

---

---

**Huiles d'olive et huiles de grignons  
d'olive — Détermination de la teneur en  
cires par chromatographie en phase  
gazeuse sur colonne capillaire**

*Olive oils and olive-pomace oils — Determination of wax content by  
capillary gas chromatography*

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 12873:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/35ede9d4-9154-4d34-8584-17d7924a33a5/iso-12873-2010)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/35ede9d4-9154-4d34-8584-  
17d7924a33a5/iso-12873-2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/35ede9d4-9154-4d34-8584-17d7924a33a5/iso-12873-2010)



**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 12873:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/35ede9d4-9154-4d34-8584-17d7924a33a5/iso-12873-2010>



**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](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

## 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 12873 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 11, *Corps gras d'origines animale et végétale*.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
(standards.iteh.ai)  
ISO 12873:2010  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/35ede9d4-9154-4d34-8584-17d7924a33a5/iso-12873-2010>

## 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. 18:2007<sup>[4]</sup>. La COI/T.20/Doc. 18 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 12873:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/35ede9d4-9154-4d34-8584-17d7924a33a5/iso-12873-2010>

# Huiles d'olive et huiles de grignons d'olive — Détermination de la teneur en cires par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie la détermination de la teneur en cires, sous forme de fraction massique exprimée en milligrammes par kilogramme, des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive. Les différentes cires sont séparées en fonction du nombre d'atomes de carbone. La méthode est recommandée pour différencier l'huile d'olive obtenue par pressage ou centrifugation de celle obtenue par extraction (huile de grignons d'olive).

NOTE La présente Norme internationale est fondée sur la méthode COI/T.20/Doc. 18/Rev. 2:2007<sup>[4]</sup>.

## 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 cires

fraction massique de ces substances dans un échantillon, déterminée conformément à la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale

NOTE La teneur en cires est exprimée en milligrammes par kilogramme.

## 4 Principe

L'huile, additionnée d'un étalon interne approprié, est fractionnée par chromatographie sur colonne de gel de silice hydraté. La fraction éluée dans les conditions de l'essai (à polarité inférieure à celle des triglycérides) est récupérée et analysée 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**, d'une granulométrie comprise entre 60 µm et 200 µm, préparé comme suit: placer le gel de silice dans le four à moufle à 500 °C pendant au moins 4 h; laisser refroidir, puis ajouter 2 % d'eau par rapport à la masse de gel de silice utilisée; agiter convenablement afin d'homogénéiser la masse. Conserver à l'abri de la lumière pendant au moins 12 h avant emploi.

**5.2 *n*-Hexane**, qualité pour chromatographie.

**5.3 Éther diéthylique**, qualité pour chromatographie.

**5.4 *n*-Heptane**, qualité pour chromatographie.

**5.5 Étalon interne**, solution d'arachidate de lauryle dans l'hexane, concentration massique 0,1 g/100 ml.

NOTE Il est également possible d'utiliser du palmitate de palmityle ou du stéarate de myristyle.

**5.6 Soudan I** (1-phénylazo-2-naphtol).

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

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

## iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

### 6 Appareillage

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

[ISO 12873:2010](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/35ede9d4-9154-4d34-8584-17d7924a33a5/iso-12873-2010)

**6.1 Erlenmeyer**, de 25 ml. <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/35ede9d4-9154-4d34-8584-17d7924a33a5/iso-12873-2010>

**6.2 Colonne en verre pour chromatographie liquide**, diamètre intérieur 15,0 mm, hauteur 30 cm à 40 cm, équipée d'un robinet.

**6.3 Chromatographe en phase gazeuse**, approprié au fonctionnement avec colonnes capillaires, équipé des éléments spécifiés de 6.3.1 à 6.3.5.

**6.3.1 Dispositif d'injection «on column» à froid.**

**6.3.2 Four thermostaté**, équipé d'un programmeur de température.

**6.3.3 Détecteur à ionisation de flamme.**

**6.3.4 Système informatique d'intégration.**

**6.3.5 Colonne capillaire**, en silice fondue, longueur 8 m à 12 m, diamètre intérieur 0,25 mm à 0,32 mm, avec phase liquide SE-52 ou SE-54<sup>1)</sup> ou équivalent, avec une épaisseur de film comprise entre 0,10 µm et 0,30 µm.

**6.4 Microseringue pour injection directe sur colonne**, de 10 µl, munie d'une aiguille rigide.

**6.5 Agitateur électrique.**

---

1) SE-52 et SE-54 sont des exemples de produits appropriés disponibles sur le marché. 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 ainsi désignés.

**6.6** Évaporateur rotatif.

**6.7** Four à moufle.

**6.8** Balance analytique, pour peser avec une précision de 0,1 mg.

## 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<sup>[1]</sup>.

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.

## 9 Mode opératoire

### 9.1 Préparation de la colonne pour chromatographie

Mettre en suspension 15 g de gel de silice (5.1) dans le *n*-hexane (5.2) et introduire dans la colonne pour chromatographie (6.2). Laisser déposer spontanément. Utiliser un agitateur électrique (6.5) pour faciliter le tassement du dépôt et rendre la couche chromatographique plus homogène. Percoler 30 ml de *n*-hexane afin d'éliminer les impuretés éventuelles. Peser, à 0,12 mg près, environ 500 mg de l'échantillon dans un Erlenmeyer de 25 ml (6.1), ajouter une quantité appropriée d'étalon interne (5.5) en fonction de la teneur présumée en cires. Ajouter 0,1 mg d'arachidate de lauryle dans la solution d'étalon interne (5.5) dans le cas d'une huile d'olive, et 0,25 mg à 0,50 mg dans le cas d'une huile de grignons d'olive.

Transférer la prise d'essai dans la colonne pour chromatographie à l'aide de deux portions de 2 ml chacune de *n*-hexane.

Laisser s'écouler le solvant jusqu'à 1 mm au-dessus du niveau supérieur de l'absorbant. Percoler 70 ml de *n*-hexane supplémentaires afin d'éliminer les *n*-alcanes naturellement présents. Commencer alors l'élution chromatographique en recueillant 180 ml d'un mélange de 99 ml/100 ml de *n*-hexane (5.2) et de 1 ml/100 ml d'éther diéthylique (5.3) à un débit d'environ 15 gouttes toutes les 10 s. Effectuer la chromatographie sur colonne à température ambiante.

Préparer le mélange *n*-hexane-éther diéthylique chaque jour.

Pour contrôler visuellement l'élution correcte des cires, ajouter 100 µl de Soudan I (5.6) en solution à une concentration de 1 g/100 ml dans la prise d'essai en solution. Le colorant est retenu entre les cires et les triglycérides sur la colonne pour chromatographie. Par conséquent, lorsque le colorant atteint le bas de la colonne, stopper l'élution car toutes les cires ont été éluées.

Évaporer la fraction obtenue à l'aide d'un évaporateur rotatif (6.6) jusqu'à élimination presque totale du solvant. Éliminer les deux derniers millilitres de solvant à l'aide d'un faible courant d'azote, puis ajouter 2 ml à 4 ml de *n*-heptane.

## 9.2 Analyse par chromatographie en phase gazeuse

### 9.2.1 Opérations préliminaires

Si la colonne est utilisée pour la première fois, il est recommandé de procéder à son conditionnement. Laisser passer un faible débit de gaz à travers la colonne, puis mettre en marche l'appareil de chromatographie en phase gazeuse. Chauffer graduellement jusqu'à atteindre, au bout de 4 h environ, une température de 350 °C.

Maintenir cette température pendant au moins 2 h, puis procéder au réglage de l'appareil aux conditions de fonctionnement (débit de gaz, allumage de la flamme, température du four pour colonne, détecteur, etc.). Enregistrer le signal à une sensibilité au moins deux fois supérieure à celle prévue pour l'exécution de l'analyse. Il convient que la ligne de base soit linéaire, exempte de pics de toute nature, et elle ne doit pas présenter de dérive. Une dérive rectiligne négative indique une tenue incorrecte des raccordements de la colonne; une dérive positive indique un conditionnement insuffisant de la colonne.

### 9.2.2 Conditions opératoires

Les conditions opératoires suivantes sont recommandées.

- Température de la colonne:
  - maintien à 80 °C pendant 1 min;
  - augmentation de 20 °C/min jusqu'à 240 °C;
  - augmentation de 5 °C/min jusqu'à 325 °C, puis maintien à 325 °C pendant 5 min;
  - augmentation de 20 °C/min jusqu'à 340 °C, puis maintien à 340 °C pendant 10 min;
- température du détecteur: 350 °C;
- volume d'injection: 1 µl de la solution de *n*-heptane;
- gaz vecteur: hélium ou hydrogène à la vitesse linéaire optimale pour le gaz sélectionné (voir Annexe C).

Compte tenu de la température finale élevée de 340 °C dans la colonne, une dérive positive est admise, mais elle ne doit pas être supérieure à 10 % de la pleine échelle.

Ces conditions doivent être modifiées en fonction des caractéristiques de la colonne et de l'appareil de chromatographie en phase gazeuse, de manière à obtenir une séparation de toutes les cires et une résolution satisfaisante des pics (voir Figure A.1). Le temps de rétention de l'étalon interne doit être de  $(18 \pm 3)$  min et le pic le plus représentatif des cires doit correspondre à au moins 60 % de la pleine échelle.

## 9.3 Exécution de l'analyse

Prélever 1 µl de la solution à l'aide de la microseringue de 10 µl (6.4); tirer le piston de la seringue jusqu'à ce que l'aiguille soit vide. Introduire l'aiguille dans le dispositif d'injection et, après 1 s à 2 s, injecter rapidement. Au bout d'environ 5 s, extraire lentement l'aiguille. Enregistrer le chromatogramme jusqu'à élution complète des cires. La ligne de base doit toujours répondre aux conditions requises.

## 9.4 Identification des pics

Identifier les pics à partir des temps de rétention en les comparant aux temps de rétention connus de mélanges de cires analysés dans les mêmes conditions.

La Figure A.1 représente un chromatogramme de la fraction de cires d'une huile d'olive vierge.

## 10 Analyse quantitative et expression des résultats

Déterminer les aires des pics correspondant à l'étalon interne et aux esters aliphatiques de C<sub>40</sub> à C<sub>46</sub> et calculer la teneur en cires,  $w_w$ , en milligramme par kilogramme d'huile, d'après l'équation:

$$w_w = \left( \sum_i \frac{A_i m_{IS}}{A_{IS} m} \right) \times 1000$$

où

$A_i$  est l'aire de pic de chaque pic correspondant aux esters en C<sub>40</sub> à C<sub>46</sub>, compris;

$A_{IS}$  est l'aire du pic correspondant à l'étalon interne;

$m_{IS}$  est la masse, en milligrammes, d'étalon interne ajoutée;

$m$  est la masse, en grammes, de la prise d'essai.

Indiquer la somme des teneurs des différentes cires de C<sub>40</sub> à C<sub>46</sub>, en milligrammes par kilogramme, avec une décimale.

Les composants à quantifier font référence aux pics à nombre pair d'atomes de carbone parmi les esters C<sub>40</sub> à C<sub>46</sub> (voir le chromatogramme de la fraction de cires de l'huile d'olive à la Figure A.1). Si le pic de l'ester C<sub>46</sub> apparaît en double, il est conseillé d'analyser la fraction des cires d'une huile de grignons d'olive où le pic C<sub>46</sub> est nettement majoritaire.

**ITeH STANDARD PREVIEW**  
(standards.iteh.ai)

## 11 Fidélité

### 11.1 Essai interlaboratoires

ISO 12873:2010

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/35ede9d4-9154-4d34-8584-17d7924e33a5/iso-12873-2010>

Les détails d'un essai interlaboratoires relatif à la fidélité de la méthode sont résumés à l'Annexe B. Les valeurs obtenues lors de cet essai interlaboratoires ne peuvent pas être appliquées à d'autres gammes de concentration et matrices que celles indiquées.

### 11.2 Répétabilité

Il convient que la différence absolue entre deux résultats d'essai indépendants, obtenue à l'aide de la même méthode, sur un matériau d'essai identique soumis à essai dans le même laboratoire, par le même opérateur utilisant le même appareillage dans un court intervalle de temps, ne dépasse pas, dans plus de 5 % des cas, les valeurs de limite de répétabilité,  $r$ , indiquées dans le Tableau B.1.

### 11.3 Reproductibilité

Il convient que la différence absolue entre deux résultats d'essai individuels, obtenus à l'aide de la même méthode, sur un matériau d'essai identique soumis à essai dans différents laboratoires, par différents opérateurs utilisant un appareillage différent, ne dépasse pas, dans plus de 5 % des cas, les valeurs de limite de reproductibilité,  $R$ , indiquées dans le Tableau B.1.

## 12 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit inclure au moins les informations suivantes:

- a) toutes les informations nécessaires à l'identification complète de l'échantillon;
- b) la méthode d'échantillonnage utilisée, si elle est connue;