NORME INTERNATIONALE

ISO 18363-3

Première édition
2017-12

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

Numéro de référence
ISO 18363-3:2017(F)

© ISO 2017



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2017, 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**
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 stock (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 interlaboratoire** **16**
Bibliographie **18**

© ISO 2017 – Tous droits réservés

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 attirée 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 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 le lien suivant: 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*.

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

© ISO 2017 – Tous droits réservés

Introduction

La série ISO 18363 est une famille de Normes internationales pouvant être utilisée pour la détermination des esters de MCPD et de glycidol. La présente introduction décrit les méthodes spécifiées dans les trois documents actuellement publiés ou proposés, 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 la méthode concernée.

L'ISO 18363-1 est une méthode différentielle équivalente à la norme C-VI 18 (10) de la DGF et identique à la méthode officielle Cd 29c-13 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 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 donc 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 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, la présente partie de 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 (proposé) correspondra à la méthode officielle Cd 29b-13 de l'AOCS. En résumé, elle reposera sur une libération alcaline lente de MCPD et de glycidol à partir des formes esters. Le glycidol est par la suite converti en 3-MBPD. L'ISO 18363-2 comprend deux préparations d'échantillons qui se distinguent par l'utilisation d'étalons internes. Les deux préparations seront utilisées pour la détermination des esters de 2-MCPD et de 3-MCPD. Un résultat préliminaire pour les esters de glycidol sera déterminé dans la partie A. Comme le 3-MCPD présent dans l'échantillon sera partiellement converti en glycidol lors de la préparation de l'échantillon, la partie B servira 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 permettra de surveiller le rendement du clivage des esters. Les analyses A et B reposeront 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 sera 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 empêchera la formation non souhaitée de 3-MCPD à partir du glycidol dans les échantillons contenant naturellement des quantités de chlorure. L'ISO 18363-2 sera 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'appliquera également aux graisses animales et aux huiles de friture usagées, mais une étude de validation devra être menée avant de procéder à l'analyse de ces matrices. Les analytes libres éventuellement contenus dans l'échantillon seraient inclus dans les résultats, mais le document 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.

© ISO 2017 – Tous droits réservés

Le présent document correspond à la méthode officielle Cd 29a-13 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. 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 alcoolyse lente en présence d'un catalyseur acide. Le 3-MBPD représente la véritable teneur en glycidol issu des formes esters. Le présent document peut être appliqué pour la détermination des esters de 2-MCPD, 3-MCPD et glycidol dans les corps gras d'origine végétale raffinés et non raffinés. Il peut également s'appliquer 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 réalisé sans la transformation initiale des esters de glycidol. Dans cette configuration, les formes libres et liées du 2-MCPD et du 3-MCPD seraient 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.

© ISO 2017 – Tous droits réservés

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 dérivatisation 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 cités dans le texte 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:

— IEC Electropedia: disponible à l'adresse http://www.electropedia.org/

— ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse https://www.iso.org/obp

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).

© ISO 2017 – Tous droits réservés

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 pentadeutérié et ester de glycidol pentadeutérié) 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 dissous 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 dérivatisation 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.

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[1]).

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[1]).

 © ISO 2017 – Tous droits réservés