
**Huiles d'olive et huiles de grignons
d'olive — Détermination de la teneur en
2-glycéryl monopalmitate**

*Olive oils and olive-pomace oils — Determination of the 2-glycerol
monopalmitate content*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 12872:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d09b876-604a-4e97-bdbd-1d1f577862d9/iso-12872-2010)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d09b876-604a-4e97-bdbd-1d1f577862d9/iso-12872-2010>



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.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 12872:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d09b876-604a-4e97-bdbd-1d1f577862d9/iso-12872-2010>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2010

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	iv
Introduction.....	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	1
5 Réactifs	1
6 Appareillage	2
7 Échantillonnage	3
8 Préparation de l'échantillon pour essai	3
9 Mode opératoire	4
9.1 Étapes préparatoires	4
9.2 Chromatographie sur colonne	4
9.3 Hydrolyse par la lipase pancréatique	5
9.4 Préparation des dérivés silylés et de la chromatographie en phase gazeuse	5
9.5 Chromatographie en phase gazeuse	5
10 Expression des résultats	6
11 Fidélité	6
11.1 Essai interlaboratoires	6
11.2 Répétabilité	6
11.3 Reproductibilité	6
12 Rapport d'essai	6
Annexe A (informative) Chromatogrammes	7
Annexe B (informative) Résultats d'un essai interlaboratoires	10
Annexe C (informative) Préparation et activité de la lipase	11
Bibliographie	13

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 12872 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 11, *Corps gras d'origines animale et végétale*. (standards.iteh.ai)

ISO 12872:2010
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d09b876-604a-4e97-bdbd-1d1f577862d9/iso-12872-2010>

Introduction

Dans le cadre de la *Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive*, le Conseil oléicole international (COI) a publié la COI/T.20/Doc. 23:2006^[6]. La COI/T.20/Doc. 23 était applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive et était utilisée pour faire la distinction entre les huiles d'olive vierges lampantes et les huiles de grignons d'olive brutes. Les grignons d'olive constituent la pâte résiduelle qui contient encore une quantité variable d'eau et d'huile après pressage ou centrifugation.

En 2008, le COI a soumis le document à l'ISO/TC 34/SC 11 en vue de son adoption en tant que Norme internationale.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 12872:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d09b876-604a-4e97-bdbd-1d1f577862d9/iso-12872-2010)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d09b876-604a-4e97-bdbd-1d1f577862d9/iso-12872-2010>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 12872:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d09b876-604a-4e97-bdbd-1d1f577862d9/iso-12872-2010>

Huiles d'olive et huiles de grignons d'olive — Détermination de la teneur en 2-glycéryl monopalmitate

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode pour la détermination de la teneur, sous forme de fraction massique en pourcentage, en 2-glycéryl monopalmitate des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive liquides à température ambiante (20 °C).

NOTE La présente Norme internationale est fondée sur la méthode COI/T.20/Doc. 23:2006^[6].

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

teneur en 2-glycéryl monopalmitate

fraction massique de 2-glycéryl monopalmitate dans la fraction monoglycéridique, déterminée conformément à la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale

NOTE La teneur en 2-glycéryl monopalmitate est exprimée en pourcentage.

4 Principe

Après une préparation appropriée, l'huile est soumise à l'action de la lipase pancréatique. Une hydrolyse partielle et spécifique aux positions 1 et 3 de la molécule de triglycéride entraîne la formation de 2-monoglycérides. Le pourcentage de 2-glycéryl monopalmitate dans la fraction monoglycéridique est déterminé, après silylation, par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire.

5 Réactifs

AVERTISSEMENT — Il est nécessaire de se conformer à toute réglementation locale relative à la manipulation des substances dangereuses. Des mesures de sécurité technique, organisationnelle et personnelle doivent être suivies.

Au cours de l'analyse, sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déminéralisée ou de l'eau de pureté équivalente.

5.1 Gel de silice, ayant une granulométrie comprise entre 0,063 mm et 0,200 mm (70/280 mesh), préparé comme suit: mettre le gel de silice dans une capsule de porcelaine, sécher à l'étuve à 160 °C pendant 4 h, puis laisser refroidir à température ambiante dans un dessiccateur. Ajouter un volume d'eau équivalent à 5 % de la masse de gel de silice, comme suit: dans un Erlenmeyer de 500 ml, peser 152 g de gel de silice et ajouter 8 g d'eau, boucher et agiter délicatement pour homogénéiser. Laisser reposer au moins 12 h avant l'emploi.

5.2 *n*-Hexane, qualité pour chromatographie.

5.3 Isopropanol.

5.4 Mélange isopropanol-eau, fractions volumiques 50 ml/100 ml.

5.5 Lipase pancréatique, activité comprise entre 2,0 et 10 unités de lipase par milligramme (voir Annexe C).

5.6 Solution tampon de tris(hydroxyméthyl)aminométhane: préparer une solution aqueuse (1 mol/l) de pH 8 et mélanger avec du HCl concentré, fractions volumiques 50 ml/100 ml.

5.7 Cholate de sodium, qualité enzymatique, solution aqueuse, fraction massique 0,1 g/100 g.

Utiliser cette solution dans les 15 jours suivant sa préparation.

5.8 Chlorure de calcium, solution aqueuse, fraction massique 22 g/100 g.

5.9 Éther diéthylique, qualité pour chromatographie.

5.10 Solvant d'élution: mélange de *n*-hexane-éther diéthylique, fraction volumique de *n*-hexane 87 ml/100 ml et fraction volumique d'éther diéthylique 13 ml/100 ml.

5.11 Hydroxyde de sodium, solution aqueuse, fraction massique 12 g/100 g.

5.12 Phénolphthaléine, solution éthanolique, concentration en masse 1 g/100 ml.

5.13 Gaz vecteur: hydrogène ou hélium, qualité pour chromatographie en phase gazeuse.

5.14 Gaz auxiliaires: hydrogène, exempt d'humidité et de substances organiques, et air synthétique, qualité pour chromatographie en phase gazeuse.

5.15 Réactif de silylation: mélange de pyridine, d'hexaméthylidisilazane (HMDS) et de triméthylchlorosilane (TMCS), fractions volumiques: 9 ml/13 ml, 3 ml/13 ml et 1 ml/13 ml, respectivement.

5.16 Échantillons de référence: monoglycérides purs et mélanges de monoglycérides ayant une composition connue similaire à celle de l'échantillon.

6 Appareillage

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

6.1 Erlenmeyer, d'une capacité de 25 ml.

6.2 Bêchers, de capacités 100 ml, 250 ml et 300 ml.

6.3 Colonne en verre pour chromatographie, diamètre intérieur de 21 mm à 23 mm, longueur 400 mm, équipée d'un septum et d'un robinet.

6.4 Éprouvettes graduées, de capacités 10 ml, 50 ml, 100 ml et 200 ml, ISO 4788^[2] classe A.

- 6.5 Ballons**, de capacités 100 ml et 250 ml.
- 6.6 Évaporateur rotatif**.
- 6.7 Tubes pour centrifugeuse**, à fond conique, d'une capacité de 10 ml, avec bouchon rodé.
- 6.8 Centrifugeuse**, pour tubes de 10 ml et 100 ml.
- 6.9 Bain-marie**, permettant de maintenir une température de $(40 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$.
- 6.10 Pipettes graduées**, de capacités 1 ml et 2 ml, ISO 835^[1] classe A.
- 6.11 Seringue hypodermique**, de 1 ml.
- 6.12 Microseringue**, de 100 μl .
- 6.13 Ampoule à décanter**, de 1 000 ml.
- 6.14 Chromatographe en phase gazeuse**, approprié au fonctionnement avec colonnes capillaires, équipé des éléments spécifiés de 6.14.1 à 6.14.5.
- 6.14.1 Dispositif d'injection «on column» à froid**.
- 6.14.2 Détecteur à ionisation de flamme**.
- 6.14.3 Four pour colonne**, capable de maintenir la température à $\pm 1 ^\circ\text{C}$.
- 6.14.4 Système informatique d'intégration**.
- 6.14.5 Colonne capillaire en silice fondue**, de 8 m à 12 m de long, d'un diamètre intérieur de 0,25 mm à 0,32 mm, recouverte d'un film de méthylpolysiloxane ou de phényl méthylpolysiloxane 5 %, d'une épaisseur de 0,10 μm à 0,30 μm , pouvant être utilisée à $370 ^\circ\text{C}$.
- 6.15 Microseringue**, de 10 μl , munie d'une aiguille rigide, d'une longueur minimale de 7,5 cm, pour injection directe sur colonne.

7 Échantillonnage

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale. Une méthode d'échantillonnage recommandée est indiquée dans l'ISO 5555^[3].

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif, non endommagé ou modifié lors du transport ou de l'entreposage.

8 Préparation de l'échantillon pour essai

Préparer l'échantillon pour essai conformément à l'ISO 661. Les huiles ayant une acidité libre supérieure à 3 % nécessitent une étape de neutralisation comme spécifié ici.

Dans une ampoule à décanter de 1 000 ml (6.13), introduire 50 g d'huile et diluer dans 200 ml de *n*-hexane (5.2). Ajouter 100 ml d'isopropanol (5.3) et un volume de la solution d'hydroxyde de sodium (5.11) correspondant à l'acidité libre de l'huile avec un excès de 5 %. Agiter énergiquement pendant 1 min. Ajouter 100 ml d'eau, agiter de nouveau et laisser reposer.

Après décantation, éliminer la couche inférieure contenant les savons. Éliminer également toutes couches intermédiaires de mucilage et de substances insolubles qui apparaissent souvent. Laver la solution hexanique

de l'huile avec des portions successives de 50 ml à 60 ml du mélange isopropanol-eau (5.4) jusqu'à ce que la phase lavée soit neutre en présence de phénolphthaléine (5.12).

Éliminer la plus grande partie de l'hexane par distillation sous vide, en utilisant par exemple un évaporateur rotatif (6.6) et transférer l'huile dans un ballon de 100 ml (6.5). Sécher l'huile sous vide jusqu'à élimination totale du solvant.

À la fin de cette opération, s'assurer que l'acidité de l'huile est inférieure à 0,5 %.

9 Mode opératoire

9.1 Étapes préparatoires

9.1.1 Introduire 1,0 g d'huile, préparée (Article 8) le cas échéant, dans un Erlenmeyer de 25 ml (6.1) et dissoudre dans 10 ml de solvant d'élution (5.10). Laisser reposer la solution pendant au moins 15 min avant de commencer la chromatographie sur colonne avec le gel de silice.

Si la solution est trouble, la centrifuger pour garantir des conditions optimales pour la chromatographie.

Des cartouches de gel de silice pour extraction en phase solide (SPE) de 500 mg prêtes à l'emploi peuvent être utilisées.

9.1.2 Verser dans la colonne pour chromatographie (6.3) environ 30 ml de solvant d'élution (5.10), introduire un morceau de coton dans la partie inférieure de la colonne à l'aide d'une baguette de verre; presser pour éliminer l'air.

Dans un bécher, préparer une suspension de 25 g de gel de silice (5.1) dans environ 80 ml de solvant d'élution et la verser dans la colonne à l'aide d'un entonnoir.

Vérifier que tout le gel de silice a été introduit dans la colonne; laver avec le solvant d'élution, ouvrir le robinet et laisser le solvant s'écouler jusqu'à atteindre un niveau d'environ 2 mm au-dessus du niveau du gel de silice.

9.2 Chromatographie sur colonne

9.2.1 Mode opératoire classique

Dans un Erlenmeyer de 25 ml (6.1), peser, à 0,1 mg près, 1,0 g de l'échantillon pour essai préparé (9.1.1).

Dissoudre l'échantillon dans 10 ml de solvant d'élution (5.10). Verser la solution dans la colonne pour chromatographie (9.1.2). Éviter de remuer la surface de la colonne.

Ouvrir le robinet et laisser s'écouler la solution d'échantillon jusqu'à ce qu'elle atteigne le niveau du gel de silice. Éluer avec 150 ml de solvant d'élution. Ajuster le débit à 2 ml/min (150 ml doivent s'écouler dans la colonne en 60 min à 70 min environ).

Récupérer l'éluat dans un ballon de 250 ml (6.5) préalablement taré. Évaporer le solvant sous vide et éliminer les dernières traces de solvant sous un courant d'azote.

Peser le ballon et calculer la masse récupérée par différence.

9.2.2 Mode opératoire avec utilisation de cartouches de silice SPE prêtes à l'emploi

Introduire 1 ml de solution (9.1.1) dans les cartouches préalablement conditionnées avec 3 ml de *n*-hexane. Après percolation de la solution, éluer avec 4 ml de solvant d'élution *n*-hexane-éther diéthylique (5.10). Récupérer l'éluat dans un tube de 10 ml et évaporer sous un courant d'azote jusqu'à siccité. Soumettre le résidu sec à l'action de la lipase pancréatique (5.5). Vérifier la composition en acides gras avant et après passage sur la cartouche SPE.

9.3 Hydrolyse par la lipase pancréatique

9.3.1 Dans le tube pour centrifugeuse (6.7), peser 0,1 g de l'huile. Ajouter 2 ml de solution tampon (5.6), 0,5 ml de la solution de cholate de sodium (5.7) et 0,2 ml de la solution de chlorure de calcium (5.8), en agitant bien après chaque addition. Fermer le tube avec le bouchon rodé et le placer dans le bain-marie (6.9) à $(40 \pm 0,5)$ °C.

9.3.2 Ajouter 20 mg de lipase (5.5), agiter soigneusement (en évitant de mouiller le bouchon) et mettre le tube dans le bain-marie pendant exactement 2 min, puis le retirer, agiter énergiquement pendant 1 min exactement et laisser refroidir.

9.3.3 Ajouter 1 ml d'éther diéthylique (5.9), boucher et agiter énergiquement, puis centrifuger et transférer la solution d'éther dans un tube propre et sec, à l'aide d'une microseringue.

9.4 Préparation des dérivés silylés et de la chromatographie en phase gazeuse

À l'aide d'une microseringue, introduire 100 µl de solution (9.3.3) dans un tube à fond conique de 10 ml (6.7). Éliminer le solvant sous un léger courant d'azote, ajouter 200 µl de réactif de silylation (5.15), boucher le tube et laisser reposer pendant 20 min.

Après 20 min, ajouter 5 ml de *n*-hexane (5.2). La solution est alors prête pour la chromatographie en phase gazeuse.

9.5 Chromatographie en phase gazeuse

9.5.1 Conditions opératoires

Les conditions opératoires suivantes sont recommandées:

- température du dispositif d'injection: inférieure à la température d'ébullition du solvant (68 °C);
- température du détecteur: 350 °C;
- programmation de la température du four: maintien à 60 °C pendant 1 min, augmentation de 15 °C/min jusqu'à 180 °C, puis de 5 °C/min jusqu'à 340 °C, maintien à 340 °C pendant 20 min;
- gaz vecteur: hydrogène ou hélium, réglé à la vitesse linéaire adéquate en vue d'obtenir la résolution présentée à l'Annexe A;
- temps de rétention du triglycéride C₅₄: (40 ± 5) min (voir Figure A.2);
- volume d'injection: 0,5 µl à 1 µl de la solution obtenue en 9.4.

Optimiser les conditions de séparation pour obtenir la résolution désirée. S'assurer que la hauteur du pic correspondant au 2-glycéryl monopalmitate est au moins égale à 10 % de l'échelle de l'enregistreur.

9.5.2 Identification des pics

Les monoglycérides individuels sont identifiés en comparant les temps de rétention obtenus à ceux obtenus avec les mélanges de référence de monoglycérides analysés dans les mêmes conditions d'essai.

9.5.3 Évaluation quantitative

L'aire de chaque pic est calculée au moyen d'un intégrateur électronique.