



## MÉTHODE

### DÉTERMINATION DES ACIDES GRAS LIBRES, MÉTHODE À FROID

#### 1. DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode décrit la détermination des acides gras libres dans les huiles d'olive et les huiles de grignons d'olive. La teneur en acides gras libres est exprimée en acidité, calculée comme pourcentage d'acide oléique.

#### 2. PRINCIPE

Mise en solution d'une prise d'essai dans un mélange de solvants, puis titrage des acides gras présents à l'aide d'une solution d'hydroxyde de potassium ou d'hydroxyde de sodium.

#### 3. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique reconnue et l'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de pureté équivalente.

##### 3.1. Éther diéthylique ; oxyde diéthylique éthanol à 95% (V/V), mélange 1 -1 en volume.

Neutraliser exactement au moment de l'emploi avec la solution d'hydroxyde de potassium (3.2), en présence de 0,3 ml de la solution de phénolphthaléine (3.3) pour 100 ml de mélange.

*Note 1 : L'oxyde diéthylique est très inflammable et peut former des peroxydes explosifs. Il doit être utilisé en prenant des précautions particulières.*

*Note 2 : S'il n'est pas possible d'utiliser l'oxyde diéthylique, un mélange de solvants composé d'éthanol et de toluène peut être utilisé. Si nécessaire, l'éthanol peut être remplacé par le propanol-2.*

##### 3.2. Hydroxyde de potassium ou hydroxyde de sodium, solution éthanolique titrée ou solution aqueuse, $c(\text{KOH}) = 0,1$ mole par litre environ ou, si nécessaire, $c(\text{KOH}) = 0,5$ mole par litre environ. Il existe dans le commerce des solutions prêtes à l'emploi.

La concentration exacte de la solution d'hydroxyde de potassium (ou de la solution d'hydroxyde de sodium) doit être connue et vérifiée avant l'emploi. Utiliser une solution préparée au moins 5 jours avant l'emploi et décantée dans un flacon en verre

brun fermé avec un bouchon en caoutchouc. La solution doit être incolore ou jaune paille.

Si une séparation de phases est observée en utilisant une solution aqueuse d'hydroxyde de potassium (ou d'hydroxyde de sodium), remplacer la solution aqueuse par une solution éthanolique.

***Note 3** : Une solution incolore stable d'hydroxyde de potassium (ou d'hydroxyde de sodium) peut être préparée de la façon suivante. Porter et maintenir durant une heure à ébullition à reflux 1000 ml d'éthanol ou d'eau avec 8 g d'hydroxyde de potassium (ou d'hydroxyde de sodium) et 0,5 g de rognures d'aluminium. Distiller immédiatement. Dissoudre dans le distillat la quantité requise d'hydroxyde de potassium (ou d'hydroxyde de sodium). Laisser reposer durant plusieurs jours et décanter le liquide clair surnageant du précipité de carbonate de potassium (ou du carbonate de sodium). La solution peut aussi être préparée sans distillation de la façon suivante : à 1000 ml d'éthanol (ou d'eau), ajouter 4 ml de butylite d'aluminium et laisser reposer le mélange durant quelques jours. Décanter le liquide surnageant et y dissoudre la quantité requise d'hydroxyde de potassium (ou d'hydroxyde de sodium). Cette solution est prête pour l'emploi.*

- 3.3. Phénolphthaléine, solution à 10 g/l dans l'éthanol à 95-96% (V/V) ou bleu alcalin 6B ou thymolphthaléine, solution à 20 g/l dans l'éthanol à 95-96% (V/V). Dans le cas d'huiles fortement colorées, du bleu alcalin ou de la thymolphthaléine doit être utilisé.

#### **4. APPAREILLAGE**

Matériel courant de laboratoire et notamment :

- 4.1. Balance analytique
- 4.2. Fiole conique de 250 ml de capacité
- 4.3. Burette de 10 ml de capacité classe A, graduée en 0,05 ml, ou burette automatique équivalente

#### **5. MODE OPÉRATOIRE**

- 5.1. Préparation de l'échantillon pour essai

Lorsque l'échantillon est trouble, il devra être filtré.

- 5.2. Prise d'essai

Prélever une prise d'essai, selon l'acidité présumée, d'après les indications du tableau suivant :

Acidité attendue (acidité oléique en g/100g)	Masse de la prise d'essai (en g)	Précision de la pesée de la prise d'essai (en g)
0 à 2	10	0,02
> 2 à 7,5	2,5	0,01
> 7,5	0,5	0,001

Peser la prise d'essai dans la fiole conique (4.2).

### 5.3.Détermination

Dissoudre la prise d'essai (5.2) dans 50 à 100 ml du mélange oxyde diéthylique/éthanol (3.1) préalablement neutralisé.

Titre, en agitant, avec la solution d'hydroxyde de potassium à 0,1 mol/l (3.2) (voir Note 4) jusqu'à virage de l'indicateur (la couleur de l'indicateur persistant durant au moins 10 secondes).

*Note 4 : Si la quantité nécessaire de solution d'hydroxyde de potassium à 0,1 mol/l dépasse 10 ml, utiliser une solution à 0,5 mol/l ou modifier la masse de l'échantillon en fonction de l'acidité escomptée et du tableau proposé.*

*Note 5 : Si la solution devient trouble pendant le titrage, ajouter une quantité suffisante du mélange de solvants (3.1) pour obtenir une solution claire.*

Effectuer une deuxième détermination uniquement si le premier résultat est supérieur à la valeur limite spécifiée pour la catégorie de l'huile.

## 6. EXPRESSION DES RÉSULTATS

L'acidité, exprimée en pourcentage d'acide oléique en poids est égale à :

$$V \times c \times \frac{M}{1000} \times \frac{100}{m} = \frac{V \times c \times M}{10 \times m}$$

dans laquelle :

V = volume, en millilitres, de la solution titrée d'hydroxyde de potassium utilisée ;

c = concentration exacte, en moles par litre, de la solution titrée d'hydroxyde de potassium utilisée ;

M = 282 g/mol, masse molaire, en grammes par mole de l'acide oléique ;

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

L'acidité oléique est déclarée comme suit :

(a) à la deuxième décimale pour les valeurs allant de 0 à 1 compris

(a) à la première décimale pour les valeurs allant de 1 à 100 compris

## VALEURS DE PRÉCISION DE LA MÉTHODE

### Analyse des résultats de l'essai circulaire

Plus de 20 laboratoires ont participé à l'essai circulaire organisé par le Conseil oléicole international en 2014 et en 2015.

L'essai a porté sur 5 échantillons en 2014 et sur 3 échantillons en 2015 :

PA 1-2014 : huile de grignons d'olive brute

PA 2-2014 : huile de grignons d'olive raffinée

PA 3-2014 : huile d'olive raffinée

PA 4-2014 : huile d'olive vierge extra (Prix Mario Solinas) – campagne 2011

PA 5-2014 : huile d'olive vierge extra (Prix Mario Solinas) – campagne 2014

PA 6-2015 : 70% huile d'olive lampante + 30% huile de pépins de raisin

PA 7-2015 : huile d'olive vierge extra de récolte tardive

PA 8-2015 : 90% huile d'olive lampante + 10% d'oléine de palme

Les résultats des essais circulaires ont été évalués statistiquement selon les règles des normes internationales ISO 5725-2. Les valeurs aberrantes ont été examinées en appliquant le test de Cochran et Grubbs aux résultats du laboratoire pour chaque détermination (réplicats *a* et *b*) et chaque échantillon.

Le tableau mentionne :

<b>n</b>	nombre de laboratoires participants
<b>outliers</b>	nombre de laboratoires avec des valeurs aberrantes
<b>mean</b>	moyenne des résultats acceptés (g/100g)
<b>S<sub>r</sub></b>	écart-type de répétabilité (g/100g)
<b>RDS<sub>r</sub> (%)</b>	écart-type relatif, calculé à partir des résultats obtenus dans des conditions de répétabilité ( $S_r \times 100/\text{mean}$ )
<b>r</b>	valeur en dessous de laquelle on peut s'attendre à ce que la différence absolue entre les résultats de deux tests individuels, obtenus avec la même méthode sur un matériel identique dans le même laboratoire utilisant le même appareillage dans un court intervalle de temps, se situe dans une probabilité de 95 % ( $S_r$ multiplié par 2,8) (g/100 g)
<b>S<sub>R</sub></b>	écart type de reproductibilité (g/100g)
<b>RDS<sub>R</sub> (%)</b>	écart-type relatif, calculé à partir des résultats obtenus dans des conditions de reproductibilité ( $S_R \times 100/\text{mean}$ )
<b>r</b>	valeur en dessous de laquelle on peut s'attendre à ce que la différence absolue entre les résultats de deux tests individuels, obtenus avec la même méthode sur un matériel identique dans le même laboratoire utilisant le même appareillage dans un court intervalle de temps, se situe dans une probabilité de 95% ( $S_R$ multiplié par 2,8) (g/100 g)

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>	<b>F</b>	<b>G</b>	<b>H</b>
<b>n</b>	22	22	22	22	22	20	20	20
<b>outliers</b>	1	1	2	2	0	2	3	2
<b>mean</b>	6,3	0,11	0,07	0,13	0,15	1,4	0,50	0,69
<b>r</b>	0,144	0,019	0,018	0,011	0,021	0,015	0,018	0,022
<b>S<sub>r</sub></b>	0,052	0,007	0,006	0,004	0,007	0,005	0,006	0,008
<b>RSD<sub>r</sub>(%)</b>	0,8	6,1	9,3	3,2	4,8	0,4	1,3	1,1
<b>R</b>	0,535	0,074	0,043	0,053	0,100	0,121	0,074	0,085
<b>S<sub>R</sub></b>	0,191	0,027	0,015	0,019	0,036	0,043	0,026	0,030
<b>RSD<sub>R</sub>(%)</b>	3,0	24,2	22,7	14,7	23,3	3,1	5,3	4,4