
**Corps gras d'origines animale et
végétale — Chromatographie en
phase gazeuse des esters méthyliques
d'acides gras —**

**Partie 4:
Détermination par chromatographie
capillaire en phase gazeuse**

*Animal and vegetable fats and oils — Gas chromatography of fatty
acid methyl esters —*

Part 4: Determination by capillary gas chromatography



Sample Document

get full document from standards.iteh.ai



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2015, Publié en Suisse

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, 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, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Ch. de Blandonnet 8 • CP 401
CH-1214 Vernier, Geneva, Switzerland
Tel. +41 22 749 01 11
Fax +41 22 749 09 47
copyright@iso.org
www.iso.org

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Principe	2
4 Réactifs et matériaux	2
4.1 Esters méthyliques d'acides gras (EMAG) de référence	2
4.2 Étalons internes	2
5 Appareillage	3
6 Échantillonnage	4
7 Préparation de l'échantillon pour essai	4
8 Préparation des esters méthyliques de corps gras et d'acides gras	5
9 Mode opératoire	5
9.1 Généralités	5
9.2 Conditions de chromatographie en phase gazeuse	5
9.3 Contrôle des performances	5
10 Calculs	6
10.1 Analyse qualitative et identification des pics	6
10.2 Analyse quantitative	6
10.2.1 Calcul de la composition en esters méthyliques d'acides gras	6
10.2.2 Calcul de la composition en esters méthyliques d'acides gras en utilisant des facteurs de correction	6
10.2.3 Calcul de la composition en esters méthyliques d'acides gras en utilisant un étalon interne	7
11 Fidélité	8
11.1 Résultats d'un essai interlaboratoires	8
11.2 Répétabilité	8
11.3 Reproductibilité	8
12 Rapport d'essai	8
Annexe A (informative) Facteur de correction théorique (FCT) du détecteur à ionisation de flamme pour les esters méthyliques d'acides gras (EMAG)	10
Annexe B (informative) Exemples de chromatogrammes	11
Annexe C (informative) Comparaison de la composition en EMAG avec deux colonnes CPG différentes	13
Annexe D (informative) Résultats d'un essai interlaboratoires	15
Bibliographie	21

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la 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'OMC concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: [Avant-propos — Informations supplémentaires](#).

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est l'ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 11, *Corps gras d'origines animale et végétale*.

Cette première édition annule et remplace l'ISO 5508:1990 et l'ISO 15304:2002, qui ont fait l'objet d'une révision technique.

L'ISO 12966 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Corps gras d'origines animale et végétale — Chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras*:

- *Partie 1: Lignes directrices relatives à la chromatographie en phase gazeuse moderne des esters méthyliques d'acides gras*
- *Partie 2: Préparation des esters méthyliques d'acides gras*
- *Partie 3: Préparation des esters méthyliques à l'aide d'hydroxyde de triméthylsulfonium (TMSH)*
- *Partie 4: Détermination par chromatographie capillaire en phase gazeuse*

Corps gras d'origines animale et végétale — Chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras —

Partie 4: Détermination par chromatographie capillaire en phase gazeuse

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 12966 spécifie une méthode de détermination des esters méthyliques d'acides gras (EMAG) obtenus par transestérification ou estérification de corps gras et d'acide gras par chromatographie en phase gazeuse (CPG) sur colonne capillaire. Les esters méthyliques d'acides gras de C8 à C24 peuvent être séparés en utilisant la présente partie de l'ISO 12966, y compris les esters méthyliques d'acides gras saturés, les esters méthyliques d'acides gras mono-insaturés *cis* et *trans* et les esters méthyliques d'acides gras poly-insaturés *cis* et *trans*.

La méthode s'applique aux corps gras et acides gras bruts, raffinés, partiellement hydrogénés ou totalement hydrogénés d'origines animale et végétale.

La présente méthode ne convient pas à l'analyse des matières grasses laitières provenant des ruminants, ou des produits supplémentés en acide linoléique conjugué (CLA). Le lait et les produits laitiers (ou corps gras dérivés du lait et des produits laitiers) ne relèvent pas du domaine d'application de la présente partie de l'ISO 12966.

La présente partie de l'ISO 12966 ne s'applique pas aux acides gras et corps gras dimérisés, trimérisés, polymérisés et oxydés.

2 Références normatives

Les documents ci-après, dans leur intégralité ou non, sont des références normatives indispensables à l'application 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*

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

ISO 6353, *Réactifs pour analyse chimique*

ISO 12966-2, *Corps gras d'origines animale et végétale — Chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras — Partie 2: Préparation des esters méthyliques d'acides gras*

ISO 12966-3, *Corps gras d'origines animale et végétale — Chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras — Partie 3: Préparation des esters méthyliques à l'aide d'hydroxyde de triméthylsulfonium (TMSH)*

3 Principe

En utilisant la chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire, les EMAG sont séparés sur une phase stationnaire de polarité élevée, en fonction de la longueur de leur chaîne, de leur degré de (in) saturation ainsi que de la géométrie et de la position des doubles liaisons.

4 Réactifs et matériaux

Sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs spécifiés dans l'ISO 6353-2 et l'ISO 6353-3 (s'ils y sont énumérés). Sinon, utiliser des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau de qualité 3 au minimum, telle que définie dans l'ISO 3696.

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

4.1 Esters méthyliques d'acides gras (EMAG) de référence

4.1.1 Il convient d'utiliser des mélanges d'EMAG purs et/ou des huiles ayant une composition connue en acides gras pour l'identification des acides gras analysés dans les conditions d'essai de la présente méthode.

4.1.2 Corps gras ayant une composition certifiée en acides gras, par exemple le matériau de référence certifié BCR 162.

4.1.3 Esters méthyliques d'acides gras (EMAG) de référence - Esters méthyliques d'acides gras purs, en particulier isomères *cis* et *trans* de l'acide octadécénoïque (oléique), isomères *trans* des acides octadécadiénoïques (linoléique) et octadécatriénoïque (α -linoléique). Une vaste gamme d'isomères *cis* et *trans* de l'ester méthylique d'acide octadécénoïque est disponible sur le marché. Des isomères géométriques *trans* des acides linoléique et α -linoléique peuvent être préparés en laboratoire à l'aide d'acide p-toluènesulfonique. Outre les composés purs, des mélanges appropriés d'EMAG sont également disponibles dans le commerce.

4.2 Étalons internes

Pour la quantification des acides gras, en grammes par 100 g, il est nécessaire d'utiliser un EMAG comme étalon interne. Un étalonnage externe avec des mélanges de différents acides gras est également possible.

NOTE S'il est nécessaire de vérifier le taux de récupération et l'efficacité de la méthode de dérivation, il convient donc d'utiliser les deux étalons internes TAG et EMAG, ou l'un des deux. Alors que l'étalon interne TAG-EI est ajouté à l'échantillon avant la préparation des EMAG, l'étalon interne EMAG-EI est ajouté avant ou après la préparation des EMAG. L'EMAG-EI est utilisé pour calculer le taux de récupération de l'EMAG à partir du TAG-EI et, par conséquent, l'efficacité de la procédure de dérivation. Dans ce cas, les étalons doivent avoir une longueur de chaîne différente.

Selon le type de corps gras, différents étalons internes peuvent être utilisés (EMAG C11:0, EMAG C17:0, EMAG C19:0, EMAG C21:0, EMAG C23:0, etc.). Un étalonnage externe avec des mélanges de différents acides gras est également possible. Il est recommandé d'effectuer une analyse supplémentaire de l'échantillon sans ajouter l'étalon interne afin de vérifier la teneur naturelle en acide gras qui est utilisé comme étalon interne. La teneur doit être prise en compte dans le calcul.

IMPORTANT — Si le TAG-EI (4.2.2) est difficile à dissoudre à froid, une méthode de méthylation à chaud, comme spécifié dans l'ISO 12966-2:2011, 4.3, 4.4, et 4.5, doit être utilisée.

Les solutions d'étalon interne sont stables si des précautions sont prises pour éliminer la perte de solvant, et donc une variation de la concentration de l'EI. Par exemple, conserver la solution au réfrigérateur dans une bouteille ambrée étanche lorsqu'elle n'est pas utilisée. Des étalons purs sont disponibles sur le marché. La pureté de l'étalon interne doit être confirmée par une analyse par chromatographie sur

couche mince, chromatographie en phase liquide à haute performance, chromatographie en phase gazeuse ou par toute autre technique appropriée.

Des exemples d'étalons appropriés (sous forme d'EMAG et de TAG) sont donnés ci-dessous:

4.2.1 Ester méthylique d'acide gras (EMAG) en tant que solution d'étalon interne (EI):

EMAG C21:0 – il convient d'utiliser comme étalon interne une solution d'ester méthylique d'acide hénéicosanoïque (pureté > 99 %), de concentration massique 5,0 mg/ml, dans de l'iso-octane ou du MTBE.

4.2.2 Solution d'étalon interne (EI) de triacylglycérol (TAG):

TAG C21:0 - trihénéicosanoïne (pureté > 99 %), concentration massique 5,0 mg/ml dans du chloroforme. La solution d'étalon interne de TAG est stable si des précautions sont prises pour éliminer la perte de solvant, et donc une variation de la concentration de l'EI. Par exemple, conserver la solution au réfrigérateur dans une bouteille ambrée étanche lorsqu'elle n'est pas utilisée. De la trihénéicosanoïne pure est disponible sur le marché. La pureté de l'étalon interne doit être confirmée par une analyse par chromatographie sur couche mince, chromatographie en phase liquide à haute performance, chromatographie en phase gazeuse ou par toute autre technique appropriée.

Le toluène peut être utilisé à la place du chloroforme avec les considérations suivantes. La trihénéicosanoïne n'est pas aussi soluble dans le toluène que dans le chloroforme. Une solution ayant une concentration massique de 2 mg/ml peut être préparée dans le toluène. Il est nécessaire de réchauffer légèrement la solution pour la dissoudre, mais une fois en solution, elle restera dissoute si la solution est conservée à température ambiante. Si la solution est conservée au réfrigérateur, elle cristallisera, mais pourra être dissoute à nouveau en réchauffant légèrement la solution. Il est nécessaire de veiller à ce que le toluène ne s'évapore pas pendant cette procédure de réchauffement. Il est également nécessaire de prendre des mesures pour éviter la perte de toluène pendant la conservation. Les solvants autres que l'iso-octane (c'est-à-dire le chloroforme ou le toluène) doivent être éliminés après l'addition du TAG-EI car ces solvants ne sont pas utilisés dans la dérivation selon l'ISO 12966-2.

4.3 Iso-octane (triméthyl-2, 2, 4-pentane).

4.4 Méthyl *tert*-butyl éther (MTBE) (méthoxy-2-méthyl-2-propane).

4.5 Chloroforme.

MESURES DE SÉCURITÉ Le chloroforme est classé comme solvant carcinogène (catégorie 3).

4.6 *n*-Hexane.

4.7 *n*-Heptane.

MESURES DE SÉCURITÉ Une exposition prolongée par inhalation et ingestion peut entraîner un risque grave pour la santé, malgré une preuve limitée d'effet carcinogène (Catégorie 3).

4.8 Toluène.

5 Appareillage

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

5.1 Appareil de chromatographie en phase gazeuse, muni d'un détecteur à ionisation de flamme, d'un dispositif d'injection avec ou sans division et d'un système d'acquisition de données.

NOTE Il est également possible d'utiliser des dispositifs d'injection directe dans la colonne et des vaporisateurs à température programmée (PTV).