
**Détermination de la teneur en stérols
individuels et totaux — Méthode par
chromatographie en phase gazeuse —**

**Partie 2:
Huile d'olive et huile de grignons
d'olive**

iTeh STANDARD PREVIEW

(standards.iteh.ai)
*Determination of individual and total sterols contents — Gas
chromatographic method —*

Part 2: Olive oils and olive pomace oils

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/57ae63a7-92c4-458b-9697-706f41859e08/iso-12228-2-2014>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 12228-2:2014

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/57ae63a7-92c4-458b-9697-706f41859e08/iso-12228-2-2014>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2014

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
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
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	2
5 Réactifs	2
6 Appareillage	3
7 Échantillon	4
7.1 Échantillonnage.....	4
7.2 Préparation de l'échantillon pour essai.....	4
8 Mode opératoire	5
8.1 Prise d'essai.....	5
8.2 Préparation de l'insaponifiable.....	5
8.3 Séparation de la fraction stérolique et des dialcools triterpéniques (érythrodiol, uvaol) par CCM.....	6
8.4 Préparation des triméthylsilyléthers.....	6
8.5 Analyse par chromatographie en phase gazeuse.....	7
9 Expression des résultats	8
9.1 Évaluation quantitative.....	8
9.2 Détermination de la teneur en stérols totaux.....	9
9.3 Composition des stérols.....	9
9.4 Composition des dialcools triterpéniques.....	9
10 Fidélité https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/57ae63a7-92c4-458b-9697-706f41859e08/iso-12228-2-2014	10
10.1 Essai interlaboratoires.....	10
10.2 Limite de répétabilité, <i>r</i>	10
10.3 Limite de reproductibilité, <i>R</i>	10
11 Rapport d'essai	10
Annexe A (informative) Figures	11
Annexe B (informative) Essai interlaboratoires	14
Bibliographie	18

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. <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/57ae63a7-92c4-458b-9697-706f41859e08/iso-12228-2-2014>

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 de l'ISO 12228-2 annule et remplace l'ISO 12228:1999, qui a fait l'objet d'une révision technique.

L'ISO 12228 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Détermination de la teneur en stérols individuels et totaux — Méthode par chromatographie en phase gazeuse*:

- *Partie 1: Corps gras d'origines animale et végétale*
- *Partie 2: Huile d'olive et huile de grignons d'olive*

Détermination de la teneur en stérols individuels et totaux — Méthode par chromatographie en phase gazeuse —

Partie 2: Huile d'olive et huile de grignons d'olive

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 12228 spécifie un mode opératoire de détermination de la teneur et de la composition des stérols et des dialcools triterpéniques contenus dans l'huile d'olive et l'huile de grignons d'olive par chromatographie en phase gazeuse. Pour déterminer la teneur et la composition des stérols dans tout autre corps gras d'origine animale ou végétale, l'ISO 12228-1 doit être utilisée.

NOTE La présente partie de l'ISO 12228 est techniquement identique à la norme du Conseil Oléicole International COI/T.20/Doc. n° 30 (novembre 2011).

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*

3 Termes et définitions

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

3.1

composition des stérols

composition des stérols individuels contenus dans l'échantillon, en commençant par le cholestérol et en terminant par le Δ^7 -avénastérol (voir [Tableau 1](#)) dans les conditions spécifiées par la présente partie de l'ISO 12228

Note 1 à l'article: La composition est exprimée en pourcentage de la somme de toutes les aires de pic, ramenée à 100 %.

3.2

teneur en stérols totaux

fraction massique de la somme de tous les stérols individuels, déterminée selon la méthode spécifiée dans la présente partie de l'ISO 12228, en commençant par le cholestérol et en terminant par le Δ^7 -avénastérol (voir [Tableau 1](#)), divisée par la masse de la prise d'essai

Note 1 à l'article: La teneur est exprimée en milligrammes par kilogramme.

3.3 composition des dialcools triterpéniques

composition de l'érythrodiol et de l'uvaol dans l'échantillon dans les conditions spécifiées par la présente partie de l'ISO 12228

Note 1 à l'article: La composition est exprimée en pourcentage de la somme des aires de pic, en commençant par le cholestérol et en terminant par l'uvaol (voir [Tableau 1](#)) dans les conditions spécifiées par la présente partie de l'ISO 12228, ramenée à 100 %.

4 Principe

Saponification d'une prise d'essai par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium à ébullition sous reflux. Extraction de l'insaponifiable par l'éther diéthylique. Séparation des fractions contenant les stérols et les dialcools triterpéniques de l'insaponifiable par chromatographie sur couche mince (CCM) sur plaque de gel de silice basique. Détermination de la composition qualitative et quantitative des fractions contenant les stérols et les dialcools triterpéniques par chromatographie en phase gazeuse des triméthylsilyléthers en utilisant du cholestanol comme étalon interne.

5 Réactifs

AVERTISSEMENT — L'attention des lecteurs est attirée sur les règles qui spécifient la manipulation des substances dangereuses. Les mesures de sécurité sur les plans technique, organisationnel et personnel doivent être suivies.

Sauf spécification contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau de qualité 3 conformément à l'ISO 3696. ^[1]

5.1 **Hydroxyde de potassium**, avec une fraction massique d'au moins $w = 85$ g/100 g.

5.2 **Hydroxyde de potassium**, solution éthanolique, avec une concentration, c , d'environ 2 mol/l.

Dissoudre 130 g d'hydroxyde de potassium (5.1), en refroidissant, dans 200 ml d'eau distillée et compléter à 1 l avec de l'éthanol (5.9). Conserver la solution dans des flacons en verre opaque bien bouchés pendant 2 jours au maximum.

5.3 **Hydroxyde de potassium**, solution éthanolique, avec une concentration, c , d'environ 0,2 mol/l.

Dissoudre 13 g d'hydroxyde de potassium (5.1) dans 20 ml d'eau distillée et compléter à 1 l avec de l'éthanol (5.9).

5.4 **Éther diéthylique**, pour chromatographie.

AVERTISSEMENT — L'éther diéthylique est hautement inflammable et peut engendrer la formation de peroxydes explosifs. Les limites d'explosion dans l'air sont comprises entre 1,7 % et 48 % (v/v). Des précautions particulières doivent être prises lors de l'utilisation de cette substance.

5.5 **Sulfate de sodium anhydre**.

5.6 **Plaques de gel de silice pour chromatographie sur couche mince (CCM)**, disponibles dans le commerce, de 20 cm × 20 cm, avec une épaisseur de couche de 0,25 mm, sans indicateur de fluorescence.

5.7 **Acétone**, pour chromatographie.

5.8 **n-hexane**, pour chromatographie.

5.9 **Éthanol à 96 %**, avec une fraction volumique d'au moins $\varphi = 95$ %.

5.10 Acétate d'éthyle.

5.11 Solution de référence pour CCM, cholestérol ou mélange de phytostérols et solution d'érythrodiol dans l'acétate d'éthyle (5.10), de concentration massique $\rho = 5 \%$.

5.12 2,7-dichlorofluorescéine, solution éthanolique, de concentration massique $\rho = 0,2 \%$.

La rendre légèrement basique par ajout de quelques gouttes de solution alcoolique d'hydroxyde de potassium à 2 mol/l (5.2). Conserver pendant 1 an au maximum.

5.13 Solution étalon interne de α -cholestanol, de concentration massique $\rho = 0,2 \text{ g}/100 \text{ ml}$, dans l'acétate d'éthyle (5.10).

5.14 Solution de phénolphtaléine, de concentration massique $\rho = 10 \text{ g}/\text{l}$ dans l'éthanol (5.9).

5.15 Gaz vecteur pour chromatographie en phase gazeuse, hélium ou, de préférence, hydrogène.

5.16 Gaz auxiliaires pour chromatographie en phase gazeuse, hydrogène, hélium, azote et air.

5.17 Solvant de développement, mélange de *n*-hexane et d'éther diéthylique, de concentrations volumiques: $\sigma(\textit{n-hexane}) = 65 \text{ ml}/100 \text{ ml}$, $\sigma(\textit{éther diéthylique}) = 35 \text{ ml}/100 \text{ ml}$.

5.18 Hexaméthylidisilazane.

5.19 Triméthylchlorosilane.

5.20 Réactif silylant, mélange de pyridine, d'hexaméthylidisilazane et de triméthylchlorosilane.

Concentration volumique $\sigma(\textit{pyridine}) = 9 \text{ ml}/13 \text{ ml}$, $\sigma(\textit{hexaméthylidisilazane}) = 3 \text{ ml}/13 \text{ ml}$, $\sigma(\textit{triméthylchlorosilane}) = 1 \text{ ml}/13 \text{ ml}$. Préparer le mélange fraîchement chaque jour.

NOTE D'autres réactifs silylants peuvent être utilisés tels que, par exemple, un mélange N-O-bis-triméthylsilyltrifluoroacétamide (BSTFA) et triméthylchlorosilane (TMCS), $\sigma(\textit{BSTFA}) = 99 \text{ ml}/100 \text{ ml}$ et $\sigma(\textit{TMCS}) = 1 \text{ ml}/100 \text{ ml}$.

6 Appareillage

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

6.1 Ballons à fond rond, de 250 ml, à col rodé.

6.2 Réfrigérant à reflux, muni d'un joint rodé s'adaptant aux ballons (6.1).

6.3 Ampoule à décantier, d'une capacité de 500 ml.

6.4 Cuve de développement, en verre, munie d'un couvercle en verre rodé, pouvant être utilisée avec des plaques de 20 cm \times 20 cm.

6.5 Émetteur ultraviolet, avec une longueur d'onde de 366 nm ou 254 nm.

6.6 Microseringue, d'une capacité de 100 μl , 500 μl et 1 000 μl .

6.7 Entonnoir cylindrique pour filtration, muni d'un filtre en verre fritté (G3, d'une porosité de 15 µm à 40 µm), d'environ 2 cm de diamètre, de 5 cm de profondeur, adapté à la filtration sous vide avec embout rodé mâle.

6.8 Fiole conique, pour fonctionnement sous vide, de 50 ml avec embout rodé femelle adaptable à l'entonnoir pour filtration (6.7).

6.9 Tube à essai, de 10 ml, à fond conique avec bouchon hermétique en verre.

6.10 Chromatographe en phase gazeuse, équipé pour colonnes capillaires, muni d'un injecteur-diviseur, constitué des éléments suivants:

- **four**, permettant de maintenir la température désirée avec une précision de $\pm 1^\circ \text{C}$;
- **ensemble d'injection thermoréglable**, avec insert en verre persilanisé et diviseur;
- **détecteur à ionisation de flamme (FID)**;
- **système d'acquisition de données**.

6.11 Colonne capillaire, en silice fondue, de 20 m à 30 m de longueur, de 0,25 mm à 0,32 mm de diamètre intérieur, revêtu d'une phase 5 %-diphényl- 95 % diméthyl-polysiloxane (phase stationnaire SE-52, SE-54 ou équivalent), avec une température limite d'au moins 280 °C à 300 °C, et une épaisseur comprise entre 0,1 µm et 0,30 µm.

iTeh STANDARD PREVIEW

6.12 Microseringue pour chromatographie en phase gazeuse, d'une capacité de 1 µl et 10 µl, avec une aiguille rigide adaptée à l'injecteur-diviseur.

6.13 Dessiccateur, contenant un déshydratant pour la conservation des plaques, par exemple du chlorure de calcium.

6.14 Étuve, maintenue à $103^\circ \text{C} \pm 2^\circ \text{C}$.

6.15 Évaporateur rotatif, relié à une pompe à vide, avec un bain-marie maintenu à 40 °C.

6.16 Balance analytique, capable de peser à 0,001 g près et d'afficher les valeurs à 0,000 1 g près.

7 Échantillon

7.1 Échantillonnage

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente partie de l'ISO 12228. Une méthode d'échantillonnage recommandée est donnée dans l'ISO 5555.[[2]]

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif, qui n'ait été ni endommagé ni modifié lors du transport ou de la conservation.

7.2 Préparation de l'échantillon pour essai

Préparer l'échantillon pour essai conformément à l'ISO 661. Si nécessaire, sécher l'échantillon par filtration.

8 Mode opératoire

8.1 Prise d'essai

Au moyen d'une microseringue (6.6), introduire dans un ballon de 250 ml (6.1) 500 µl (pour l'huile d'olive) ou 1 500 µl (pour l'huile de grignons d'olive) de solution étalon interne (5.13). Évaporer sous un léger courant d'azote dans un bain d'eau chaude jusqu'à dessiccation puis refroidir le flacon.

Peser, à 10 mg près, environ 5 g d'huile d'olive ou d'huile de grignons d'olive dans le même ballon et passer à l'étape 8.2.

NOTE Dans le cas d'huiles d'olive ou de grignons d'olive contenant des quantités importantes de cholestérol, il est possible qu'un pic ayant un temps de rétention identique à celui du cholestanol apparaisse. Le cas échéant, la fraction stéroïdique doit être analysée en duplicata, avec et sans étalon interne.

8.2 Préparation de l'insaponifiable

8.2.1 Ajouter 50 ml de solution éthanolique d'hydroxyde de potassium à 2 mol/l (5.2) et de la pierre ponce. Relier le réfrigérant à reflux et porter le contenu du ballon à légère ébullition jusqu'à ce que la solution devienne limpide (fin de la saponification). Continuer à chauffer pendant 20 min supplémentaires puis verser 50 ml d'eau distillée du haut du réfrigérant. Débrancher le réfrigérant et laisser refroidir le ballon jusqu'à environ 30 °C.

8.2.2 Transvaser le contenu du ballon quantitativement dans une ampoule à décanter de 500 ml (6.3) en faisant plusieurs lavages à l'eau distillée (50 ml). Ajouter environ 80 ml d'éther diéthylique (5.4) et agiter énergiquement durant environ 60 s. Décompresser régulièrement en retournant l'ampoule à décanter et en ouvrant le robinet. Laisser reposer jusqu'à complète séparation des deux phases.

Extraire la solution savonneuse le plus complètement possible dans une deuxième ampoule à décanter. Procéder à deux autres extractions sur la phase hydro-alcoolique de la même manière au moyen du 60 ml à 70 ml d'éther diéthylique (5.4).

Les émulsions peuvent être éliminées en ajoutant de petites quantités d'éthanol (5.9) et en agitant doucement par mouvements circulaires.

8.2.3 Verser les trois extraits éthers dans une seule ampoule à décanter contenant 50 ml d'eau. Laver à l'eau (50 ml) jusqu'à ce que la coloration rose de l'eau disparaisse lorsqu'une goutte de solution de phénolphtaléine est ajoutée (5.14).

Après élimination de l'eau de lavage, filtrer sur du sulfate de sodium anhydre (5.5) dans un ballon de 250 ml préalablement pesé, en lavant l'ampoule et le filtre avec de petites quantités d'éther diéthylique (5.4).

8.2.4 Évaporer le solvant avec un évaporateur rotatif à 30 °C sous vide. Ajouter 5 ml d'acétone (5.7) et éliminer complètement le solvant volatil sous un léger courant d'air. Sécher le résidu à l'étuve (6.14) à 103 °C ± 2 °C pendant 15 min. Faire refroidir dans un dessiccateur et peser à 0,1 mg près.

8.3 Séparation de la fraction stérolique et des dialcools triterpéniques (érythrodiol, uvaol) par CCM

8.3.1 Immerger les plaques de gel de silice (5.6) dans environ 4 cm de solution éthanolique d'hydroxyde de potassium à 0,2 mol/l (5.3) pendant 10 s puis les laisser sécher sous une hotte aspirante pendant deux heures avant de les placer dans une étuve à 100 °C pendant 1 h.

Retirer les plaques de l'étuve et les placer dans un dessiccateur (6.13) jusqu'au moment de l'emploi (les plaques doivent être utilisées dans les 15 jours).

NOTE Lorsque des plaques de gel de silice basiques sont utilisées pour la séparation de la fraction stérolique, tous les composés de nature acide (acides gras et autres) sont retenus sur la ligne de dépôt et la bande des stérols se distingue nettement de la bande des alcools aliphatiques et triterpéniques.

8.3.2 Remplir la cuve de développement (6.4) sur une profondeur d'environ 1 cm de solvant de développement (5.17). Fermer la cuve à l'aide du couvercle et laisser ainsi pendant au moins une demi-heure, dans un endroit frais, de façon que l'équilibre liquide/vapeur s'établisse. Il convient de placer des bandes de papier filtre sur la surface intérieure de la cuve et de les faire tremper dans l'éluant afin de réduire d'un tiers environ le temps de développement. De plus, cette mesure permet d'obtenir une meilleure élution des composants.

Afin d'avoir des conditions d'élution plus reproductibles, le mélange doit être changé à chaque essai. Un mélange de *n*-hexane et d'éther diéthylique (concentration volumique $\sigma = 50$ ml/100 ml) peut également être utilisé comme solvant de développement.

iTeh STANDARD PREVIEW

8.3.3 Préparer une solution à 5 % d'insaponifiable (8.2.4) dans l'acétate d'éthyle (5.10). Au moyen de la microseringue de 100 μ l, déposer 0,3 ml de cette solution sous forme de bande, à une distance de 2 cm du bord inférieur d'une plaque de CCM (5.6). Laisser un espace d'au moins 3 cm de chaque bord de la plaque. Appliquer une goutte de 5 μ l de solution de référence pour CCM (5.11) à 1,5 cm du bord.

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/57ae63a7-92c4-458b-9697-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/57ae63a7-92c4-458b-9697-70681859e084/iso-12228-2-2014)

8.3.4 Mettre la plaque dans la cuve de développement préparée comme indiqué en 8.3.2 et procéder au développement jusqu'à ce que le solvant arrive à environ 1 cm à 2 cm du bord supérieur de la plaque de CCM. Il convient que la température ambiante soit maintenue constante. Ôter la plaque de la cuve et laisser le solvant s'évaporer sous une hotte aspirante.

8.3.5 Vaporiser légèrement et uniformément la plaque avec la solution de 2,7-dichlorofluorescéine (5.12) et laisser sécher. Observer la plaque sous lumière ultra-violette (6.5) et identifier les bandes des stérols et des dialcools triterpéniques à l'aide des taches obtenues pour la solution de référence (5.11). Marquer les zones à hauteur des taches obtenues pour les étalons avec un crayon noir (voir Figure A.1).

8.3.6 Gratter entièrement la zone délimitée avec une spatule et recueillir quantitativement la silice dans l'entonnoir pour filtration (6.7). Ajouter 10 ml d'acétate d'éthyle chaud (5.10), mélanger soigneusement avec la spatule métallique et filtrer sous vide en recueillant le filtrat dans une fiole conique (6.8) reliée à l'entonnoir pour filtration. Laver le résidu dans la fiole par trois fois avec 10 ml d'éther diéthylique (5.4) et filtrer dans la même fiole adaptée à l'entonnoir. Évaporer les extraits d'éther combinés jusqu'à un volume de 4 ml à 5 ml, transvaser la solution résiduelle dans le tube à essai de 10 ml (6.9) pesé au préalable et éliminer le solvant en appliquant un léger courant d'azote. Ajouter quelques gouttes d'acétone (5.7) et l'évaporer jusqu'au séchage. Le résidu contenu dans le tube à essai est constitué des fractions des stérols et des dialcools triterpéniques.

8.4 Préparation des triméthylsilyléthers

8.4.1 Ajouter le réactif silylant (5.20) dans le tube à essai. Utiliser 50 μ l de réactif pour 1 mg de stérols et de dialcools triterpéniques.

NOTE Des solutions prêtes à l'emploi sont disponibles dans le commerce. La pyridine peut être remplacée par l'acétonitrile.

8.4.2 Boucher le tube, agiter soigneusement jusqu'à solubilisation complète. Laisser reposer pendant au moins 15 min à température ambiante puis centrifuger pendant quelques minutes. La solution limpide est prête pour l'analyse par chromatographie en phase gazeuse.

Lors de l'utilisation d'hexaméthylidisilazane et de triméthylchlorosilane, une légère opalescence peut apparaître. La formation d'une floculation blanche ou l'apparition d'une coloration rose sont les indices de la présence d'humidité ou de l'altération du réactif. Dans ce cas, l'essai doit être répété.

8.5 Analyse par chromatographie en phase gazeuse

8.5.1 Conditions de chromatographie en phase gazeuse

Optimiser le programme de température et le débit du gaz vecteur, de façon à obtenir des chromatogrammes similaires à ceux des [Figures A.2](#) et [A.3](#). Faire un essai de séparation à l'aide des fractions de stérols silylés provenant d'huiles connues (voir [Tableau 1](#)).

Les paramètres suivants ont fait l'objet d'essais et se sont révélés satisfaisants:

- température de la colonne: (260 ± 5) °C;
- température de l'injecteur: (280 à 300) °C;
- température du détecteur: (280 à 300) °C;
- vitesse linéaire du gaz vecteur: hélium: 20 cm/s à 35 cm/s, hydrogène: 30 cm/s à 50 cm/s;
- ratio de division: 1:50 à 1:100;
- volume d'injection: 0,5 µl à 1,0 µl de solution de triméthylsilyléthers;
- le temps de rétention du β -sitostérol doit être de (20 ± 5) min;
- le pic du campestérol dans l'huile d'olive avec une teneur moyenne de 3 % doit représenter (20 ± 5) % de la pleine échelle;
- le pic du campestérol dans l'huile de soja avec une teneur moyenne de 20 % doit représenter (80 ± 10) % de la pleine échelle.
- tous les stérols présents doivent être séparés et leurs pics complètement résolus.

NOTE Effectuer un essai à blanc afin de dépister une contamination éventuelle (par exemple, du cholestérol provenant des solvants, parois de verre, filtre, empreintes de doigts, etc).

Injecter 0,5 µl à 1 µl d'échantillon dans le chromatographe en phase gazeuse. Un injecteur automatique peut également être employé.

Enregistrer les chromatogrammes jusqu'à élution complète des dialcools triterpéniques. Une ligne de base horizontale, sans dérive positive ou négative, doit être obtenue.

8.5.2 Identification des pics

Identifier les pics individuels à l'aide des temps de rétention relatif (TRR) et par comparaison avec un mélange de stérols et de dialcools triterpéniques préparé et analysé dans les mêmes conditions.

Les stérols et les dialcools triterpéniques sont élus conformément au [Tableau 1](#), qui donne également les TRR. Les TRR correspondants au β -sitostérol avec les phases stationnaires SE-52 et SE-54 sont donnés dans le [Tableau 1](#).