la dérivation, utiliser uniquement le surnageant transparent.

6 Appareillage

6.1 **Micropipettes** (par exemple, de 10 µl à 100 µl, de 10 µl à 200 µl, de 100 µl à 1 000 µl).

6.2 **Pipettes à piston et volumétriques**, de différentes tailles.

6.3 **Fioles jaugées**, de différentes tailles.

2) Il est permis de substituer ces concentrations par d'autres concentrations de solutions de travail.

- 6.4 Balance analytique**, précision d'affichage de 0,000 1 g, précision de pesée de 0,001 g.
- 6.5 Flacons à bouchon vissé** (d'une capacité de 2 ml environ) et bouchons à vis avec septums recouverts de polytétrafluoroéthylène (PTFE).
- 6.6 Pipettes Pasteur et poires à pipeter.**
- 6.7 Micro inserts** (d'une capacité d'environ 200 µl) pour flacons à bouchon vissé (d'une capacité de 2 ml environ).
- 6.8 Équipement générateur de flux d'azote.**
- 6.9 Système de CPG/SM avec injecteur à température programmable.**
- 6.10 Colonne de CPG en silice fondue**, phase stationnaire 50 % diphényl- 50 % diméthylpolysiloxane, longueur 30 m, diamètre intérieur 0,25 mm, épaisseur du film 0,25 µm, à faible ressuage pour SM, avec précolonne.

La précolonne, qu'il convient de remplacer périodiquement, piège les composants non volatils et permet donc de prolonger la durée de vie de la colonne principale.

7 Échantillon

7.1 Échantillonnage

L'échantillonnage ne fait pas partie de la présente méthode. Une méthode d'échantillonnage recommandée est donnée dans l'ISO 5555^[12].

7.2 Préparation de l'échantillon pour essai

Prélever directement des quantités aliquotes d'échantillons liquides. Faire fondre les matières grasses solides ou semi-solides dans une étuve à dessiccation ou un bain-marie à environ 80 °C. Pour les matières grasses ayant un point de fusion élevé, la température peut être augmentée par paliers de 10 °C jusqu'à déclenchement du processus de fusion. Prélever des quantités aliquotes d'échantillons contenant une teneur en eau plus élevée sans fusion pour éviter toute séparation de phase.

8 Mode opératoire

NOTE Voir [10.2](#).

8.1 Ajout d'étalon de substitution et homogénéisation

Peser deux quantités aliquotes de (100 ± 0,5) mg de l'échantillon et les placer dans deux flacons à bouchon vissé d'une capacité d'environ 2 ml, ou peser avec précision deux quantités aliquotes d'environ 100 mg de l'échantillon et veiller à obtenir un bilan massique correct en matière de quantification. Ajouter dans le flacon d'analyse A 50 µg de chacune des solutions de travail étalons à base de 2-MCPD-d₅ et de 3-MCPD-d₅ ([5.4.2](#) et [5.4.4](#)). Ajouter par pipetage dans le flacon d'analyse A 100 µl de solution de travail étalon d'ester de glycidol-d₅ ([5.4.10](#)). Transférer dans le flacon d'analyse B 100 µl de solution de travail étalon de 2-MCPD-d₅-bis-ester ([5.4.6](#)) et 100 µl de solution de travail étalon de 3-MCPD-d₅-bis-ester ([5.4.8](#)). Ajouter à chaque échantillon 600 µl d'éther diéthylique puis agiter (à l'aide d'un agitateur de type vortex) les mélanges jusqu'à dissolution complète. En cas d'échantillon à point de fusion élevé, les flacons peuvent exiger un léger chauffage.