

NORME INTERNATIONALE

ISO
3596-1

Première édition
1988-07-15



INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION
ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION
МЕЖДУНАРОДНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ

Corps gras d'origines animale et végétale — Détermination de la teneur en matières insaponifiables —

Partie 1 :

Méthode par extraction à l'oxyde diéthylique (méthode de
référence)

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 3596-1:1988

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4a92affc-a419-4126-8a19-160ab88d0886/iso-3596-1-1988>
Animal and vegetable fats and oils — Determination of unsaponifiable matter —

Part 1 : Method using diethyl ether extraction (Reference method)

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 (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour approbation, avant leur acceptation comme Normes internationales par le Conseil de l'ISO. Les Normes internationales sont approuvées conformément aux procédures de l'ISO qui requièrent l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 3596-1 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4a92affe-a419-4126-8a19-f60ab88d0886/iso-3596-1-1988>

L'ISO 3596 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Corps gras d'origines animale et végétale — Détermination de la teneur en matières insaponifiables* :

Partie 1 : Méthode par extraction à l'oxyde diéthylique (méthode de référence)

Partie 2 : Méthode rapide par extraction à l'hexane

L'annexe A de la présente partie de l'ISO 3596 est donnée uniquement à titre d'information.

Corps gras d'origines animale et végétale — Détermination de la teneur en matières insaponifiables —

Partie 1 :

Méthode par extraction à l'oxyde diéthylique (méthode de référence)

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 3596 prescrit la méthode de référence pour la détermination de la teneur en matières insaponifiables des corps gras d'origines animale et végétale, par extraction à l'oxyde diéthylique.

Cette méthode n'est pas applicable aux cires et donne toutefois des résultats approximatifs avec certaines matières grasses à teneur élevée en matières insaponifiables, par exemple avec les corps gras provenant d'animaux marins.

L'annexe A décrit une méthode à neuf extractions à l'hexane, qui donne des résultats comparables pour beaucoup de corps gras d'origines animale et végétale mais, en raison des différences de solubilités de nombreux constituants de l'insaponifiable entre les deux solvants, les résultats peuvent ne pas être identiques, la méthode à l'hexane donnant alors des résultats par défaut. La méthode à l'hexane peut être utilisée lorsque les conditions climatiques ou la réglementation ne permettent pas l'emploi de l'oxyde diéthylique.

2 Références normatives

Les normes suivantes contiennent des dispositions qui, par suite de la référence qui en est faite, constituent des dispositions valables pour la présente partie de l'ISO 3596. Au moment de la publication de cette partie de l'ISO 3596, les éditions indiquées étaient en vigueur. Toute norme est sujette à révision et les parties prenantes des accords fondés sur cette partie de l'ISO 3596 sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer les éditions les plus récentes des normes indiquées ci-après. Les membres de la CEI et de l'ISO possèdent le registre des normes internationales en vigueur à un moment donné.

ISO 661 : 1980, *Corps gras d'origines animale et végétale — Préparation de l'échantillon pour essai.*

ISO 5555 : 1983, *Corps gras d'origines animale et végétale — Échantillonnage.*

3 Définition

Pour les besoins de la présente partie de l'ISO 3596, la définition suivante s'applique.

matières insaponifiables : Toutes les substances présentes dans le produit qui, après saponification de celui-ci par l'hydroxyde de potassium et extraction par un solvant spécifié, ne sont pas volatiles dans les conditions opératoires spécifiées.

NOTE — Les matières insaponifiables comprennent des constituants naturels des matières grasses tels les stérols, les hydrocarbures et alcools supérieurs, aliphatiques et terpéniques, ainsi que les substances organiques étrangères extraites par le solvant et non volatiles à 103 °C (par exemple huiles minérales) qu'elles peuvent éventuellement contenir.

4 Principe

Saponification du corps gras par traitement à l'ébullition à reflux avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium. Extraction de l'insaponifiable de la solution de savon par l'oxyde diéthylique. Évaporation du solvant et pesée du résidu après séchage.

5 Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique, et l'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de pureté équivalente.

5.1 Oxyde diéthylique, récemment distillé, exempt de peroxydes et de résidus.

5.2 Acétone.

5.3 Hydroxyde de potassium, solution éthanolique $c(\text{KOH}) \approx 1 \text{ mol/l}$.

Dissoudre 60 g d'hydroxyde de potassium dans 50 ml d'eau et diluer à 1 000 ml avec de l'éthanol à 95 % (V/V). La solution doit être incolore ou jaune paille.

5.4 Hydroxyde de potassium, solution aqueuse, $c(\text{KOH}) \approx 0,5 \text{ mol/l}$.

5.5 Phénolphthaléine, solution à 10 g/l dans l'éthanol à 95 % (V/V).

6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et notamment :

6.1 Ballons, à fond rond, de 250 ml de capacité, à col rodé.

6.2 Réfrigérant à reflux, avec joint rodé adaptable aux ballons (6.1).

6.3 Ampoules à décanter, de 500 ml de capacité, avec robinets et bouchons en polytétrafluoréthylène.

6.4 Bain d'eau bouillante.

6.5 Étuve, réglable à $103 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$.

7 Échantillonnage

L'échantillonnage doit être effectué conformément à l'ISO 5555.

8 Préparation de l'échantillon pour essai

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

9 Mode opératoire

9.1 Prise d'essai

Peser, à 0,01 g près, dans un ballon de 250 ml (6.1) environ 5 g de l'échantillon pour essai (chapitre 8).

9.2 Saponification

Ajouter 50 ml de la solution d'hydroxyde de potassium (5.3) et quelques régularisateurs d'ébullition. Adapter le réfrigérant à reflux (6.2) au ballon et chauffer le contenu pendant 1 h à légère ébullition. Arrêter le chauffage. Ajouter 100 ml d'eau par le haut du réfrigérant et agiter en tournant.

NOTE — Si l'extraction des matières insaponifiables est effectuée en vue de la détermination de la composition des tocophérols, l'addition de pyrogallol est nécessaire. Cette extraction doit alors être effectuée rapidement (soit en 30 min).

9.3 Extraction des matières insaponifiables

Après refroidissement, transvaser la solution dans une ampoule à décanter de 500 ml (6.3). Rincer le ballon et les régularisateurs d'ébullition plusieurs fois avec de l'oxyde diéthylique (5.1), en utilisant au total 100 ml d'oxyde diéthylique, et verser les liquides de rinçage dans l'ampoule à décanter. Boucher et agiter énergiquement pendant 1 min, en équilibrant périodiquement la pression par retournement de l'ampoule à décanter et ouverture du robinet.

Laisser reposer jusqu'à séparation complète des deux phases, puis soutirer la phase inférieure le plus complètement possible en la recueillant dans une seconde ampoule à décanter.

NOTE — S'il se forme une émulsion, la détruire par addition de petites quantités d'éthanol ou de solution concentrée d'hydroxyde de potassium ou de chlorure de sodium.

Procéder à deux nouvelles extractions de la phase savonneuse, en utilisant à chaque fois de la même façon 100 ml d'oxyde diéthylique. Rassembler les trois extraits étherés dans une ampoule à décanter contenant 40 ml d'eau.

9.4 Lavage des extraits étherés

Faire tourner doucement l'ampoule à décanter contenant les extraits étherés et les 40 ml d'eau.

NOTE — A ce stade une agitation violente risque de conduire à des émulsions.

Laisser les couches se séparer complètement et soutirer la couche aqueuse inférieure. Laver la couche étherée deux fois encore avec à chaque fois 40 ml d'eau, en agitant énergiquement à chaque fois et en éliminant la couche aqueuse inférieure après séparation. Soutirer chaque solution de lavage jusqu'à ce qu'il en reste 2 ml, puis faire tourner l'ampoule à décanter autour de son axe. Attendre quelques minutes pour permettre au reste de la phase aqueuse de se rassembler et l'éliminer; fermer le robinet quand la phase étherée atteint l'orifice du robinet.

Laver la solution étherée successivement avec 40 ml de la solution d'hydroxyde de potassium (5.4), 40 ml d'eau, et de nouveau 40 ml de la solution d'hydroxyde de potassium, et encore au moins deux fois avec 40 ml d'eau.

Poursuivre le lavage à l'eau jusqu'à ce que les eaux de lavage ne donnent plus une coloration rose après ajout d'une goutte de solution de phénolphthaléine (5.5).

9.5 Évaporation du solvant

Par le haut de l'ampoule à décanter, transvaser quantitativement, en plusieurs fois, la solution étherée dans un ballon de 250 ml (6.1) préalablement séché à $103 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ dans l'étuve (6.5), refroidi et taré à 0,1 mg près. Évaporer le solvant sur bain d'eau bouillante (6.4).

Ajouter 5 ml d'acétone (5.2), et évaporer complètement le solvant volatil en s'aidant d'un léger courant d'air, le ballon étant maintenu obliquement tout en le faisant tourner dans le bain d'eau bouillante.

9.6 Séchage du résidu et détermination

Sécher le résidu pendant 15 min à l'étuve (6.5), réglée à $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ en plaçant le ballon en position presque horizontale. Laisser refroidir au dessiccateur (6.6) et peser à 0,1 mg près.

Sécher à nouveau pendant des périodes de 15 min, jusqu'à ce que la perte de masse entre deux pesées successives soit inférieure à 1,5 mg. Si la masse constante n'est pas obtenue après trois périodes de séchage, il est probable que les matières insaponifiables contiennent des substances étrangères et la détermination doit être répétée.

NOTES

1 Un évaporateur rotatif sous pression réduite peut être utilisé, en particulier lorsque les matières insaponifiables doivent être examinées ultérieurement.

2 Si l'on estime qu'une correction des acides gras libres est nécessaire, après pesée du résidu, le dissoudre dans 4 ml d'oxyde diéthylique (5.1) et ajouter ensuite 20 ml d'éthanol préalablement neutralisé jusqu'à obtention d'une couleur rose pâle en présence de la solution de phénolphthaléine (5.4) comme indicateur. Titrer avec une solution titrée d'hydroxyde de potassium $c(\text{KOH}) = 0,1\text{ mol/l}$ jusqu'à obtention de la même couleur. Calculer la masse des acides gras libres, en acide oléique, et corriger la masse du résidu en conséquence (voir chapitre 10).

9.7 Nombre de déterminations

Effectuer deux déterminations sur le même échantillon pour essai.

9.8 Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc en suivant le même mode opératoire et en utilisant les mêmes quantités de tous les réactifs, à l'exclusion de la prise d'essai. Si le résidu est supérieur à 1,5 mg, reconsidérer la technique et les réactifs.

10 Expression des résultats

La teneur en matières insaponifiables, en pourcentage en masse de l'échantillon, est égale à :

$$\frac{100 (m_1 - m_2 - m_3)}{m_0}$$

où

m_0 est la masse, en grammes, de la prise d'essai;

m_1 est la masse, en grammes, du résidu;

m_2 est la masse, en grammes, du résidu obtenu avec le blanc;

m_3 est la masse, en grammes, des acides gras libres éventuellement présents (voir note 2 en 9.6) et est égale à $0,28 V c$

où

V est le volume, en millilitres, de la solution éthanolique titrée d'hydroxyde de potassium utilisée pour le titrage;

c est la concentration exacte, en moles par litre, de la solution éthanolique titrée d'hydroxyde de potassium.

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations.

11 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit indiquer la méthode utilisée et les résultats obtenus. Il doit, en outre, mentionner tous les détails opératoires non prévus dans la présente partie de l'ISO 3596, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur les résultats.

Le rapport d'essai doit donner tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

Annexe A (informative)

Méthode à neuf extractions à l'hexane

A.1 Principe

Saponification du corps gras par traitement à l'ébullition à reflux avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium. Extraction de l'insaponifiable de la solution de savon par l'hexane ou, à défaut, l'éther de pétrole. Évaporation du solvant et pesée du résidu après séchage.

A.2 Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de pureté équivalente.

A.2.1. *n*-hexane, ou à défaut, **éther de pétrole** d'intervalle de distillation compris entre 40 °C et 60 °C, d'indice de brome inférieur à 1. Ces deux solvants doivent être exempts de résidus.

A.2.2 Éthanol, à 50 % (V/V), neutre (incolore) à la phénolphthaléine.

A.2.3 Hydroxyde de potassium, solution éthanolique c(KOH) ≈ 4 mol/l, fraîchement préparée comme suit.

Dissoudre 60 g d'hydroxyde de potassium dans de l'éthanol à 95 % (V/V) et diluer à 250 ml. La solution doit être incolore ou jaune paille.

A.2.4 Hydrogénocarbonate de potassium, solution à 10 g/l.

A.2.5 Phénolphthaléine, solution à 10 g/l dans l'éthanol à 95 % (V/V).

A.3 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et notamment :

A.3.1 Ballons, à fond rond, de 250 ml de capacité, à col rodé.

A.3.2 Réfrigérant à reflux, avec joint rodé adaptable aux ballons (A.3.1).

A.3.3 Ampoules à décanter, de 250 ml à 1 000 ml de capacité, avec robinets et bouchons en polytétrafluoréthylène.

A.3.4 Bain d'eau bouillante.

A.3.5 Étuve, réglable à 103 °C ± 2 °C, ou **appareil de séchage sous pression réduite**, par exemple, évaporateur rotatif ou appareil équivalent.

A.4 Échantillonnage

L'échantillonnage doit être effectué conformément à l'ISO 5555.

A.5 Préparation de l'échantillon pour essai

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

A.6 Mode opératoire

A.6.1 Prise d'essai

Peser, à 0,01 g près, dans un ballon de 250 ml (A.3.1) environ 5 g de l'échantillon pour essai (chapitre A.5).

A.6.2 Saponification

Ajouter 25 ml de la solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (A.2.3) et quelques régularisateurs d'ébullition. Adapter le réfrigérant à reflux (A.3.2) à la fiole et chauffer 1 h à légère ébullition. Arrêter le chauffage. Ajouter 50 ml de la solution d'hydrogénocarbonate de potassium (A.2.4) par le haut du réfrigérant et agiter en tournant.

NOTE — Si l'extraction des matières insaponifiables est effectuée en vue de la détermination de la composition des tocophérols, l'addition de pyrogallol est nécessaire. Cette extraction doit alors être effectuée rapidement (soit en 30 min).

A.6.3 Extraction des matières insaponifiables

Après refroidissement, transvaser la solution encore tiède dans une ampoule à décanter de 250 ml (A.3.3). Rincer le ballon et les régularisateurs d'ébullition plusieurs fois avec de l'hexane (A.2.1), en utilisant au total 50 ml d'hexane, et verser les liquides de rinçage dans l'ampoule à décanter. Boucher et agiter énergiquement pendant 1 min, en équilibrant périodiquement la pression par retournement de l'ampoule à décanter et ouverture du robinet.

Laisser reposer jusqu'à séparation complète des deux phases, puis soutirer la phase savonneuse hydroalcoolique le plus complètement possible en la recueillant dans une seconde ampoule à décanter.

NOTE — S'il se forme une émulsion, la détruire par addition de petites quantités d'éthanol ou de solution concentrée d'hydroxyde de potassium ou de chlorure et de sodium.

Procéder à huit nouvelles extractions de la phase savonneuse hydroalcoolique, en utilisant à chaque fois, de la même façon, 50 ml d'hexane. Les décantations sont très rapides. Rassembler les neuf extraits hexaniques dans une ampoule à décanter de 1 000 ml (A.3.3).

A.6.4 Élimination des savons

Laver l'ensemble des extraits hexaniques trois fois avec des fractions de 150 ml d'éthanol à 50 % (V/V) (A.2.2), en agitant énergiquement et en éliminant après chaque lavage la solution hydroalcoolique. Soutirer chaque solution de lavage jusqu'à ce qu'il en reste 2 ml, puis faire tourner l'ampoule à décanter autour de son axe. Attendre quelques minutes pour permettre au reste de la phase aqueuse de se rassembler et l'éliminer; fermer le robinet quand la phase hexanique atteint l'orifice du robinet.

Poursuivre le lavage à l'éthanol à 50 % (V/V) jusqu'à ce que l'éthanol ne donne plus une coloration rose après ajout d'une goutte de solution de phénolphaléine (A.2.5).

A.6.5 Évaporation du solvant

Par le haut de l'ampoule à décanter, transvaser quantitativement, en plusieurs fois, la solution hexanique dans un ballon de 250 ml (A.3.1) préalablement séché à $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ dans l'étuve (A.3.5), refroidi et taré à 0,1 mg près. Évaporer le solvant sur bain d'eau bouillante (A.3.4).

A.6.6 Séchage du résidu et détermination

Sécher le résidu pendant 15 min à l'étuve (A.3.5), réglée à $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, en plaçant le ballon en position presque horizontale. Laisser refroidir au dessiccateur et peser à 0,1 mg près.

On peut également relier le ballon à l'appareil de séchage sous pression réduite (A.3.5) et sécher sur le bain d'eau bouillante sous la pression réduite maximale de la trompe à eau pendant environ 15 min. Laisser refroidir à température ambiante sous la pression réduite maximale, nettoyer soigneusement le ballon et le peser à 0,1 mg près.

Sécher à nouveau pendant des périodes de 15 min, jusqu'à ce que la perte de masse entre deux pesées successives soit inférieure à 1,5 mg. Si la masse constante n'est pas obtenue après trois périodes de séchage, il est probable que les matières insaponifiables contiennent des substances étrangères et la détermination doit être répétée.

NOTE — Si l'on estime qu'une correction des savons est nécessaire, après pesée du résidu, le dissoudre dans 20 ml d'acétone (contenant 2 % (V/V) d'eau) neutralisée préalablement en présence de bleu de bromophénol jusqu'à coloration jaune très clair. Titrer avec une solution d'acide chlorhydrique titrée $c(\text{HCl}) = 0,01\text{ mol/l}$ (préparée par dilution d'une solution aqueuse à 0,1 mol/l dans l'acétone) jusqu'à même couleur finale. Calculer la masse des savons et corriger la masse du résidu en conséquence (voir A.7).

A.6.7 Nombre de déterminations

Effectuer deux déterminations sur le même échantillon pour essai.

A.6.8 Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc en suivant le même mode opératoire et en utilisant les mêmes quantités de tous les réactifs, à l'exclusion de la prise d'essai. Si le résidu est supérieur à 1,5 mg, reconsidérer la technique et les réactifs.

A.7 Expression des résultats

La teneur en matières insaponifiables, en pourcentage en masse de l'échantillon, est égale à :

$$\frac{100 (m_1 - m_2 - m_3)}{m_0}$$

où

m_0 est la masse, en grammes, de la prise d'essai;

m_1 est la masse, en grammes, du résidu;

m_2 est la masse, en grammes, du résidu obtenu avec le blanc;

m_3 est la masse, en grammes, des savons éventuellement présents (voir note en A.6.6) et est égale à $0,32\text{ } V c$

où

V est le volume, en millilitres, de la solution acétonique titrée d'acide chlorhydrique utilisée pour le titrage;

c est la concentration exacte, en moles par litre, de la solution acétonique titrée d'acide chlorhydrique.

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations.

A.8 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit indiquer la méthode utilisée et les résultats obtenus. Il doit, en outre, mentionner tous les détails opératoires non prévus dans la présente annexe, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur les résultats.

Le rapport d'essai doit donner tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 3596-1:1988

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4a92affe-a419-4126-8a19-f60ab88d0886/iso-3596-1-1988>

CDU [664.3 + 665.2/.3]:543.855

Descripteurs : produit agricole, corps gras animal, corps gras végétal, huile animale, huile végétale, analyse chimique, dosage, matière insaponifiable, méthode par extraction.

Prix basé sur 5 pages
