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

iTeh STANDARD PREVIEW

*Olive oils and olive-pomace oils — Determination of aliphatic and
triterpenic alcohols content by capillary gas chromatography*

ISO 12871:2019

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7c788b24-2e2b-4048-87b2-
ebf039690bc2/iso-12871-2019](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7c788b24-2e2b-4048-87b2-ebf039690bc2/iso-12871-2019)



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 12871:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7c788b24-2e2b-4048-87b2-ebf039690bc2/iso-12871-2019>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2019

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, 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, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée 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 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Genève
Tél.: +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	1
5 Réactifs	1
6 Appareillage	2
7 Échantillonnage	4
8 Préparation de l'échantillon pour essai	4
9 Mode opératoire	4
9.1 Préparation de l'insaponifiable.....	4
9.2 Séparation des fractions alcooliques.....	5
9.3 Préparation des triméthylsilyléthers.....	6
9.4 Analyse par chromatographie en phase gazeuse.....	6
9.4.1 Opérations préliminaires et conditionnement de la colonne.....	6
9.4.2 Conditions opératoires.....	6
9.4.3 Mode opératoire d'analyse.....	7
9.4.4 Identification des pics.....	7
9.4.5 Évaluation quantitative.....	7
10 Fidélité	8
10.1 Essai interlaboratoires.....	8
10.2 Répétabilité.....	8
10.3 Reproductibilité.....	8
11 Rapport d'essai	8
Annexe A (informative) Exemple de séparation chromatographique sur couche mince et exemples de chromatogramme	10
Annexe B (informative) Résultats d'un essai interlaboratoires	13
Bibliographie	14

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 www.iso.org/avant-propos.

Le présent document a été préparé par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, et le sous-comité SC 11, *Corps gras d'origines animale et végétale*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 12871:2010), qui a fait l'objet d'une révision technique. Le changement suivant a été apporté:

— la détermination des alcools triterpéniques a été introduite.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

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

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie une méthode pour la détermination de la teneur, sous forme de fraction massique exprimée en milligrammes par kilogramme, en alcools aliphatiques et triterpéniques des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive.

NOTE Ce document est basé sur la documentation COI/T.20/Doc. 26 Rev.2:2017^[4].

2 Références normatives

Les documents suivants sont cités dans le texte de sorte qu'ils 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 661, *Corps gras d'origines animale et végétale* — Préparation de l'échantillon pour essai

3 Termes et définitions

ISO 12871:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7c788b24-2e2b-4048-87b2->

[eb019690bc2/iso-12871-2019](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7c788b24-2e2b-4048-87b2-eb019690bc2/iso-12871-2019)

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:

- ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>

3.1

teneur en alcools aliphatiques

Somme des alcools aliphatiques avec un nombre de carbones C22, C24, C26 et C28, sous forme de fraction massique, déterminée selon la méthode spécifiée dans le présent document

4 Principe

L'huile, additionnée de 1-eicosanol comme étalon interne, est saponifiée avec de l'hydroxyde de potassium en solution dans l'éthanol, puis l'insaponifiable est extrait avec de l'éther diéthylique. La fraction des alcools est séparée de l'extrait insaponifiable par chromatographie sur plaque de gel de silice basique. Les alcools récupérés dans le gel de silice sont transformés en triméthylsilyléthers (TMSE) et analysés par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire.

5 Réactifs

Des mesures de sécurité technique, organisationnelle et personnelle doivent être prises.

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

ISO 12871:2019(F)

5.1 Hydroxyde de potassium, solution éthanolique, $c(\text{KOH}) \approx 2 \text{ mol/l}$.

Dissoudre, tout en refroidissant, 130 g d'hydroxyde de potassium [$w(\text{KOH}) = 85 \%$ de fraction massique minimale] dans 200 ml d'eau et compléter à 1 l avec de l'éthanol. Conserver la solution dans une bouteille de verre opaque bien bouchée.

5.2 Hydroxyde de potassium, solution éthanolique, $c(\text{KOH}) \approx 0,2 \text{ mol/l}$.

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

5.3 Éther diéthylique.

5.4 Sulfate de sodium anhydre.

5.5 Plaques de verre, recouvertes de gel de silice, sans indicateur de fluorescence, de 0,25 mm d'épaisseur.

Des produits prêts à l'emploi appropriés sont disponibles dans le commerce.

5.6 Acétone, qualité pour chromatographie.

5.7 Hexane, qualité pour chromatographie.

5.8 Éther diéthylique, qualité pour chromatographie.

5.9 Chloroforme, qualité pour chromatographie.

5.10 Solutions de référence pour chromatographie sur couche mince: Solution d'alcools aliphatiques de C20 à C28, à 0,5 g/100 ml dans du chloroforme, ou une fraction d'alcools obtenue comme indiqué en 9.2 à partir de l'insaponifiable d'une huile de grignons d'olive.

5.11 2',7'-dichlorofluorescéine, solution éthanolique à 0,2 g/100 ml. Rendre légèrement basique par addition de quelques gouttes de solution alcoolique d'hydroxyde de potassium (5.1).

5.12 Pyridine anhydre, qualité pour chromatographie.

5.13 Hexaméthylidisilazane (HMDS).

5.14 Triméthylchlorosilane (TMCS).

5.15 Solutions étalon de triméthylsilyléthers (TMSE) des alcools aliphatiques de C20 à C28. À préparer au moment de l'emploi à partir de mélanges d'alcools purs.

5.16 Solution étalon interne: solution de 1-eicosanol dans le chloroforme, concentration massique de 0,1 g/100 ml.

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

5.18 Gaz auxiliaire: azote, qualité pour chromatographie en phase gazeuse.

6 Appareillage

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

- 6.1 Ballon**, d'une capacité de 250 ml, muni d'un réfrigérant à reflux avec embouts rodés.
- 6.2 Ampoule à décanter**, d'une capacité de 500 ml.
- 6.3 Ballons**, d'une capacité de 250 ml.
- 6.4 Enceinte pour chromatographie sur couche mince**, adaptée pour des plaques de verre de 20 cm x 20 cm.
- 6.5 Lampe à lumière ultraviolette**, de longueur d'onde de 366 nm ou 254 nm.
- 6.6 Microseringues**, de capacité 100 µl et 500 µl.
- 6.7 Creuset cylindrique filtrant** à septum poreux G3 (porosité 15 µm à 40 µm), de dimensions d'environ 2 cm de diamètre et 5 cm de hauteur, avec embout approprié pour filtration sous vide et embout rodé mâle 12/21.
- 6.8 Fiole conique à vide**, d'une capacité de 50 ml, avec embout rodé femelle 12/21 adaptable au creuset filtrant (6.7).
- 6.9 Tube à essai**, d'une capacité de 10 ml, à fond conique, avec bouchon hermétique.
- 6.10 Chromatographe en phase gazeuse**, approprié au fonctionnement avec colonnes capillaires, équipé des éléments spécifiés dans les sections de 6.11 à 6.14.
- 6.11 Four pour colonne**, permettant de maintenir une température à $\pm 1^\circ \text{C}$.
- 6.12 Injecteur avec diviseur de flux**, réglable en température, avec élément vaporisateur en verre persilylé, ou de type «on-column».
- 6.13 Détecteur à ionisation de flamme.**
- 6.14 Système d'intégration.**
- 6.15 Colonne capillaire en silice fondue**, de 20 m à 30 m de longueur, de 0,25 mm à 0,32 mm de diamètre intérieur, avec phase liquide SE-52 ou SE-54¹⁾ ou équivalent, avec une épaisseur de film comprise entre 0,10 µm et 0,30 µm.
- 6.16 Microseringue pour chromatographie en phase gazeuse**, d'une capacité de 10 µl, avec aiguille en acier trempé.
- 6.17 Balance analytique**, ayant une sensibilité de 1 mg (avec lisibilité de 0,1 mg).
- 6.18 Dessiccateur**, avec chlorure de calcium comme déshydratant.
- 6.19 Étuve.**

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 du présent document et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif des produits ainsi désignés.

7 Échantillonnage

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans le présent document. Une méthode d'échantillonnage recommandée est indiquée dans l'ISO 5555.

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif, non endommagé ni 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 l'insaponifiable

9.1.1 Introduire dans un ballon de 250 ml (6.1), au moyen d'une microseringue de 500 µl (6.6), un volume de solution étalon interne (5.16) contenant une quantité de 1-eicosanol égale à environ 10 % de la teneur en alcools aliphatiques de la prise d'essai. Par exemple, pour 5 g d'échantillon, ajouter 250 µl de solution d'étalon interne pour l'huile d'olive et 1 500 µl pour l'huile de grignons d'olive.

Évaporer à sec dans un courant d'azote, puis peser (6.17) exactement 5,000 g de l'échantillon sec et filtré dans le même ballon.

9.1.2 Ajouter 50 ml de solution éthanolique d'hydroxyde de potassium à 2 mol/l (5.1), installer le réfrigérant à reflux et faire bouillir doucement au bain-marie, en agitant continuellement pendant le chauffage jusqu'à ce que la saponification se soit produite, c'est-à-dire jusqu'à ce que la solution devienne limpide. Continuer à chauffer pendant 20 min, puis ajouter 50 ml d'eau par le réfrigérant. Débrancher ensuite le réfrigérant et refroidir le ballon à environ 30 °C.

9.1.3 Transvaser le contenu du ballon quantitativement dans une ampoule à décanter de 500 ml (6.2), en ajoutant progressivement de l'eau en plusieurs quantités d'environ 50 ml. Ajouter environ 80 ml d'éther diéthylique (5.8), agiter énergiquement durant environ 30 s et laisser reposer.

NOTE Les émulsions sont cassées en vaporisant de petites quantités d'éther diéthylique ou de méthanol dans l'ampoule à décanter.

Séparer la phase aqueuse inférieure en la recueillant dans une deuxième ampoule à décanter. Deux autres extractions de la phase aqueuse sont effectuées de la même manière, en utilisant à chaque fois 60 ml à 70 ml d'éther diéthylique.

9.1.4 Les extraits étherés sont réunis dans une seule ampoule à décanter et lavés à l'eau (50 ml à chaque fois) jusqu'à réaction neutre de l'eau de lavage à la phénolphtaléine.

Éliminer l'eau de lavage, sécher avec du sulfate de sodium anhydre (5.4) et filtrer dans un ballon de 250 ml (6.3) pesé au préalable, et laver l'ampoule et le filtre avec de petites quantités d'éther diéthylique qui sont ajoutées à l'ensemble.

9.1.5 Distiller l'éther jusqu'à ce qu'il n'en reste que quelques millilitres, puis sécher sous un léger vide ou sous un flux d'azote, en terminant le séchage dans une étuve (6.19) maintenue à 103 °C pendant 15 min environ. Peser (6.17) après refroidissement dans un dessiccateur (6.18).

9.2 Séparation des fractions alcooliques

9.2.1 Préparer des plaques CCM basiques en immergeant complètement les plaques de gel de silice (5.5) dans une solution éthanolique à 0,2 mol/l d'hydroxyde de potassium (5.2) durant 10 s, laisser sécher sous hotte aspirante pendant 2 h et placer dans une étuve (6.19) à 100 °C pendant 1 h.

NOTE Lorsque des plaques de gel de silice basiques sont utilisées pour la séparation de la fraction alcoolique, il n'est pas nécessaire de traiter l'insaponifiable avec l'alumine. De cette manière, tous les composés acides (acides gras et autres) sont retenus sur la ligne de dépôt, ce qui produit des bandes pour les alcools aliphatiques et triterpéniques nettement séparées de la bande des stérols.

Retirer les plaques de l'étuve et conserver dans un dessiccateur (6.18) jusqu'au moment de l'emploi (les plaques ainsi traitées doivent être employées dans les 15 jours).

9.2.2 Introduire un mélange hexane-éther diéthylique (fraction volumique d'hexane de 65 ml/100 ml et d'éther diéthylique de 35 ml/100 ml) dans la cuve de développement jusqu'à une hauteur d'environ 1 cm.

Fermer la cuve à l'aide d'un couvercle approprié et laisser ainsi pendant une demi-heure de façon que l'équilibre entre liquide et vapeur s'établisse. Il est possible de fixer sur les surfaces intérieures de la cuve des bandes de papier-filtre plongées dans l'éluant afin de réduire le temps de migration d'environ un tiers et d'obtenir une élution plus uniforme des composants.

Pour obtenir des conditions d'élution reproductibles, utiliser une solution fraîche pour chaque analyse.

9.2.3 Préparer une solution à environ 50 mg/ml de l'insaponifiable (voir 9.1.5) dans le chloroforme et, avec une microseringue de 100 µl (6.6), déposer 0,3 ml de la solution à 2 cm environ du bord inférieur de la plaque de CCM en une bande continue, la plus fine et uniforme possible. Dans l'alignement de la ligne de dépôt, déposer 2 µl à 3 µl de la solution de référence des alcools aliphatiques (5.10) dans le but d'identifier la bande des alcools aliphatiques après développement.

9.2.4 Placer la plaque à l'intérieur de la cuve de développement (voir 9.2.2). La température ambiante doit être maintenue entre 15 °C et 20 °C. Fermer aussitôt la cuve avec le couvercle et laisser éluer jusqu'à ce que le front de solvant arrive à environ 1 cm du bord supérieur de la plaque.

Enlever ensuite la plaque de la cuve de développement et évaporer le solvant dans un courant d'air chaud ou bien laisser la plaque sécher sous la hotte aspirante pendant un petit moment.

9.2.5 Vaporiser la plaque légèrement et uniformément avec la solution de 2', 7' dichlorofluorescéine (5.11) lorsque la plaque est placée sous lumière ultraviolette (6.5) pour observation. Identifier la bande des alcools aliphatiques par alignement avec la tache obtenue avec la solution de référence: délimiter avec un crayon noir l'ensemble de la bande des alcools aliphatiques et de la bande immédiatement supérieure qui correspond aux alcools triterpéniques.

NOTE La bande des alcools aliphatiques et la bande des alcools triterpéniques sont regroupées en raison de la migration éventuelle de certains alcools aliphatiques dans la bande des alcools triterpéniques. La Figure A.1 fournit un exemple de séparation chromatographique sur couche mince (CCM).

9.2.6 Racler avec une spatule métallique le gel de silice compris dans la zone délimitée. Placer le matériau finement pulvérisé dans le creuset filtrant (6.7). Ajouter 10 ml de chloroforme à température d'ébullition, mélanger soigneusement avec la spatule métallique et filtrer sous vide, en recueillant le filtrat dans une fiole conique (6.8) reliée au creuset filtrant.

Laver le gel de silice dans la fiole à trois reprises à l'éther diéthylique (5.3), en utilisant à chaque fois environ 10 ml, et en recueillant le filtrat dans la fiole reliée au creuset filtrant. Évaporer le filtrat jusqu'à l'amener à un volume d'environ 4 ml à 5 ml, transvaser la solution résiduelle dans un tube à essai de 10 ml (6.9) pesé au préalable, évaporer à sec en chauffant sous un léger flux d'azote, reprendre avec quelques gouttes d'acétone, évaporer à nouveau à sec, placer dans une étuve (6.19) à 103 °C pendant 10 min environ, puis laisser refroidir dans un dessiccateur (6.18) et peser (6.17).

Le résidu contenu dans le tube à essai est constitué de la fraction alcoolique.

9.3 Préparation des triméthylsilyléthers

9.3.1 Le réactif de silylation (13 ml au total) est constitué d'un mélange de pyridine (5.12), d'hexaméthylidisilazane (HMDS) (5.13) et de triméthylchlorosilane (TMCS) (5.14), avec des fractions volumiques de 9 ml/13 ml; 3 ml/13 ml; 1 ml/13 ml respectivement. Le réactif de silylation est ajouté dans le tube à essai contenant la fraction alcoolique (voir 9.2.6) dans une proportion de 50 µl par milligramme d'alcools aliphatiques, en évitant toute absorption d'humidité.

NOTE Des solutions prêtes à l'emploi sont disponibles dans le commerce. D'autres réactifs de silylation, tels que bis-triméthylsilyltrifluoracétamide + 1 % de triméthylchlorosilane à diluer par un même volume de pyridine anhydre, sont également disponibles.

La formation éventuelle d'une légère opalescence est normale et ne cause aucune interférence. La formation d'une floculation blanche ou l'apparition d'une coloration rose sont l'indice de la présence d'humidité ou d'altération du réactif. Dans ce cas, l'essai doit être répété.

9.3.2 Boucher le tube à essai, agiter soigneusement (sans retourner) jusqu'à dissolution complète des alcools aliphatiques. Laisser reposer pendant au moins 15 min à température ambiante, puis centrifuger pendant quelques minutes. La solution TMSE limpide est prête pour l'analyse par chromatographie en phase gazeuse.

9.4 Analyse par chromatographie en phase gazeuse

9.4.1 Opérations préliminaires et conditionnement de la colonne

9.4.1.1 Installer la colonne (6.15) dans le chromatographe en phase gazeuse (6.10), en reliant l'extrémité d'entrée à l'injecteur connecté au système diviseur de flux (6.12) et l'extrémité de sortie au détecteur (6.13). Effectuer un contrôle général de l'appareil de chromatographie en phase gazeuse (étanchéité du circuit des gaz, efficacité du détecteur, efficacité du système diviseur de flux et du système d'enregistrement, etc.).

9.4.1.2 Conditionner la colonne lors de la première utilisation. Faire circuler un léger flux de gaz vecteur au travers de la colonne capillaire, puis mettre en marche l'appareil de chromatographie en phase gazeuse et chauffer progressivement jusqu'à atteindre une température supérieure d'au moins 20 °C à la température de fonctionnement. Maintenir cette température pendant au moins 2 h. Amener ensuite le système aux conditions opératoires [régulation du débit de gaz, allumage de la flamme, raccordement de l'enregistreur électronique, régulation de la température du four pour colonne capillaire (6.11), du détecteur et de l'injecteur, etc.] et régler le signal à une sensibilité au moins deux fois supérieure au niveau de signal le plus haut prévu pour l'analyse.

La ligne de base doit être linéaire, exempte de pics de toute nature et ne doit pas présenter de dérive. Une dérive rectiligne négative indique une étanchéité imparfaite des raccordements de la colonne. Une dérive positive indique un conditionnement insuffisant de la colonne.

La température de conditionnement doit être inférieure d'au moins 20 °C à la température maximale prévue pour la phase liquide utilisée.

9.4.2 Conditions opératoires

9.4.2.1 Les conditions opératoires suivantes sont recommandées pour un système chromatographique avec injecteur avec diviseur de flux:

- a) température de la colonne: la température initiale est réglée à 180 °C pendant 8 min, puis programmée par incréments de 5 °C/min jusqu'à 260 °C, et la température finale est maintenue à 260 °C pendant 15 min;

- b) température de l'injecteur: 280 °C;
- c) température du détecteur: 290 °C;
- d) vitesse linéaire du gaz vecteur: hélium 20 cm/s à 35 cm/s; hydrogène 30 cm/s à 50 cm/s;
- e) rapport de fractionnement: 1:50 à 1:100;
- f) quantité injectée: 0,5 µl à 1 µl de solution de TMSE (voir [9.3.2](#)).

Les conditions ci-dessus peuvent être modifiées en fonction des caractéristiques de la colonne et du chromatographe en phase gazeuse de façon à obtenir des chromatogrammes satisfaisant aux conditions suivantes:

- le temps de rétention de l'alcool en C26 doit être de (18 ± 5) min;
- le pic de l'alcool en C22 doit correspondre à (80 ± 20) % de la pleine échelle pour l'huile d'olive et à (40 ± 20) % de la pleine échelle pour l'huile de grignons d'olive.

9.4.2.2 Les exigences ci-dessus sont vérifiées par des injections répétées du mélange de référence de TMSE des alcools et les conditions opératoires sont ajustées jusqu'à obtenir les meilleurs résultats possibles.

9.4.2.3 Les paramètres d'intégration des pics doivent être fixés de façon à obtenir des valeurs correctes pour les aires de pics qui sont pris en considération.

9.4.3 Mode opératoire d'analyse

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

9.4.3.1 À l'aide de la microsiringue de 10 µl ([6.16](#)), prélever 1 µl d'hexane, aspirer 0,5 µl d'air et ensuite 0,5 µl à 1 µl de la solution d'échantillon. Tirer le piston de la seringue de façon que l'aiguille soit vide. Introduire l'aiguille au travers de la membrane du système d'injection et, après 1 s à 2 s, injecter rapidement. Extraire ensuite l'aiguille lentement, après 5 s environ.

9.4.3.2 Procéder à l'enregistrement jusqu'à élution complète des TMSE des alcools aliphatiques présents. La ligne de base doit toujours correspondre aux exigences énoncées en [9.4.1.2](#).

9.4.4 Identification des pics

Les pics individuels sont identifiés sur la base des temps de rétention et par comparaison avec le mélange de référence de TMSE, analysés dans les mêmes conditions.

Les [Figures A.2](#) et [A.3](#) montrent des exemples de chromatogramme de la fraction alcoolique d'une huile d'olive raffinée.

9.4.5 Évaluation quantitative

9.4.5.1 Les aires des pics de 1-eicosanol et des alcools aliphatiques C22, C24, C26 et C28 sont calculées par intégration électronique.