

~~ISO/TC 34/SC 11~~

~~Date: 2022~~

ISO 12872:2022(F)

Date: 2022-08

ISO/TC 34/SC 11

Secrétariat: BSI

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

(standards.iteh.ai)

ISO 12872:2022

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bd56a864-5aaa-4cc9-ac34-87c4bc59054a/iso-12872-2022>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2022, ~~Publié en Suisse~~

~~Droits de reproduction~~Tous droits réservés. Sauf ~~indication contraire~~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, ~~l'affichage ou la diffusion~~ sur l'internet ou ~~sur un Intranet~~Intranet, sans autorisation écrite préalable. ~~Les demandes d'autorisation peuvent~~Une autorisation peut être ~~adressées~~demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO ~~copyright office~~Copyright Office

~~Ch. de Blandonnet 8 • CP~~Case postale 401 • CH-1214 Vernier, Geneva, SwitzerlandGenève

~~Tel. Tél. :~~ + 41 22 749 01 11

~~E-mail :~~ copyright@iso.org

~~Web :~~ www.iso.org~~Fax + 41 22 749 09 47~~

~~copyright@iso.org~~

~~www.iso.org~~

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Publié en Suisse.

ISO 12872:2022

https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bd56a864-5aaa-4e09-ae34-87c4bc59054a/iso-12872-2022

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	2
6 Appareillage	3
7 Échantillonnage	4
8 Préparation de l'échantillon pour essai	4
9 Mode opératoire	5
9.1 Étapes préparatoires	5
9.2 Chromatographie sur colonne	5
9.2.1 Mode opératoire classique	5
9.2.2 Mode opératoire avec utilisation de cartouches de silice SPE prêtes à l'emploi	5
9.3 Hydrolyse par la lipase pancréatique	6
9.4 Préparation des dérivés silylés et de la chromatographie en phase gazeuse	6
9.5 Chromatographie en phase gazeuse	6
9.5.1 Conditions opératoires	6
9.5.2 Identification des pics	6
9.5.3 Évaluation quantitative	7
10 Expression des résultats	7
11 Fidélité	7
11.1 Essai interlaboratoires	7
11.2 Répétabilité	7
11.3 Reproductibilité	7
12 Rapport d'essai	7
Annexe A (informative) Chromatogrammes	9
Annexe B (informative) Résultats d'un essai interlaboratoires	12
Annexe C (informative) Préparation et activité de la lipase	14
Bibliographie	16

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~~~~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 ~~brevets~~~~propriété~~ et ~~averti~~ de ~~ne pas avoir signalé~~ 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 (~~TBT~~~~OTC~~), voir 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*, en collaboration avec le comité technique CEN/TC 307, *Graines oléagineuses, corps gras d'origines végétale et animale et leurs sous-produits — Méthodes d'échantillonnage et d'analyse*, du Comité européen de normalisation (CEN), conformément à ~~l'accord~~~~l'Accord~~ de coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne).

Cette ~~seconde~~~~deuxième~~ édition annule et remplace la première édition (ISO 12872:2010), qui a fait l'objet d'une révision technique.

Les principales modifications sont les suivantes:

- ajout de l'utilisation de l'isooctane comme alternative à l'hexane;
- ajout des résultats de fidélité de la méthode utilisant l'isooctane par rapport à celle utilisant l'hexane.

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.

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.

En 2017, le COI a publié une révision de la COI/T.20/Doc. 23/Rév. 1^[7] et ce document révisé constitue l'adoption de la méthode COI révisée.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 12872:2022

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bd56a864-5aaa-4cc9-ac34-87c4bc59054a/iso-12872-2022>

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

1 Domaine d'application

Le présent document 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 Le présent document est fondé sur la COI/T.20/Doc. 23/Rév. 1:2017^[7].

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*

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bd56a864-5aaa-4cc9-ac34-87c4bc59054a/iso-12872-2022>

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:

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

— IEC Electropedia: disponible à l'adresse <https://www.electropedia.org/>

3.1

teneur en 2-glycéryl monopalmitate

fraction massique de 2-glycéryl monopalmitate dans la fraction monoglycéridique

Note 1 à l'article: Cette valeur est déterminée selon la méthode spécifiée dans le présent document.

Note 2 à l'article: teneur en 2-glycéryl monopalmitate est exprimée en pourcentage.

4 Principe

Après une préparation adaptée, 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 — Des mesures de sécurité technique, organisationnelle et applicables aux personnes doivent être observées.

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, avec 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 une fiole conique de 500 ml, peser 152 g de gel de silice, ajouter 8 g d'eau, boucher et agiter délicatement pour homogénéiser;
 - laisser reposer au moins 12 h avant l'emploi.

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

L'hexane peut être remplacé par de l'isooctane (2,2,4-triméthylpentane de qualité pour chromatographie), sous réserve que des valeurs de fidélité comparables soient atteintes (voir les valeurs de fidélité de la méthode en cas d'emploi d'isooctane à l'Annexe B).

5.3 Isopropanol.

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

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

NOTE La lipase pancréatique avec une activité comprise entre 2 unités et 10 unités par milligramme d'enzyme est disponible sur le marché.

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, de 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, de qualité pour chromatographie.

5.10 Solvant d'éluion 1: 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, de qualité pour chromatographie en phase gazeuse.

5.14 Gaz auxiliaires: hydrogène, exempt d'humidité et de substances organiques, et air synthétique, de 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.

NOTE Des solutions prêtes à l'emploi sont disponibles sur le marché. D'autres réactifs de silylation peuvent être utilisés, tels que le bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide + 1 % de triméthylchlorosilane, dilués dans un volume identique de pyridine anhydre.

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

5.17 Solvant d'éluion 2: mélange de *n*-hexane-éther diéthylique, fraction volumique de *n*-hexane 90 ml/100 ml et fraction volumique d'éther diéthylique 10 ml/100 ml.

6 Appareillage

Utiliser le matériel courant de laboratoire et, en particulier, ce qui suit.

6.1 Fioles coniques, d'une capacité de 25 ml.

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

6.3 Colonne de chromatographie, en verre, ayant un diamètre intérieur de 21 mm à 23 mm et une longueur de 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 à fond rond, de capacités 100 ml et 250 ml.

6.6 Évaporateur rotatif.

6.7 Tubes à centrifuger, 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 capacité 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 en 6.14.1 à 6.14.5.

6.14.1 Injecteur «on column» à froid.

6.14.2 Détecteur à ionisation de flamme.

6.14.3 Four pour colonne, capable de maintenir la température à ± 1 °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 °C.

6.15 Microseringue, de 10 μl , munie d'une aiguille en acier trempé, 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 le présent document. 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 vigoureusement 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 phénolphtaléine (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 à fond rond 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 (voir Article 8) le cas échéant, dans une fiole conique de 25 ml (6.1) et dissoudre dans 10 ml de solvant d'éluion 1 (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. En cas d'utilisation de cartouches de silice SPE, passer directement au 9.2.2.

9.1.2 Verser dans la colonne de chromatographie (6.3) environ 30 ml de solvant d'éluion 1 (5.10). Introduire un morceau de coton dans la partie inférieure de la colonne à l'aide d'une baguette en 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'éluion 1 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'éluion 1, 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

Verser la solution préparée en 9.1.1 dans la colonne de chromatographie (voir 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'éluion 1 (5.10). 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 à fond rond 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 (voir 9.1.1) dans les cartouches préalablement conditionnées avec 3 ml de *n*-hexane (5.2). Après percolation de la solution, éluer avec 4 ml de solvant d'éluion 2 (5.17). Récupérer l'éluat dans un tube de 10 ml et évaporer à sec sous un courant d'azote. 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.