
**Corps gras d'origines animale et
végétale — Détermination de la teneur
en hydrocarbures aromatiques
polycycliques par chromatographie
de complexe donneur-accepteur et CLHP
avec détection par fluorescence**

*Animal and vegetable fats and oils — Determination of polycyclic
aromatic hydrocarbons by on-line donor-acceptor complex
chromatography and HPLC with fluorescence detection*

get full document from standards.iteh.ai



PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

Sample Document

get full document from standards.iteh.ai



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2009

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, 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 et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos	v
Introduction	vi
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	2
5 Réactifs, matériaux et étalons	3
6 Appareillage	5
7 Échantillonnage et préparation de l'échantillon pour essai	6
8 Préparation des échantillons	6
9 Mode opératoire	7
9.1 Analyse CLHP	7
9.2 Identification des HAP	7
10 Calculs des différents HAP	8
11 Données de validation de la méthode	8
11.1 Exactitude	8
11.2 Fidélité intralaboratoire	8
11.3 Récupération	9
11.4 Plage dynamique	9
11.5 Limite de quantification	9
12 Fidélité	9
12.1 Essai interlaboratoires international	9
12.2 Répétabilité	9
12.3 Reproductibilité	9
13 Rapport d'essai	9
Annexe A (informative) Exemple des parties constitutives d'un système de CLHP	10
Annexe B (informative) Exemple de conditions de fonctionnement des pompes du système de CLHP	11
Annexe C (informative) Exemple de conditions de fonctionnement du thermostat de colonne et du détecteur du système de CLHP	12
Annexe D (informative) Exemple de programme de l'échantillonneur automatique du système de CLHP	13
Annexe E (informative) Raccords de tubulures du système de CLHP	14
Annexe F (informative) Chromatogramme d'un échantillon étalon	15
Annexe G (informative) Fidélité de la détermination pour une huile de tournesol, plage allant de 0,1 µg/kg à 3,5 µg/kg	16
Annexe H (informative) Fidélité de la détermination pour une huile d'olive, plage allant de 0,1 µg/kg à 3,5 µg/kg	17
Annexe I (informative) Fidélité de la détermination pour une huile de soja, plage allant de 0,1 µg/kg à 3,5 µg/kg	18

Annexe J (informative) Fidélité de la détermination pour une huile de coco, plage allant de 0,1 µg/kg à 3,5 µg/kg	19
Annexe K (informative) Essai interlaboratoires	20
Bibliographie	22

Sample Document

get full document from standards.iteh.ai

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 Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

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.

L'ISO 22959 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 11, *Corps gras d'origines animale et végétale*.

Introduction

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) se forment lors des processus de pyrolyse, comme la combustion incomplète des substances organiques ou d'origine pétrolière (huiles minérales). Les corps gras comestibles peuvent être contaminés par la pollution environnementale et/ou lors des étapes de traitement précédant le raffinage. La présence d'hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les corps gras présentent un danger pour la santé en raison de leur carcinogénicité. Différents niveaux d'hydrocarbures aromatiques polycycliques ont été observés dans les corps gras comestibles bruts. Le raffinage des huiles (désodorisation, blanchiment/décoloration, traitement au charbon actif) dans les conditions appropriées réduit la teneur des différents hydrocarbures aromatiques polycycliques à un niveau de l'ordre de quelques microgrammes par kilogramme. Parmi les méthodes connues d'analyse des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les corps gras comestibles figurent des modes opératoires complexes d'extraction et de purification permettant d'isoler les hydrocarbures aromatiques polycycliques présents à l'état de traces.

La technique par chromatographie de complexe donneur-accepteur (DACC) permet d'extraire les hydrocarbures aromatiques polycycliques à partir de plusieurs matrices. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques sont des donneurs d'électrons (électrons π) et la forte interaction qui existe entre les hydrocarbures aromatiques polycycliques et une phase stationnaire acceptant les électrons se traduit par la rétention des hydrocarbures aromatiques polycycliques et l'élution du plus gros des autres composants de l'huile. La présente Norme internationale spécifie une méthode en ligne automatisée de détermination de la teneur en hydrocarbures aromatiques polycycliques des corps gras comestibles pouvant être utilisée facilement comme analyse de routine. Cette méthode est réalisée par couplage LC-LC d'une colonne de chromatographie de complexe donneur-accepteur de purification et d'une colonne d'analyse pour la séparation. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques sont quantifiés par détection par fluorescence.

Comparée à des techniques plus anciennes, cette méthode en ligne automatisée réduit de manière significative la quantité de solvant utilisée et permet un gain de temps substantiel. La purification par colonne de chromatographie de complexe donneur-accepteur est rapide et est réalisée en même temps que la CLHP de l'échantillon précédent. L'analyse complète d'un échantillon s'effectue en 90 min environ, contre 8 h à 10 h par les méthodes classiques. En outre, le système peut tourner 24h/24. Enfin, cette méthode élimine les pertes d'hydrocarbures aromatiques polycycliques volatils se produisant par exemple lors de l'évaporation du solvant. Une limite de quantification de 0,1 µg/kg pour chaque hydrocarbure aromatique polycyclique a été retenue avec la méthode par chromatographie de complexe donneur-accepteur, qui corrige automatiquement les éventuelles récupérations incomplètes car les échantillons pour étalonnage sont soumis au même traitement que les échantillons pour analyse. Le système utilise des appareils de CLHP classiques.

Corps gras d'origines animale et végétale — Détermination de la teneur en hydrocarbures aromatiques polycycliques par chromatographie de complexe donneur-accepteur et CLHP avec détection par fluorescence

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie un mode opératoire de chromatographie liquide à haute performance (CLHP) permettant de déterminer la teneur en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans les corps gras comestibles.

La méthode a été validée pour l'huile de coco (CN), l'huile d'olive (OV), l'huile de tournesol (SF) et l'huile de soja (BO) et peut être applicable à d'autres huiles après détermination des paramètres appropriés.

La plus faible limite de quantification pour l'ensemble des HAP est fixée à 0,1 µg/kg. La plus petite quantité de chaque HAP qu'il est possible de distinguer des signaux parasites n'a pas été déterminée. La plage de concentration validée pour la méthode est comprise entre 0,1 µg/kg et 3,5 µg/kg pour chaque HAP. Dans le cas de teneurs en HAP (légers) supérieures à 3,5 µg/kg, il est possible de diluer les échantillons afin d'amener la teneur dans la plage validée. Il est également possible de régler le domaine de travail des courbes d'étalonnage. Cependant, les domaines supérieurs à 3,5 µg/kg n'ont pas été validés.

La présente méthode permet de déterminer les HAP suivants: anthracène, phénanthrène, fluoranthène, pyrène, chrysène, benz[a]anthracène, benzo[e]pyrène, benzo[a]pyrène, pérylène, benzo[ghi]pérylène, anthanthrène, dibenz[a,h]anthracène, coronène, indéno[1,2,3-cd]pyrène, benzo[a]fluoranthène, benzo[b]fluoranthène, benzo[k]fluoranthène.

2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour 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*

3 Termes et définitions

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

3.1

hydrocarbure aromatique polycyclique

HAP

composé contenant au moins deux noyaux d'hydrocarbures aromatiques condensés (accolés) et dont la teneur peut être déterminée à l'aide de la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale

3.2

hydrocarbure aromatique polycyclique léger

composé ayant entre deux et quatre noyaux d'hydrocarbures aromatiques condensés (accolés)

EXEMPLES

Composé	N° CAS	Composé	N° CAS	Composé	N° CAS
acénaphène	83-32-9	benzo[e]pyrène	192-97-2	naphtalène	50-32-8
acénaphthylène	208-96-8	chrysène	218-01-9	phénanthrène	85-01-8
anthracène	120-12-7	fluoranthène	206-44-0	pyrène	129-00-0
benz[a]anthracène (1,2-benzanthracène)	56-55-3	fluorène	86-73-7		

3.3

hydrocarbure aromatique polycyclique lourd

composé ayant cinq noyaux et plus d'hydrocarbures aromatiques condensés (accolés)

EXEMPLES

Composé	N° CAS	Composé	N° CAS	Composé	N° CAS
benzo[a]pyrène (1,2-benzopyrène)	50-32-8	benzo[k]fluoranthène	207-08-9	dibenz[a,h]anthracène (1,2,5,6-dibenzanthracène)	53-70-3
benzo[a]fluoranthène	203-33-8	benzo[ghi]pérylène (1,12-benzopérylène)	191-24-2	indéno[1,2,3-cd]pyrène	193-39-5
benzo[b]fluoranthène	205-99-2	coronène	191-07-1	pérylène	198-55-0

3.4

teneur en hydrocarbures aromatiques polycycliques

fraction massique d'un hydrocarbure aromatique polycyclique ou d'un mélange d'hydrocarbures aromatiques polycycliques dans une matrice

EXEMPLES Teneur en chaque hydrocarbure aromatique polycyclique; teneur en hydrocarbures aromatiques polycycliques légers; teneur en hydrocarbures aromatiques polycycliques lourds.

NOTE La teneur est exprimée en fraction massique en microgrammes par kilogramme.

4 Principe

Les HAP présents dans les huiles alimentaires sont déterminés par couplage en ligne d'un appareil de chromatographie de complexe donneur-accepteur à un appareil de chromatographie liquide à haute performance avec détection par fluorescence. Les échantillons d'huile sont élués dans une colonne contenant une phase stationnaire modifiée (colonne de chromatographie de complexe donneur-accepteur DACC) qui agit comme un accepteur d'électrons. La colonne retient les HAP (donneurs d'électrons) par des interactions π - π . Après élution de l'huile, les HAP sont transférés en ligne dans la colonne en phase inverse prévue pour l'analyse. Chaque HAP est détecté à une longueur d'onde différente. Les temps de rétention des HAP sont utilisés pour identifier chacun des composés. Le niveau des HAP présents dans les échantillons d'huile est calculé par étalonnage externe.

5 Réactifs, matériaux et étalons

AVERTISSEMENT — La méthode nécessite l'emploi de réactifs nocifs pour la santé. Respecter les règles générales de sécurité en vigueur dans les laboratoires. Tous les HAP sont soupçonnés d'être cancérogènes. Par conséquent, il est indispensable de préparer les solutions mères, les dilutions étalons et les échantillons de la courbe étalon (5.3) dans un laboratoire de classe 2. Il est également indispensable de porter une blouse de laboratoire et des gants de sécurité lors de ces étapes. Les tissus et les gants contaminés doivent être collectés dans un sac en plastique à mettre au rebut après l'avoir fermé hermétiquement.

5.1 Réactifs.

5.1.1 Acétonitrile, de qualité CLHP, de fraction massique $w[\text{C}_2\text{H}_3\text{N}] > 99,9 \%$.

5.1.2 Acétate d'éthyle, de qualité CLHP, de fraction massique $w[\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2] > 99,8 \%$.

5.1.3 Propanol-2, de qualité CLHP, de fraction massique $w[\text{C}_3\text{H}_8\text{O}] > 99,9 \%$.

5.1.4 Toluène, de qualité CLHP, de fraction massique $w[\text{C}_7\text{H}_8] > 99,9 \%$.

5.1.5 Eau, de qualité CLHP.

5.2 Étalons.¹⁾

5.2.1 Anthracène, de fraction massique $w[\text{C}_{14}\text{H}_{10}] > 99 \%$.

5.2.2 Phénanthrène, de fraction massique $w[\text{C}_{14}\text{H}_{10}] > 99 \%$.

5.2.3 Fluoranthène, de fraction massique $w[\text{C}_{16}\text{H}_{10}] > 99 \%$.

5.2.4 Pyrène, de fraction massique $w[\text{C}_{16}\text{H}_{10}] > 99 \%$.

5.2.5 Chrysène, de fraction massique $w[\text{C}_{18}\text{H}_{12}] > 99 \%$.

5.2.6 Benz[a]anthracène, (1,2-Benzanthracène), de fraction massique $w[\text{C}_{18}\text{H}_{12}] > 99 \%$.

5.2.7 Benzo[e]pyrène, de fraction massique $w[\text{C}_{20}\text{H}_{12}] > 99 \%$.

5.2.8 Benzo[a]pyrène, (1,2-Benzopyrène), de fraction massique $w[\text{C}_{20}\text{H}_{12}] > 99 \%$.

5.2.9 Pérylène, de fraction massique $w[\text{C}_{20}\text{H}_{12}] > 99 \%$.

5.2.10 Benzo[ghi]pérylène, (1,12-Benzopérylène), de fraction massique $w[\text{C}_{22}\text{H}_{12}] > 99 \%$.

5.2.11 Anthanthrène, de fraction massique $w[\text{C}_{22}\text{H}_{12}] > 99 \%$.

5.2.12 Dibenz[a,h]anthracène, (1,2,5,6-Dibenzanthracène), de fraction massique $w[\text{C}_{22}\text{H}_{14}] > 99 \%$.

5.2.13 Coronène, de fraction massique $w[\text{C}_{24}\text{H}_{12}] > 99 \%$.

5.2.14 Indéno[1,2,3-cd]pyrène, de fraction massique $w[\text{C}_{22}\text{H}_{12}] > 99 \%$.

5.2.15 Benzo[a]fluoranthène, de fraction massique $w[\text{C}_{20}\text{H}_{12}] > 99 \%$.

5.2.16 Benzo[b]fluoranthène, de fraction massique $w[\text{C}_{20}\text{H}_{12}] > 99 \%$.

5.2.17 Benzo[k]fluoranthène, de fraction massique $w[\text{C}_{20}\text{H}_{12}] > 99 \%$.

5.2.18 Matériau de référence certifié BCR 458, huile de coco avec 6 hydrocarbures aromatiques polycycliques.

1) IRMM (<http://www.irmm.jrc.be>) et Sigma-Aldrich (<http://www.sigmaaldrich.com>) sont des exemples de fournisseurs appropriés. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif des produits fournis. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.