



## 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 libres dans une solution d'hydroxyde de potassium ou d'hydroxyde de sodium.

#### 3. RÉACTIFS

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou de pureté équivalente.

##### 3.1. Éther diéthylique ; éthanol à 95% (V/V), mélange à parts égales en volume.

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

*Note 1 : L'éther 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'éther diéthylique, un mélange de solvants contenant de l'éthanol et du toluène peut être utilisé. Si nécessaire, l'éthanol peut être remplacé par du propanol-2.*

##### 3.2. Hydroxyde de potassium ou hydroxyde de sodium, solution éthanolique ou aqueuse titrée, c(KOH) environ 0,1 mol/l ou, si nécessaire, c(KOH) environ 0,5 mol/l. Des solutions sont disponibles dans le commerce.

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 muni d'un bouchon en caoutchouc. La solution doit être incolore ou jaune paille.

En cas de séparation de phases lorsque la solution aqueuse d'hydroxyde de potassium ou d'hydroxyde de sodium est introduite, la solution aqueuse pourra être remplacée par une solution éthanolique.

*Note 3 : Une solution incolore stable d'hydroxyde de potassium (ou d'hydroxyde de sodium) peut être préparée comme suit : porter à ébullition et maintenir à reflux pendant une heure 1 000 ml d'éthanol ou d'eau avec 8 g d'hydroxyde de potassium (ou d'hydroxyde de sodium) et 0,5 g de pastilles 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 décanner le liquide surnageant du précipité de carbonate de potassium (ou de carbonate de sodium). La solution peut être aussi préparée sans distillation de la façon suivante : à 1 000 ml d'éthanol (ou d'eau), ajouter 4 ml de tri-sec-butoxyde d'aluminium et laisser reposer le mélange durant quelques jours. Décanner 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), 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, il peut s'avérer nécessaire d'employer du bleu alcalin ou de la thymolphthaléine.

#### 4. APPAREILLAGE

Matériel courant de laboratoire et en particulier :

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

#### 5. MODE OPÉRATOIRE

- 5.1. Préparation de la prise d'essai

Si la solution est trouble, elle devra être filtrée.

- 5.2. Masse de la prise d'essai

Prélever une masse suffisante de la prise d'essai selon l'indice d'acide présumé, d'après les indications du tableau suivant :

<b>Indice d'acide présumé (acidité oléique g/100g)</b>	<b>Masse de la prise d'essai (g)</b>	<b>Précision de la pesée de la prise d'essai (g)</b>
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 d'éther diéthylique et d'éthanol (3.1.) préalablement neutralisé.

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

*Note 4 : Si la quantité nécessaire de solution à 0,1 mol/l d'hydroxyde de potassium dépasse 10 ml, utiliser la solution à 0,5 mol/l ou changer la masse de la prise d'essai selon l'indice d'acide présumé d'après les indications du tableau.*

*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.*

Procéder à une deuxième détermination uniquement si le résultat de la première s'avère supérieur à la limite établie pour la catégorie de l'huile.

## 6. EXPRESSION DES RÉSULTATS

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

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

où :

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

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

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

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

L'acidité oléique est reportée comme suit :

(a) à deux décimales pour des valeurs de 0 à 1 (inclus) ;

(a) à une décimale pour des valeurs de 1 à 100 (inclus) ;

### VALEURS DE PRÉCISION DE LA MÉTHODE

#### Analyse des résultats de l'essai interlaboratoires

Plus de 20 laboratoires ont participé à l'essai interlaboratoires 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 interlaboratoires 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
outliers	nombre de laboratoires avec des valeurs aberrantes
mean	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>Acidité (acidité oléique g/100 g) - Essai interlaboratoire 2014</b>					
<b>Échantillon</b>	<b>PA1</b>	<b>PA2</b>	<b>PA3</b>	<b>PA4</b>	<b>PA5</b>
<b>Moyenne</b>	6.280	0.110	0.068	0.128	0.153
<b>N</b>	22	22	22	22	22
<b>Outliers</b>	1	1	2	2	0
<b>Sr</b>	0.052	0.007	0.006	0.004	0.007
<b>RSD<sub>r</sub>(%)</b>	0.8%	6.1%	9.3%	3.2%	4.8%
<b>R</b>	0.144	0.019	0.018	0.011	0.021
<b>S<sub>R</sub></b>	0.191	0.027	0.015	0.019	0.036
<b>RSD<sub>R</sub>(%)</b>	3.0%	24.2%	22.7%	14.7%	23.3%
<b>R</b>	0.535	0.074	0.043	0.053	0.100

<b>Acidité (acidité oléique g/100 g) - Essai interlaboratoire –2015</b>			
<b>Échantillon</b>	<b>PA6</b>	<b>PA7</b>	<b>PA8</b>
<b>Moyenne</b>	1.413	0.496	0.692
<b>N</b>	20	20	20
<b>Outliers</b>	2	3	2
<b>Sr</b>	0.005	0.006	0.008
<b>RSD<sub>r</sub>(%)</b>	0.4%	1.3%	1.1%
<b>R</b>	0.015	0.018	0.022
<b>S<sub>R</sub></b>	0.043	0.026	0.030
<b>RSD<sub>R</sub>(%)</b>	3.1%	5.3%	4.4%
<b>R</b>	0.121	0.074	0.085