RÈGLEMENT D'EXÉCUTION (UE) Nº 299/2013 DE LA COMMISSION

du 26 mars 2013

modifiant le règlement (CEE) nº 2568/91 relatif aux caractéristiques des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive ainsi qu'aux méthodes d'analyse y afférentes

LA COMMISSION EUROPÉENNE,

vu le traité sur le fonctionnement de l'Union européenne,

vu le règlement (CE) nº 1234/2007 du Conseil du 22 octobre 2007 portant organisation commune des marchés dans le secteur agricole et dispositions spécifiques en ce qui concerne certains produits de ce secteur (règlement «OCM unique») [1], et notamment son article 113, paragraphe 1, point a), et son article 121, premier alinéa, point a), en liaison avec son article 4,

considérant ce qui suit:

(1) Le règlement (CEE) nº 2568/91 de la Commission du 11 juillet 1991 relatif aux caractéristiques des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive ainsi qu'aux méthodes d'analyse y afférentes [2] définit les caractéristiques chimiques et organoleptiques des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive, et prescrit des méthodes pour évaluer ces caractéristiques. Il convient d'actualiser ces méthodes suivant l'avis des experts chimistes et conformément aux travaux réalisés dans le cadre du Conseil oléicole international (ci-après «COI»).

(2) En application de l'article 113, paragraphe 3, du règlement (CE) nº 1234/2007, les États membres sont tenus de vérifier la conformité des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive aux normes de commercialisation établies par le règlement (CEE) nº 2568/91 et, le cas échéant, d'appliquer les sanctions qui s'imposent. L'article 2 et l'article 2 *bis* du règlement (CEE) nº 2568/91 énoncent des règles détaillées applicables à ces contrôles de conformité. Il convient que ces règles garantissent que les huiles d'olive pour lesquelles des normes de qualité ont été établies sont effectivement conformes à ces normes. Il convient que ces règles soient précisées davantage et prévoient notamment une analyse des risques. Aux fins de ces contrôles de conformité, il y a lieu de définir l'expression «huile d'olive commercialisée».

(3) L'expérience a montré qu'en raison de certains risques de fraude, la protection des consommateurs ne pouvait être totalement garantie par le règlement (CEE) nº 2568/91. Il convient donc que les détenteurs d'huile d'olive consignent dans un registre les entrées et les sorties de chaque catégorie d'huile. Afin d'éviter une surcharge administrative sans compromettre les objectifs du registre des huiles d'olive, il convient que la collecte des informations soit limitée jusqu'au stade de l'embouteillage des huiles d'olive.

(4) Afin de garantir le suivi et d'évaluer les mesures prévues par le règlement (CEE) nº 2568/91, il convient que les États membres communiquent à la Commission, outre les mesures nationales de transposition, les résultats des contrôles de conformité.

(5) Afin de poursuivre l'harmonisation avec les normes internationales établies par le COI, il convient d'actualiser certaines des méthodes d'analyse prescrites par le règlement (CEE) nº 2568/91. Il y a donc lieu de remplacer la méthode d'analyse prévue à l'annexe XVIII dudit règlement par une méthode plus efficace. Il est également opportun de remédier à certaines incohérences et insuffisances des méthodes d'analyse prévues à l'annexe IX dudit règlement.

(6) Les États membres ont besoin d'une période de transition pour appliquer les nouvelles règles prévues par le présent règlement.

(7) La Commission a mis au point un système d'information qui permet de gérer les documents et les procédures par des moyens électroniques dans le cadre de son fonctionnement interne et des relations avec les autorités concernées par la politique agricole commune. Il semble que les obligations de notification prévues par le règlement (CEE) nº 2568/91 puissent être satisfaites au moyen de ce système, conformément au règlement (CE) nº 792/2009 de la Commission du 31 août 2009 fixant les modalités selon lesquelles les États membres communiquent à la Commission les informations et les documents requis dans le cadre de la mise en œuvre de l'organisation commune des marchés, du régime des paiements directs, de la promotion des produits agricoles et des régimes applicables aux régions ultrapériphériques et aux îles mineures de la mer Égée [3].

(8) Il convient dès lors de modifier le règlement (CEE) nº 2568/91 en conséquence.

(9) Le comité de gestion de l'organisation commune des marchés agricoles n'a pas émis d'avis dans le délai imparti par son président,

A ADOPTÉ LE PRÉSENT RÈGLEMENT:

Article premier

Le règlement (CEE) nº 2568/91 est modifié comme suit:

1) L'article 2 *bis* est remplacé par le texte suivant:

«*Article 2* bis

1. Aux fins du présent article, on entend par "huile d'olive commercialisée", la quantité totale d'huile d'olive et d'huile de grignons d'olive d'un État membre qui est consommée dans cet État membre ou exportée à partir de cet État membre.

[1] JO L 299 du 16.11.2007, p. 1.
[2] JO L 248 du 5.9.1991, p. 1.
[3] JO L 228 du 1.9.2009, p. 3.

2. Les États membres veillent à ce que des contrôles de conformité soient réalisés de manière sélective, sur la base d'une analyse de risques et à une fréquence appropriée, afin de garantir que l'huile d'olive commercialisée correspond à la catégorie déclarée.

3. Les critères d'évaluation du risque peuvent porter sur:

a) la catégorie de l'huile, la période de production, le prix des huiles par rapport à celui des autres huiles végétales, les opérations de mélange et de conditionnement, les installations et conditions de stockage, le pays d'origine, le pays de destination, le moyen de transport ou le volume du lot;

b) la position des opérateurs dans la chaîne de commercialisation, le volume et/ou la valeur, ainsi que la gamme de catégories d'huiles qu'ils commercialisent, le type d'activité économique menée telle que le pressage, le stockage, le raffinage, le mélange, le conditionnement ou la vente au détail;

c) les constatations faites lors des contrôles précédents, notamment en ce qui concerne le nombre et le type d'irrégularités constatés, la qualité habituelle des huiles commercialisées et le niveau de performance de l'équipement technique utilisé;

d) la fiabilité des systèmes d'assurance qualité des opérateurs ou de leurs systèmes d'autocontrôle, au regard de la conformité aux normes de commercialisation;

e) le lieu où le contrôle est effectué, en particulier s'il s'agit du premier point d'entrée dans l'Union, du dernier point de sortie de l'Union ou du lieu où les huiles sont produites, conditionnées, chargées ou vendues au consommateur final;

f) toute autre information susceptible d'indiquer un risque de non-conformité.

4. Les États membres arrêtent à l'avance:

a) les critères d'évaluation du risque de non-conformité des lots;

b) sur la base d'une analyse des risques portant sur chaque catégorie de risques, le nombre minimal d'opérateurs ou de lots et/ou les quantités minimales qu'il y a lieu de soumettre à un contrôle de conformité.

Au moins un contrôle annuel de conformité est effectué pour mille tonnes d'huile d'olive commercialisée dans l'État membre.

5. Les États membres vérifient la conformité:

a) en procédant, dans n'importe quel ordre, aux analyses prévues à l'annexe I, ou

b) dans l'ordre prévu par l'arbre décisionnel figurant à l'annexe I *ter*, jusqu'à aboutir à l'une des décisions prévues par ledit arbre.»

2) L'article 3 est remplacé par le texte suivant:

«*Article 3*

Lorsqu'il est constaté qu'une huile ne correspond pas à la description de sa catégorie, les États membres concernés appliquent, sans préjudice d'autres sanctions éventuelles, des sanctions effectives, proportionnées et dissuasives arrêtées en fonction de la gravité de l'irrégularité constatée.

Si les contrôles font apparaître des irrégularités importantes, les États membres renforcent la fréquence des contrôles portant sur le stade de commercialisation, la catégorie de l'huile, son origine ou d'autres critères.»

3) L'article 7 *bis* suivant est inséré:

«*Article 7* bis

Les personnes et groupes de personnes physiques ou morales qui détiennent, à quelque titre que ce soit, pour l'exercice de leur profession ou à des fins commerciales, de l'huile d'olive et de l'huile de grignons d'olive, depuis le stade de l'extraction au pressoir jusqu'à l'embouteillage inclus, sont tenus de tenir des registres d'entrée et de sortie pour chaque catégorie de ces huiles.

Les États membres veillent à ce que l'obligation prévue au premier paragraphe soit respectée.»

4) L'article 8 est remplacé par le texte suivant:

«*Article 8*

1. Les États membres communiquent à la Commission les mesures qui mettent en œuvre le présent règlement. Ils informent la Commission de toute modification ultérieure de ces mesures.

2. Le 31 mai de chaque année au plus tard, les États membres transmettent à la Commission un rapport sur l'application du présent règlement au cours de l'année civile écoulée. Ce rapport contient au moins les résultats des contrôles de conformité réalisés sur les huiles d'olive, présentés suivant les tableaux figurant à l'annexe XXI.

3. Les notifications visées dans le présent règlement sont effectuées conformément au règlement (CE) n° 792/2009 de la Commission (*).

(*) JO L 228 du 1.9.2009, p. 3.»

5) L'annexe IX est remplacée par le texte figurant à l'annexe I du présent règlement.

6) L'annexe XVIII est remplacée par le texte figurant à l'annexe II du présent règlement.

7) Il est ajouté une annexe XXI, dont le texte figure à l'annexe III du présent règlement.

Article 2

Le présent règlement entre en vigueur le septième jour suivant celui de sa publication au *Journal officiel de l'Union européenne*.

Il s'applique à compter du 1er janvier 2014. Toutefois, l'article 8, paragraphe 2, s'applique à compter du 1er janvier 2015.

Le présent règlement est obligatoire dans tous ses éléments et directement applicable dans tout État membre.

Fait à Bruxelles, le 26 mars 2013.

Par la Commission
Le président
José Manuel BARROSO

ANNEXE I

«ANNEXE IX

ANALYSE SPECTROPHOTOMÉTRIQUE DANS L'ULTRAVIOLET

AVANT-PROPOS

L'analyse spectrophotométrique dans l'ultraviolet peut fournir des indications sur la qualité d'une matière grasse, sur son état de conservation et sur les modifications subies du fait des processus technologiques qui lui sont appliqués.

L'absorption aux longueurs d'onde spécifiées dans la méthode est due à la présence de systèmes de diènes et triènes conjugués. Les valeurs de cette absorption sont exprimées comme l'extinction spécifique $E^{1\%}_{1\,cm}$ (l'extinction d'une solution de matière grasse à 1 % dans le solvant spécifié, pour une épaisseur de 1 cm), notée de façon conventionnelle K (également dénommé «coefficient d'extinction»).

1. DOMAINE D'APPLICATION

La méthode décrit la procédure à suivre pour réaliser une analyse spectrophotométrique de l'huile d'olive (telle que décrite dans l'appendice) dans l'ultraviolet.

2. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

La matière grasse en question est dissoute dans le solvant prescrit, puis on détermine l'extinction de la solution aux longueurs d'onde spécifiées, par rapport au solvant pur. Les valeurs de l'extinction spécifique sont calculées à partir des relevés spectrophotométriques. On calcule l'absorbance spécifique à 232 nm et à 268 nm dans de l'iso-octane ou à 232 nm et 270 nm dans du cyclohexane pour une concentration de 1 g pour 100 ml dans une cuve de 10 mm.

3. APPAREILLAGE

3.1. Spectrophotomètre pour mesurer l'extinction dans l'ultraviolet entre 220 et 360 nm, avec possibilité de lecture nanométrique. Avant utilisation, il est recommandé de contrôler l'échelle des longueurs d'onde et l'échelle d'absorbance du spectromètre, en procédant comme suit:

3.1.1. *Échelle des longueurs d'onde:* Ce contrôle peut être réalisé à l'aide d'un matériau de référence consistant en un filtre de verre optique contenant de l'oxyde d'holmium, qui possède des bandes d'absorption distinctes. Ce matériau de référence est destiné à la vérification et à l'étalonnage de l'échelle des longueurs d'onde des spectrophotomètres UV-visible dont la largeur de bande spectrale nominale est inférieure ou égale à 5 nm. Le filtre de verre à l'oxyde d'holmium est mesuré en mode d'absorbance en comparaison avec un blanc à l'air, sur la plage de longueurs d'onde comprise entre 640 et 240 nm. Pour chaque largeur de bande spectrale (0,10 – 0,25 – 0,50 – 1,00 – 1,50 – 2,00 et 3,00), on procède à une correction des valeurs initiales à l'aide d'un porte-cuve vide. Dans la norme ISO 3656, les longueurs d'onde correspondant à la largeur de bande spectrale sont énumérées dans le certificat du matériau de référence.

3.1.2. *Échelle d'absorbance:* Le contrôle peut être effectué au moyen d'un matériau de référence consistant en quatre solutions de dichromate de potassium dans de l'acide perchlorique, scellées dans quatre cuves UV en quartz, qui sont utilisées pour mesurer la linéarité et la précision photométrique de référence dans l'UV. Les cuves contenant le dichromate de potassium (40 mg/ml, 60 mg/ml, 80 mg/ml et 100 mg/ml) sont mesurées en comparaison avec un blanc contenant uniquement de l'acide perchlorique. Dans la norme ISO 3656, les valeurs d'absorbance nettes sont énumérées dans le certificat du matériau de référence.

3.2. Cuves en quartz rectangulaires, avec couvercle, d'une longueur optique de 1 cm. Les cuves remplies d'eau ou d'un autre solvant approprié ne doivent pas présenter entre elles de différence supérieure à 0,01 unité d'extinction.

3.3. Fioles jaugées de 25 ml.

3.4. Balance analytique, permettant une lecture au 0,0001 g près.

4. RÉACTIFS

Sauf indication contraire, il convient d'utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

Solvant: Iso-octane (2,2,4-triméthylpentane) (pour la mesure à 232 nm et à 268 nm) ou cyclohexane (pour la mesure à 232 nm et à 270 nm), présentant une absorbance inférieure à 0,12 à 232 nm et inférieure à 0,05 à 250 nm par rapport à l'eau distillée, mesurée dans une cuve de 10 mm.

5. PROCÉDURE

5.1. L'échantillon en question doit être parfaitement homogène et exempt d'impuretés en suspension. Les huiles liquides à température ambiante sont filtrées sur papier à une température d'environ 30 °C; les graisses solides sont homogénéisées et filtrées à une température n'excédant pas leur point de fusion de plus de 10 °C.

5.2. Introduire environ 0,25 g (au mg près) de l'échantillon ainsi préparé dans une fiole jaugée de 25 ml, compléter avec le solvant prescrit et homogénéiser. La solution obtenue doit être parfaitement limpide. Au cas où la solution présenterait une opalescence ou un trouble, filtrer rapidement sur papier.

5.3. Remplir une cuve en quartz de la solution obtenue et mesurer les valeurs d'extinction à une longueur d'onde appropriée, entre 232 et 276 nm, le solvant employé servant de référence.

Les valeurs d'extinction lues doivent être comprises entre 0,1 et 0,8. Dans le cas contraire, il faut répéter les mesures en utilisant des solutions plus concentrées ou plus diluées, selon le cas.

Remarque: Il n'est pas forcément nécessaire de mesurer l'absorbance sur toute la plage des longueurs d'onde.

6. EXPRESSION DES RÉSULTATS

6.1. Relever les extinctions spécifiques (coefficients d'extinction) aux diverses longueurs d'onde, calculées comme suit:

$$K_\lambda = \left(\frac{E_\lambda}{c \cdot s} \right)$$

où:

K_λ = extinction spécifique à la longueur d'onde λ,

E_λ = extinction mesurée à la longueur d'onde λ,

c = concentration de la solution en g/100 ml,

s = épaisseur de la cuve en quartz, en cm.

Les résultats sont exprimés avec deux décimales.

6.2. **Variation de l'extinction spécifique (ΔK)**

L'analyse spectrophotométrique de l'huile d'olive conformément à la méthode officielle prévue par la législation européenne requiert également la détermination de la variation de la valeur absolue de l'extinction spécifique (ΔK), donnée par l'équation suivante:

$$\Delta K = |K_m - \left(\frac{K_{m-4} + K_{m+4}}{2} \right)|$$

où K_m est la variation spécifique à la longueur d'onde m; la longueur d'onde correspondant à l'absorption maximale est fonction du solvant utilisé, à savoir 270 nm pour le cyclohexane et 268 nm pour l'iso-octane.

Appendice

CARACTÉRISTIQUES DES HUILES D'OLIVE

	Catégorie	Esters méthyliques d'acides gras (EMAG) et esters éthyliques d'acides gras (EEAG)	Acidité (%) (*)	indice de peroxyde mEq O2/kg (*)	Cires mg/kg (**)	2 glycéryl monopalmitate (%)	Stigmastadiène mg/kg (1)	Différence: ECN42 (CLHP) et ECN42 (calcul théorique)	K_{232} (*)	K_{270} (*) 'K 270 ou K 268 (5)'	Delta-K (*) (5)	Évaluation organoleptique Médiane du défaut (Md) (*)	défaut Évaluation organoleptique Médiane du fruité (Mf) (*)
1.	Huile d'olive vierge extra	Σ FAME + FAEE ≤75 mg/kg ou 75 mg/kg <Σ FAME + FAEE ≤150 mg/kg et (FAEE/FAME) ≤1,5	≤ 0,8	≤ 20	≤ 250	≤ 0,9 si % acide palmitique total ≤ 14 % 1,0 si % acide palmitique total > 14%	≤ 0,10	≤ 0,2	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Md = 0	Mf > 0
2.	Huile d'olive vierge	—	≤ 2,0	≤ 20	≤ 250	≤ 0,9 si % acide palmitique total ≤ 14% ≤ 1,0 si % acide palmitique total > 14%	≤ 0,10	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Md ≤ 3,5	Mf > 0
3.	Huile d'olive lampante	—	> 2,0	—	≤ 300 (3)	≤ 0,9 si % acide palmitique total ≤ 14 % ≤ 1,1 si % acide palmitique total > 14%	≤ 0,50	≤ 0,3	—	—	—	Md > 3,5 (2)	—
4.	Huile d'olive raffinée	—	≤ 0,3	≤ 5	≤ 350	≤ 0,9 si % acide palmitique total ≤ 14 % ≤ 1,1 si % acide palmitique total % > 14%	—	≤ 0,3	—	≤ 1,10	≤ 0,16	—	—
5.	Huile d'olive composée d'huile d'olive raffinée et d'huile d'olive vierge	—	≤ 1,0	≤ 15	≤ 350	≤ 0,9 si % acide palmitique total ≤ 14 % ≤ 1,0 si % acide palmitique total > 14%	—	≤ 0,3	—	≤ 0,90	≤ 0,15	—	—
6.	Huile de grignons d'olive brute	—	—	—	> 350 (4)	≤ 1,4	—	≤ 0,6	—	—	—	—	—
7.	Huile de grignons d'olive raffinée	—	≤ 0,3	≤ 5	> 350	≤ 1,4	—	≤ 0,5	—	≤ 2,00	≤ 0,20	—	—
8.	Huile de grignons d'olive		≤ 1,0	≤ 15	> 350	≤ 1,2	—	≤ 0,5	—	≤ 1,70	≤ 0,18	—	—

(1) Somme des isomères qui pourraient (ou pas) être séparés par colonne capillaire.
(2) Ou lorsque la médiane du défaut est inférieure ou égale à 3,5 et la médiane du fruité est égale à 0.
(3) Les huiles ayant une teneur en cires comprise entre 300mg/kg and 350 mg/kg sont considérées comme des huiles d'olive lampantes si leur teneur totale en alcools aliphatiques est inférieure ou égale à 350 mg/kg, ou si leur teneur en érythrodiol et en uvaol est inférieure ou égale à 3,5 %.
(4) Les huiles ayant une teneur en cires comprise entre 300mg/kg et 350 mg/kg sont considérées comme des huiles de grignons d'olive brutes si leur teneur totale en alcools aliphatiques est supérieure à 350 mg/kg et si leur teneur en érythrodiol et en uvaol est supérieure à 3,5 %.
(5) K 270 si le solvant est du cyclohexane, K 268 si le solvant est de l'iso-octane.»

ANNEXE II

«ANNEXE XVIII

DÉTERMINATION DE LA DIFFÉRENCE ENTRE LA COMPOSITION RÉELLE ET LA COMPOSITION THÉORIQUE DES TRIGLYCÉRIDES À ECN 42

1. CHAMP D'APPLICATION

Détermination de la différence absolue entre les valeurs expérimentales des triglycérides (TG) à nombre équivalent d'atomes de carbone égal à 42 (ECN 42_{CLHP}) obtenues par détermination dans l'huile par chromatographie liquide haute performance (CLHP) et la valeur théorique des TG à nombre équivalent d'atomes de carbone égal à 42 (ECN $42_{théorique}$) calculée d'après la composition en acides gras.

2. DOMAINE D'APPLICATION

La méthode s'applique aux huiles d'olive. Elle vise à détecter la présence de faibles quantités d'huiles de graines (riches en acide linoléique) dans chaque catégorie d'huile d'olive.

3. PRINCIPE

Dans le cas des huiles d'olive pures, la composition des triglycérides à ECN 42 déterminée par CLHP est plus ou moins équivalente à la composition théorique des triglycérides à ECN 42 (calculée à partir de la composition en acides gras déterminée par chromatographie en phase gazeuse). Une différence supérieure aux valeurs adoptées pour chaque catégorie d'huile indique que l'huile contient des huiles de graines.

4. MÉTHODE

La méthode permettant de calculer la composition théorique des triglycérides à ECN 42 ainsi que la différence par rapport aux données CLHP consiste essentiellement en la coordination des résultats d'analyse obtenus par d'autres méthodes. On distingue trois phases: la détermination de la composition en acides gras par chromatographie en phase gazeuse (CPG) sur colonne capillaire, le calcul de la composition théorique des triglycérides à ECN 42 et la détermination des triglycérides à ECN 42 par CLHP.

4.1. **Appareillage**

4.1.1. Ballons à fond rond de 250 et 500 ml.

4.1.2. Béchers de 100 ml.

4.1.3. Colonne de chromatographie en verre (diamètre intérieur: 21 mm; longueur: 450 mm) avec robinet et cône normalisé (femelle) au sommet.

4.1.4. Ampoules à décanter de 250 ml avec cône normalisé (mâle) à la base, pouvant s'adapter au sommet de la colonne.

4.1.5. Baguette en verre de 600 mm de longueur.

4.1.6. Entonnoir en verre de 80 mm de diamètre.

4.1.7. Fioles jaugées de 50 ml

4.1.8. Fioles jaugées de 20 ml

4.1.9. Évaporateur rotatif.

4.1.10. Chromatographe en phase liquide à haute performance, équipé d'un réglage thermostatique de la température de la colonne.

4.1.11. Vannes d'injection pour 10 µl.

4.1.12. Détecteur: réfractomètre différentiel. La sensibilité pleine échelle doit atteindre au moins 10^{-4} unités d'indice de réfraction.

4.1.13. Colonne: tube en acier inoxydable de 250 mm de longueur et de 4,5 mm de diamètre intérieur, rempli de particules de silice de 5 µm de diamètre contenant 22 à 23 % de carbone sous forme d'octadécylsilane.

4.1.14. Logiciel de traitement des données.

4.1.15. Flacons d'environ 2 ml, avec bouchon à vis et septa en téflon.

4.2. **Réactifs**

Les réactifs doivent être de pureté analytique. Les solvants d'élution doivent être dégazés et peuvent être recyclés plusieurs fois sans que cela ait une incidence sur les séparations.

4.2.1. éther de pétrole 40-60 °C pour chromatographie ou hexane.

4.2.2. Éther éthylique, exempt de peroxydes, fraîchement distillé.

4.2.3. Solvant d'élution pour la purification de l'huile par chromatographie sur colonne: mélange d'éther de pétrole/éther éthylique dans les proportions 87/13 (v/v).

4.2.4. Gel de silice, granulométrie 70-230, type Merck 7734, à teneur en eau normalisée de 5 % (m/m).

4.2.5. Laine de verre.

4.2.6. Acétone pour CLHP.

4.2.7. Acétonitrile ou propionitrile pour CLHP.

4.2.8. Solvant d'élution pour CLHP: acétonitrile + acétone (proportions à ajuster pour obtenir la séparation souhaitée; commencer avec le mélange 50:50) ou propionitrile.

4.2.9. Solvant de solubilisation: acétone.

4.2.10. Triglycérides de référence: soit des triglycérides que l'on trouve dans le commerce (tripalmitine, trioléine, etc.); dans ce cas, les temps de rétention sont reportés sur un diagramme en fonction du nombre équivalent d'atomes de carbone; soit des chromatogrammes de référence obtenus pour de l'huile de soja, pour un mélange 30:70 d'huile de soja et d'huile d'olive, et pour de l'huile d'olive pure (voir notes 1 et 2 et figures 1 à 4).

4.2.11. Colonne d'extraction en phase solide avec phase de silice 1 g, 6 ml.

4.3. **Préparation des échantillons**

Étant donné qu'un certain nombre de substances peuvent interférer et donner lieu à des résultats faux positifs, l'échantillon doit toujours être purifié selon la méthode IUPAC 2.507 utilisée pour la détermination des composés polaires dans les graisses de friture.

4.3.1. *Préparation de la colonne de chromatographie*

Remplir la colonne (4.1.3) avec 30 ml environ de solvant d'élution (4.2.3); introduire ensuite un tampon de laine de verre (4.2.5) dans la colonne et l'enfoncer jusqu'au fond de la colonne au moyen de la baguette en verre (4.1.5).

Préparer dans un bécher de 100 ml une suspension avec 25 g de gel de silice (4.2.4) dans 80 ml de mélange d'élution (4.2.3); la transférer ensuite dans la colonne au moyen d'un entonnoir en verre (4.1.6).

Afin de s'assurer que la totalité du gel de silice a été transférée dans la colonne, laver le bécher avec le mélange d'élution et transférer également le liquide de lavage dans la colonne.

Ouvrir le robinet et laisser le solvant s'écouler jusqu'à ce que son niveau se situe à environ 1 cm au-dessus du gel de silice.

4.3.2. *Chromatographie sur colonne*

Peser, avec un degré de précision de 0,001 g, 2,5 ± 0,1 g d'huile, préalablement filtrée, homogénéisée et, si nécessaire, déshydratée dans une fiole jaugée de 50 ml (4.1.7).

Diluer dans environ 20 ml de solvant d'élution (4.2.3); si nécessaire, chauffer légèrement pour faciliter la dissolution. Refroidir à température ambiante et porter au volume avec du solvant d'élution.

À l'aide d'une pipette jaugée, introduire 20 ml de solution dans la colonne préparée conformément au point 4.3.1, ouvrir le robinet et laisser le solvant s'écouler jusqu'au niveau de la couche de gel de silice.

Éluer ensuite avec 150 ml de solvant d'élution (4.2.3), en réglant le débit du solvant à 2 ml par minute environ (de telle sorte que 150 ml s'écoulent dans la colonne en 60-70 minutes).

Recueillir l'éluat dans un ballon à fond rond de 250 ml (4.1.1) préalablement taré et placé dans un four et le peser avec précision. Éliminer le solvant sous pression réduite dans un évaporateur rotatif (4.1.9) et peser le résidu qui sera utilisé pour préparer la solution pour l'analyse CLHP et pour la préparation des esters méthyliques.

Après passage dans la colonne, l'échantillon doit être récupéré à 90 % au moins pour les catégories d'huile d'olive vierge extra, vierge et raffinée normalement, et à 80 % au moins pour les huiles lampantes et les huiles de grignons.

4.3.3. *Purification par extraction en phase solide*

Activer la colonne d'extraction en phase solide sur silice en passant 6 ml d'hexane (4.2.3) sous vide, en évitant la dessiccation.

Peser 0,12 g avec un degré de précision de 0,001 g dans un flacon de 2 ml (4.1.15) et dissoudre dans 0,5 ml d'hexane (4.2.3).

Charger la colonne d'extraction en phase solide avec la solution et éluer avec 10 ml de mélange hexane-éther diéthylique (87:13 v/v) (4.2.3) sous vide.

La fraction recueillie est évaporée à sec dans un évaporateur rotatif (4.1.9) à pression réduite et à température ambiante. Le résidu est dissous dans 2 ml d'acétone (4.2.6) en vue de l'analyse des triglycérides (TG).

4.4. **Analyse CLHP**

4.4.1. *Préparation des échantillons pour l'analyse chromatographique*

Préparer une solution à 5 % de l'échantillon à analyser en pesant 0,5 ± 0,001 g de l'échantillon dans une fiole jaugée de 10 ml et compléter à 10 ml avec le solvant de solubilisation (4.2.9).

4.4.2. *Procédure*

Régler le système chromatographique. Pomper du solvant d'élution (4.2.8) à un débit de 1,5 ml par minute de façon à purger l'ensemble du système. Attendre d'avoir une ligne de base stable.

Injecter 10 µl de l'échantillon préparé selon le point 4.3.

4.4.3. *Calcul et expression des résultats*

Utiliser la méthode de normalisation des aires des pics, qui consiste à admettre que la somme des aires des pics correspondant aux triglycérides (TG) de ECN 42 à ECN 52 est égale à 100 %.

Calculer le pourcentage relatif de chaque triglycéride selon la formule:

% triglycéride = aire du pic × 100/somme des aires des pics.

Les résultats doivent comporter au moins deux chiffres après la virgule.

Voir notes 1 et 4.

4.5. **Calcul de la composition des triglycérides (% de moles) à partir de la composition en acides gras (% de l'aire)**

4.5.1. *Détermination de la composition en acides gras*

La composition en acides gras est déterminée par la norme ISO 5508 au moyen d'une colonne capillaire. Les esters méthyliques sont préparés selon la méthode COI/T.20/doc. n° 24.

4.5.2. *Acides gras pris en considération dans le calcul*

Les glycérides sont regroupés selon leur nombre équivalent d'atomes de carbone (ECN — *Equivalent Carbon Number*), compte tenu des équivalences suivantes entre ECN et acides gras. Seuls les acides gras à 16 ou 18 atomes de carbone ont été pris en considération, car ce sont les seuls qui sont importants pour l'huile d'olive. Les acides gras doivent être normalisés à 100 %.

Acide gras (AG)	Abréviation	Poids moléculaire (PM)	ECN
Acide palmitique	P	256,4	16
Acide palmitoléique	Po	254,4	14
Acide stéarique	S	284,5	18
Acide oléique	O	282,5	16
Acide linoléique	L	280,4	14
Acide linolénique	Ln	278,4	12

4.5.3. *Conversion en moles du % de l'aire pour tous les acides gras (1)*

$$\text{moles P} = \frac{\%\ \text{aire P}}{\text{PM P}} \qquad \text{moles S} = \frac{\%\ \text{aire S}}{\text{PM S}} \qquad \text{moles Po} = \frac{\%\ \text{aire Po}}{\text{PM Po}}$$

$$\text{moles O} = \frac{\%\ \text{aire O}}{\text{PM O}} \qquad \text{moles L} = \frac{\%\ \text{aire L}}{\text{PM L}} \qquad \text{moles Ln} = \frac{\%\ \text{aire Ln}}{\text{PM Ln}}$$

4.5.4. *Normalisation à 100 % des moles d'acides gras (2)*

$$\%\ \text{moles P}\ (1,2,3) = \frac{\text{moles P} * 100}{\text{moles}\ (\text{P} + \text{S} + \text{Po} + \text{O} + \text{L} + \text{Ln})}$$

$$\%\ \text{moles S}\ (1,2,3) = \frac{\text{moles S} * 100}{\text{moles}\ (\text{P} + \text{S} + \text{Po} + \text{O} + \text{L} + \text{Ln})}$$

$$\%\ \text{moles Po}\ (1,2,3) = \frac{\text{moles Po} * 100}{\text{moles}\ (\text{P} + \text{S} + \text{Po} + \text{O} + \text{L} + \text{Ln})}$$

$$\%\ \text{moles O}\ (1,2,3) = \frac{\text{moles O} * 100}{\text{moles}\ (\text{P} + \text{S} + \text{Po} + \text{O} + \text{L} + \text{Ln})}$$

$$\%\ \text{moles L}\ (1,2,3) = \frac{\text{moles L} * 100}{\text{moles}\ (\text{P} + \text{S} + \text{Po} + \text{O} + \text{L} + \text{Ln})}$$

$$\%\ \text{moles Ln}\ (1,2,3) = \frac{\text{moles Ln} * 100}{\text{moles}\ (\text{P} + \text{S} + \text{Po} + \text{O} + \text{L} + \text{Ln})}$$

Le résultat indique le pourcentage de chaque acide gras, en moles, dans la position globale (1,2,3) des TG.

On calcule ensuite la somme des acides gras saturés P et S (AGS) et des acides gras insaturés Po, O, L et Ln (AGI):

% moles AGS = % moles P + % moles S

% moles AGI = 100 – % moles AGI

4.5.5. *Calcul de la composition des acides gras en position 2 et en positions 1, 3 des TG*

Les acides gras sont répartis en trois groupes, comme suit: un groupe pour la position 2 et deux groupes identiques pour les positions 1 et 3, avec des coefficients différents pour les acides saturés (P et S) et les acides insaturés (Po, O, L et Ln).

4.5.5.1. Acides gras saturés en position 2 [P(2) et S(2)] (4):

% moles P(2) = % moles P (1,2,3) * 0,06

% moles S(2) = % moles S (1,2,3) * 0,06

4.5.5.2. Acides gras insaturés en position 2 [Po(2), O(2), L(2) et Ln(2)] (5):

$$\%\ \text{moles Po}(2) = \frac{\%\ \text{moles Po}(1,2,3)}{\%\ \text{moles UFA}} * (100 - \%\ \text{moles P}(2) - \%\ \text{moles S}(2))$$

$$\%\ \text{moles O}(2) = \frac{\%\ \text{moles O}(1,2,3)}{\%\ \text{moles UFA}} * (100 - \%\ \text{moles P}(2) - \%\ \text{moles S}(2))$$

$$\%\ \text{moles L}(2) = \frac{\%\ \text{moles L}(1,2,3)}{\%\ \text{moles UFA}} * (100 - \%\ \text{moles P}(2) - \%\ \text{moles S}(2))$$

$$\%\ \text{moles Ln}(2) = \frac{\%\ \text{moles Ln}(1,2,3)}{\%\ \text{moles UFA}} * (100 - \%\ \text{moles P}(2) - \%\ \text{moles S}(2))$$

4.5.5.3. Acides gras en positions 1 et 3 [P(1,3), S(1,3), Po(1,3), O(1,3), L(1,3) et Ln(1,3)] (6):

$$\%\ \text{moles P}(1,3) = \frac{\%\ \text{moles P}(1,2,3) - \%\ \text{moles P}(2)}{2} + \%\ \text{moles P}(1,2,3)$$

$$\%\ \text{moles S}(1,3) = \frac{\%\ \text{moles S}(1,2,3) - \%\ \text{moles S}(2)}{2} + \%\ \text{moles S}(1,2,3)$$

$$\%\ \text{moles Po}(1,3) = \frac{\%\ \text{moles Po}(1,2,3) - \%\ \text{moles Po}(2)}{2} + \%\ \text{moles Po}(1,2,3)$$

$$\%\ \text{moles O}(1,3) = \frac{\%\ \text{moles O}(1,2,3) - \%\ \text{moles O}(2)}{2} + \%\ \text{moles O}(1,2,3)$$

$$\%\ \text{moles L}(1,3) = \frac{\%\ \text{moles L}(1,2,3) - \%\ \text{moles L}(2)}{2} + \%\ \text{moles L}(1,2,3)$$

$$\%\ \text{moles Ln}(1,3) = \frac{\%\ \text{moles Ln}(1,2,3) - \%\ \text{moles Ln}(2)}{2} + \%\ \text{moles Ln}(1,2,3)$$

4.5.6. *Calcul des triglycérides*

4.5.6.1. TG à un acide gras (AAA, ici LLL, PoPoPo) (7)

$$\%\ \text{moles AAA} = \frac{\%\ \text{moles A}(1,3) * \%\ \text{moles A}(2) * \%\ \text{moles A}(1,3)}{10\,000}$$

4.5.6.2. TG à deux acides gras (AAB, ici PoPoL, PoLL) (8)

$$\%\ \text{moles AAB} = \frac{\%\ \text{moles A}(1,3) * \%\ \text{moles A}(2) * \%\ \text{moles B}(1,3) * 2}{10\,000}$$

$$\%\ \text{moles ABA} = \frac{\%\ \text{moles A}(1,3) * \%\ \text{moles B}(2) * \%\ \text{moles A}(1,3)}{10\,000}$$

4.5.6.3. TG à trois acides gras distincts (ABC, ici OLLn, PLLn, PoOLn, PPoLn) (9)

$$\%\ \text{moles ABC} = \frac{\%\ \text{moles A}(1,3) * \%\ \text{moles B}(2) * \%\ \text{moles C}(1,3) * 2}{10\,000}$$

$$\%\ \text{moles BCA} = \frac{\%\ \text{moles B}(1,3) * \%\ \text{moles C}(2) * \%\ \text{moles A}(1,3) * 2}{10\,000}$$

$$\%\ \text{moles CAB} = \frac{\%\ \text{moles C}(1,3) * \%\ \text{moles A}(2) * \%\ \text{moles B}(1,3) * 2}{10\,000}$$

4.5.6.4. Triglycérides à ECN 42

Les triglycérides à ECN 42 sont calculés selon les équations 7, 8 et 9, et sont ensuite indiqués par ordre d'élution attendu en CLHP (en général, on observe seulement trois pics).

LLL

PoLL et l'isomère de position LPoL

OLLn et les isomères de position OLnL et LnOL

PoPoL et l'isomère de position PoLPo

PoOLn et les isomères de position OPoLn et OLnPo

PLLn et les isomères de position LLnP et LnPL

PoPoPo

SLnLn et l'isomère de position LnSLn

PPoLn et les isomères de position PLnPo et PoPLn

Les triglycérides à ECN 42 s'obtiennent en additionnant les neuf triglycérides, y compris leurs isomères de position. Les résultats doivent comporter au moins deux chiffres après la virgule.

5. ÉVALUATION DES RÉSULTATS

On compare la composition théorique calculée et celle déterminée par CLHP. Si, en valeur absolue, la différence «données CLHP moins données théoriques» est supérieure aux valeurs spécifiées pour la catégorie d'huile concernée dans la norme de commercialisation, l'échantillon contient de l'huile de graines.

Les résultats sont exprimés avec deux décimales.

6. EXEMPLE (LA NUMÉROTATION RENVOIE AUX SECTIONS DU TEXTE DE LA MÉTHODE)

— 4.5.1. *Calcul du % de moles d'acides gras à partir des données de la CPG (% de l'aire normalisé)*

La détermination de la composition en acides gras par CPG donne les valeurs suivantes:

AG	P	S	Po	O	L	Ln
PM	256,4	284,5	254,4	282,5	280,4	278,4
% aire	10,0	3,0	1,0	75,0	10,0	1,0

— 4.5.3 *Conversion en moles du % de l'aire pour tous les acides gras [voir formule (1)]*

$$\text{moles P} = \frac{10}{256,4} = 0,03900 \text{ moles P}$$

$$\text{moles S} = \frac{3}{284,5} = 0,01054 \text{ moles S}$$

$$\text{moles Po} = \frac{1}{254,4} = 0,00393 \text{ moles Po}$$

$$\text{moles O} = \frac{75}{282,5} = 0,26549 \text{ moles O}$$

$$\text{moles L} = \frac{10}{280,4} = 0,03566 \text{ moles L}$$

$$\text{moles Ln} = \frac{1}{278,4} = 0,00359 \text{ moles Ln}$$

Total = 0,35821 moles TG

— 4.5.4 *Normalisation à 100 % des moles d'acides gras [voir formule (2)]*

$$\%\text{ moles P(1,2,3)} = \frac{0,03900 \text{ moles P} * 100}{0,35821 \text{ moles}} = 10,887\ \%$$

$$\%\text{ moles S(1,2,3)} = \frac{0,01054 \text{ moles S} * 100}{0,35821 \text{ moles}} = 2,942\ \%$$

$$\%\text{ moles Po(1,2,3)} = \frac{0,00393 \text{ moles Po} * 100}{0,35821 \text{ moles}} = 1,097\ \%$$

$$\%\text{ moles O(1,2,3)} = \frac{0,26549 \text{ moles O} * 100}{0,35821 \text{ moles}} = 74,116\ \%$$

$$\%\text{ moles L(1,2,3)} = \frac{0,03566 \text{ moles L} * 100}{0,35821 \text{ moles}} = 9,955\ \%$$

$$\%\text{ moles Ln(1,2,3)} = \frac{0,00359 \text{ moles Ln} * 100}{0,35821 \text{ moles}} = 1,002\ \%$$

Total % moles = 100 %

Somme des acides gras saturés et insaturés en position 1, 2 et 3 des TG [voir formule (3)]:

% moles AGS = 10,887 % + 2,942 % = **13,829 %**

% moles AGI = 100,000 % – 13,829 % = **86,171 %**

— 4.5.5 *Calcul de la composition en acides gras en position 2 et en position 1 et 3 des TG*

— 4.5.5.1 Acides gras saturés en position 2 [P(2) et S(2)] [voir formule (4)]

% moles P(2) = 10,887 % * 0,06 = 0,653 %

% moles S(2) = 2,942 % * 0,06 = 0,177 %

— 4.5.5.2 Acides gras insaturés en position 2 [Po(1,3), O(1,3), L(1,3) et Ln(1,3)] [voir formule (5)]

$$\%\ \text{moles Po}(2) = \frac{1{,}097\ \%}{86{,}171\ \%} * (100 - 0{,}653 - 0{,}177) = 1{,}262\ \%$$

$$\%\ \text{moles O}(2) = \frac{74{,}116\ \%}{86{,}171\ \%} * (100 - 0{,}653 - 0{,}177) = 85{,}296\ \%$$

$$\%\ \text{moles L}(2) = \frac{9{,}955\ \%}{86{,}171\ \%} * (100 - 0{,}653 - 0{,}177) = 11{,}457\ \%$$

$$\%\ \text{moles Ln}(2) = \frac{1{,}002\ \%}{86{,}171\ \%} * (100 - 0{,}653 - 0{,}177) = 1{,}153\ \%$$

— 4.5.5.3 Acides gras en position 1 et 3 [P(1,3), S(1,3), Po(1,3), O(1,3), L(1,3) et Ln(1,3)] [voir formule (6)]

$$\%\ \text{moles P}(1,3) = \frac{10{,}887 - 0{,}653}{2} + 10{,}887 = 16{,}004\ \%$$

$$\%\ \text{moles S}(1,3) = \frac{2{,}942 - 0{,}177}{2} + 2{,}942 = 4{,}325\ \%$$

$$\%\ \text{moles Po}(1,3) = \frac{1{,}097 - 1{,}262}{2} + 1{,}097 = 1{,}015\ \%$$

$$\%\ \text{moles O}(1,3) = \frac{74{,}116 - 85{,}296}{2} + 74{,}116 = 68{,}526\ \%$$

$$\%\ \text{moles L}(1,3) = \frac{9{,}955 - 11{,}457}{2} + 9{,}955 = 9{,}204\ \%$$

$$\%\ \text{moles Ln}(1,3) = \frac{1{,}002 - 1{,}153}{2} + 1{,}002 = 0{,}927\ \%$$

— 4.5.6. *Calcul des triglycérides*

À partir de la composition calculée en acides gras en position 2 et en position 1 et 3 (voir tableau suivant):

AG en	positions 1 et 3	position 2
P	16,004 %	0,653 %
S	4,325 %	0,177 %
Po	1,015 %	1,262 %
O	68,526 %	85,296 %
L	9,204 %	11,457 %
Ln	0,927 %	1,153 %
Total	100,0 %	100,0 %

Les triglycérides suivants sont calculés:

LLL

PoPoPo

PoLL avec un isomère de position

SLnLn avec un isomère de position

PoPoL avec un isomère de position

PPoLn avec 2 isomères de position

OLLn avec 2 isomères de position

PLLn avec 2 isomères de position

PoOLn avec 2 isomères de position

— 4.5.6.1. TG à un acide gras (LLL, PoPoPo) [voir formule (7)]

$$\% \text{ mol LLL} = \frac{9{,}204\ \% * 11{,}457\ \% * 9{,}204\ \%}{10\ 000}, = \mathbf{0{,}09706 \quad mol\ LLL}$$

$$\% \text{ mol PoPoPo} = \frac{1{,}015\ \% * 1{,}262\ \% * 1{,}015\ \%}{10\ 000} = \mathbf{0{,}00013 \quad mol\ PoPoPo}$$

— 4.5.6.2 TG à deux acides gras (PoLL, SLnLn, PoPoL) (voir formule (8)]

$$\% \text{ mol PoLL} + \text{LLPo} = \frac{1{,}015\ \% * 11{,}457\ \% * 9{,}204\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}02141$$

$$\% \text{ mol LPoL} = \frac{9{,}204\ \% * 1{,}262\ \% * 9{,}204\ \%}{10\ 000} = 0{,}01069$$

0,03210 mol PoLL

$$\% \text{ mol SLnLn} + \text{LnLnS} = \frac{4{,}325\ \% * 1{,}153\ \% * 0{,}927\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}00092$$

$$\% \text{ mol LnSLn} = \frac{0{,}927\ \% * 0{,}177\ \% * 0{,}927\ \%}{10\ 000} = 0{,}00002$$

0,00094 mol SLnLn

$$\% \text{ mol PoPoL} + \text{LPoPo} = \frac{1{,}015\ \% * 1{,}262\ \% * 9{,}204\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}00236$$

$$\% \text{ mol PoLPo} = \frac{1{,}015\ \% * 11{,}457\ \% * 1{,}015\ \%}{10\ 000} = 0{,}00118$$

0,00354 mol PoPoL

— 4.5.6.3 TG à trois acides gras distincts (PoPLn, OLLn, PLLn, PoOLn) [voir formule (9)]

$$\% \text{ mol PPoLn} = \frac{16{,}004\ \% * 1{,}262\ \% * 0{,}927\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}00374$$

$$\% \text{ mol LnPPo} = \frac{0{,}927\ \% * 0{,}653\ \% * 1{,}015\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}00012$$

$$\% \text{ mol PoLnP} = \frac{1{,}015\ \% * 1{,}153\ \% * 16{,}004\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}00375$$

0,00761 mol PPoLn

$$\% \text{ mol OLLn} = \frac{68{,}526\ \% * 11{,}457\ \% * 0{,}927\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}14556$$

$$\% \text{ mol LnOL} = \frac{0{,}927\ \% * 85{,}296\ \% * 9{,}204\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}14555$$

$$\% \text{ mol LLnO} = \frac{9{,}204\ \% * 1{,}153\ \% * 68{,}526\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}14544$$

0,43655 mol OLLn

$$\% \text{ mol PLLn} = \frac{16{,}004\ \% * 11{,}457\ \% * 0{,}927\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}03399$$

$$\% \text{ mol LnPL} = \frac{0{,}927\ \% * 0{,}653\ \% * 9{,}204\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}00111$$

$$\% \text{ mol LLnP} = \frac{9{,}204\ \% * 1{,}153\ \% * 16{,}004\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}03397$$

0,06907 mol PLLn

$$\% \text{ mol PoOLn} = \frac{1{,}015\ \% * 85{,}296\ \% * 0{,}927\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}01605$$

$$\% \text{ mol LnPoO} = \frac{0{,}927\ \% * 1{,}262\ \% * 68{,}526\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}01603$$

$$\% \text{ mol OLnPo} = \frac{68{,}526\ \% * 1{,}153\ \% * 1{,}015\ \% * 2}{10\ 000} = 0{,}01604$$

0,04812 mol PoOLn

ECN 42 = 0,69512 mol TG

Note 1: Il est possible de déterminer l'ordre d'élution en calculant le nombre équivalent d'atomes de carbone, souvent défini par la relation ECN = CN − 2n, dans laquelle CN est le nombre d'atomes de carbone et n le nombre de doubles liaisons; on peut affiner le calcul en tenant compte de l'origine de la double liaison. Si n_o, n_l et n_{ln} sont les nombres de doubles liaisons attribués respectivement aux acides oléique, linoléique et linolénique, le nombre équivalent d'atomes de carbone peut être calculé selon la formule suivante:

$$ECN = CN - d_o n_o - d_l n_l - d_{ln} n_{ln}$$

dans laquelle les coefficients d_o, d_l et d_{ln} peuvent être calculés à l'aide des triglycérides de référence. Dans les conditions spécifiées dans la présente méthode, la relation obtenue sera voisine de:

$$ECN = CN - (2{,}60\ n_o) - (2{,}35\ n_l) - (2{,}17\ n_{ln})$$

Note 2: Avec plusieurs triglycérides de référence, il est également possible de calculer la résolution par rapport à la trioléine:

$$\alpha = TR^1/TR \text{ de la trioléine}$$

en utilisant le temps de rétention réduit TR^1 = TR − TR du solvant.

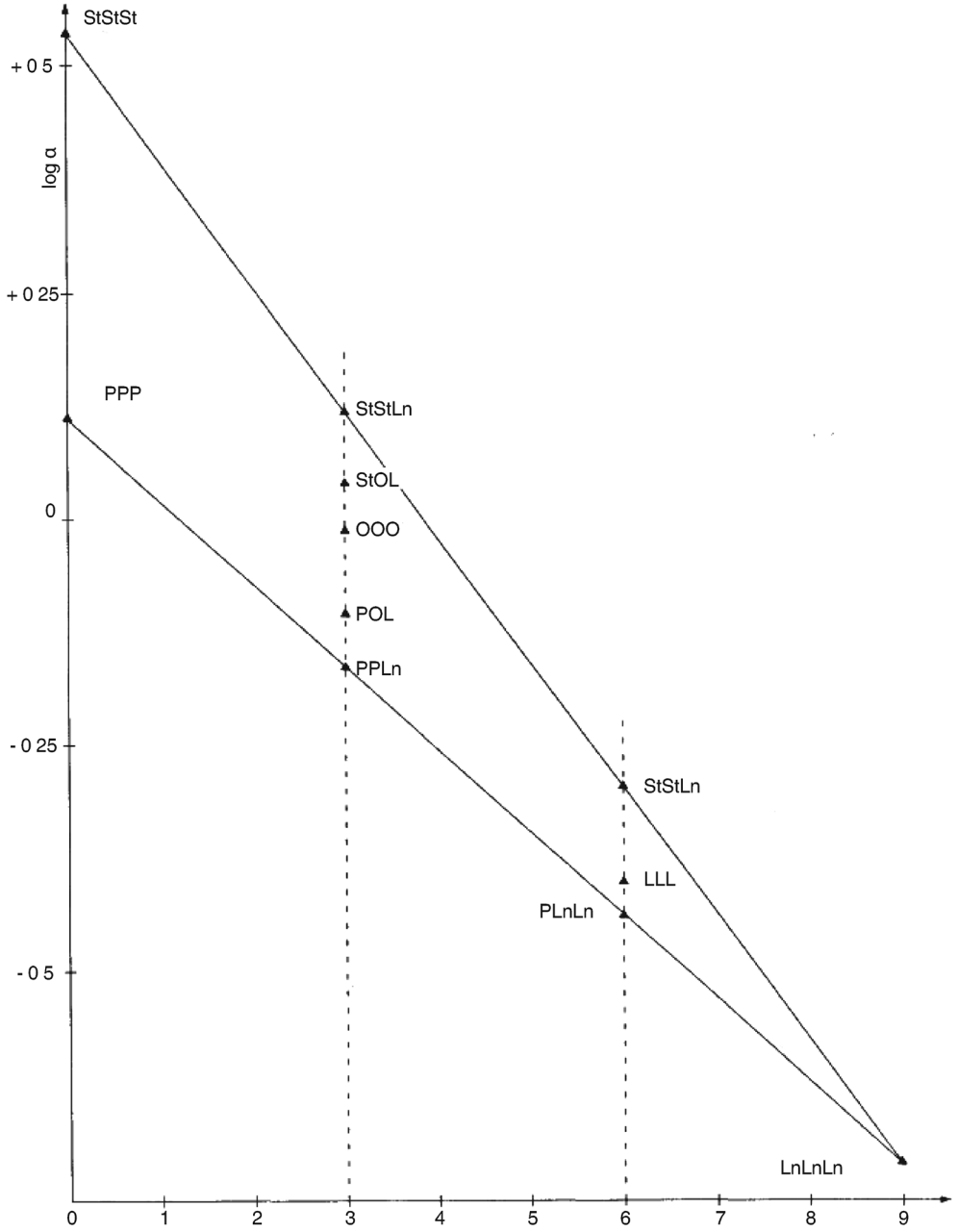
La représentation graphique de log α en fonction de f (nombre de doubles liaisons) permet de déterminer les valeurs de rétention pour tous les triglycérides à acides gras contenus dans les triglycérides de référence — voir figure 1.

Note 3: L'efficacité de la colonne doit permettre de séparer nettement le pic de la trilinoléine des pics des triglycérides dont le TR est proche. L'élution est effectuée jusqu'au pic ECN 52.

Note 4: Une mesure correcte des aires de tous les pics intéressants pour la présente détermination est garantie si le deuxième pic correspondant à ECN 50 est égal à 50 % du maximum de l'échelle.

Figure 1

Représentation graphique de log α en fonction de f (nombre de doubles liaisons)



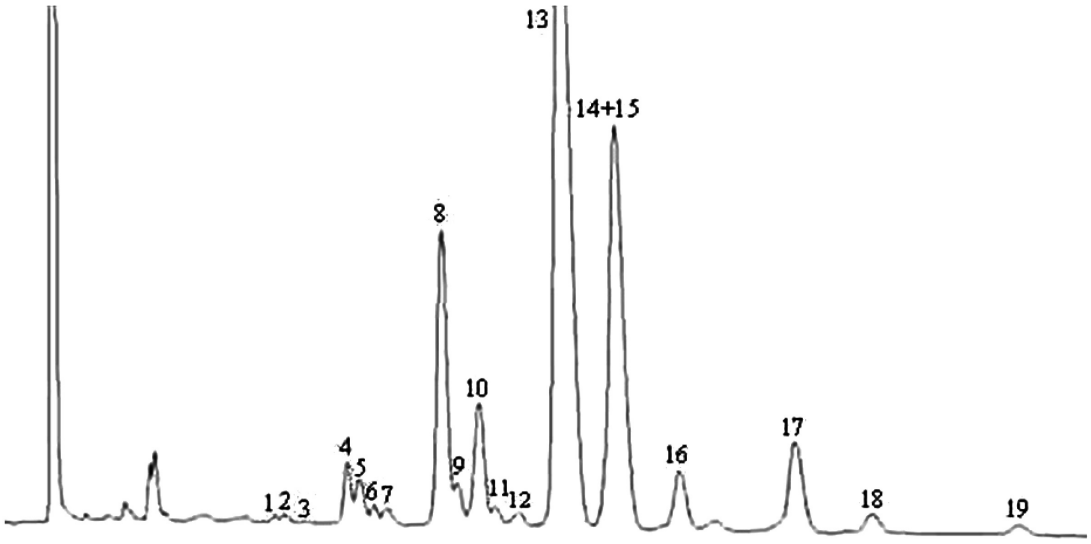
Nombre de doubles liaisons

La: acide laurique; My: acide myristique; P: acide palmitique; S: acide stéarique; O: acide oléique; L: acide linoléique; Ln: acide linolénique

Figure 2

Huile d'olive à faible teneur en acide linoléique

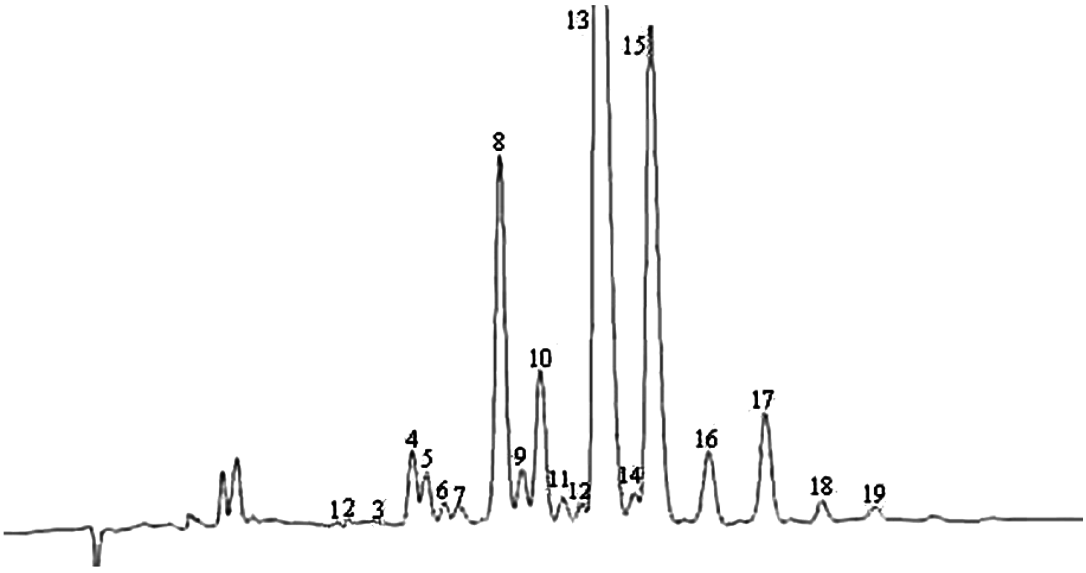
a)



Solvant: acétone/acétonitrile.

Tracé a: Principaux composants des pics chromatographiques: **ECN 42:** (1) LLL + PoLL; (2) OLLn + PoOLn; (3) PLLn; **ECN 44:** (4) OLL + PoOL; (5) OOLn + PLL; (6) POLn + PPoPo; (7) OOL + PoOO; **ECN 46:** (8) OOL + LnPP; (9) PoOO; (10) SLL + PLO; (11) PoOP + SPoL + SOLn + SPoPo; (12) PLP; **ECN 48:** (13) OOO + PoPP; (14 + 15) SOL + POO; (16) POP; **ECN 50:** (17) SOO; (18) POS + SLS.

b)



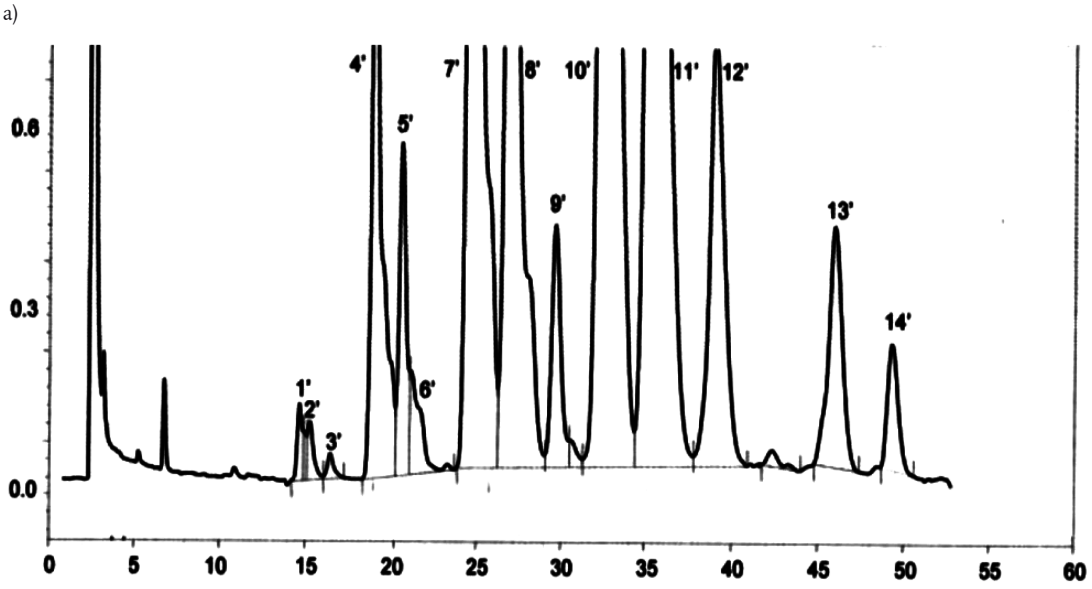
Solvant: propionitrile.

Tracé b: Principaux composants des pics chromatographiques: **ECN 42:** (1) LLL; (2) OLLn + PoLL; (3) PLLn; **ECN 44:** (4) OLL; (5) OOLn + PoOL; (6) PLL + PoPoO; (7) POLn + PPoPo + PPoL; **ECN 46:** (8) OOL + LnPP; (9) PoOO; (10) SLL + PLO; (11) PoOP + SPoL + SOLn + SPoPo; (12) PLP; **ECN 48:** (13) OOO + PoPP; (14) SOL; (15) POO; (16) POP; **ECN 50:** (17) SOO; (18) POS + SLS

Figure 3

Huile d'olive à teneur élevée en acide linoléique

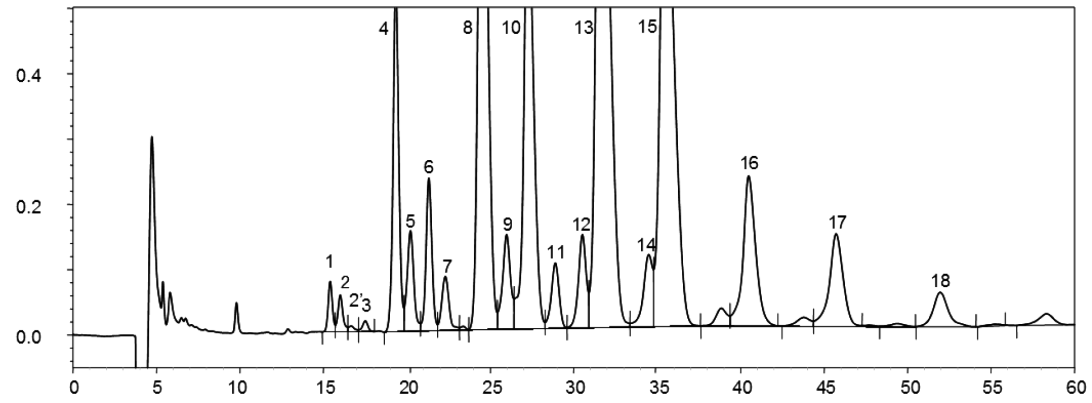
a)



Solvant: acétone/acétonitrile (50:50).

Tracé a: Principaux composants des pics chromatographiques: **ECN 42:** (1') LLL + PoLL; (2') OLLn + PoOLn; (3') PLLn; **ECN 44:** (4') OLL + PoOL; (5') OOLn + PLL; (6') POLn + PPoPo; **ECN 46:** (7') OOL + PoOO; (8') PLO + SLL + PoOP; (9') PLP + PoPP; **ECN 48:** (10') OOO; (11') POO + SLL + PPoO; (12') POP + PLS; **ECN 50:** (13') SOO; (14') POS + SLS

b)



Solvant: propionitrile.

Tracé b: Principaux composants des pics chromatographiques: **ECN 42:** (1) LLL; (2 + 2') OLLn + PoLL; (3) PLLn; **ECN 44:** (4) OLL; (5) OOLn + PoOL; (6) PLL + PoPoO; (7) POLn + PPoPo + PPoL; **ECN 46:** (8) OOL + LnPP; (9) PoOO; (10) SLL + PLO; (11) PoOP + SPoL + SOLn + SPoPo; **ECN 48:** (12) PLP; (13) OOO + PoPP; (14) SOL; (15) POO; (16) POP; **ECN 50:** (17) SOO; (18) POS + SLS; **ECN 52:** (19) AOO.»

ANNEXE III

«ANNEXE XXI

Résultats des contrôles de conformité réalisés sur les huiles d'olive visés à l'article 8, paragraphe 2

				Étiquetage						Paramètres chimiques			Caractéristiques organoleptiques (4)			Conclusion finale	
Échantillon	Catégorie	Pays d'origine	Lieu du contrôle (1)	Dénomination légale	Appellation d'origine	Conditions de stockage	Informations erronées	Lisibilité	C/NC (3)	Paramètres hors limites O/N	Dans l'affirmative, veuillez indiquer le(s)quel(s) (2)	C/NC (3)	Médiane du défaut	Médiane du fruité	C/NC (3)	Mesures requises	Sanction

(1) Marché intérieur (pressoir, embouteillage, vente au détail), exportation, importation
(2) Un code est attribué à chacune des caractéristiques de l'huile d'olive mentionnées à l'annexe I
(3) Conforme/non conforme
(4) Pas nécessaire pour l'huile d'olive et l'huile de grignons d'olive.»