

RÈGLEMENT D'EXÉCUTION (UE) N° 1348/2013 DE LA COMMISSION**du 16 décembre 2013****modifiant le règlement (CEE) n° 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) n° 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, points a) et h), en liaison avec son article 4,

considérant ce qui suit:

- (1) Le règlement (CEE) n° 2568/91 de la Commission ⁽²⁾ définit les caractéristiques chimiques et organoleptiques des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive ainsi que les méthodes permettant d'évaluer ces caractéristiques. Il convient d'actualiser ces méthodes ainsi que les valeurs limites relatives aux caractéristiques des huiles en tenant compte de l'avis des experts chimistes et en accord avec les travaux accomplis dans le cadre du Conseil oléicole international (ci-après «COI»).
- (2) Afin de garantir la mise en œuvre, dans l'Union, des normes internationales les plus récentes établies par le COI, il y a lieu de mettre à jour certaines méthodes d'analyse et certaines valeurs limites relatives aux caractéristiques des huiles qui figurent dans le règlement (CEE) n° 2568/91.
- (3) En conséquence, il convient d'adapter les valeurs limites pour les stigmastadiènes, les cires, l'acide myristique et les esters alkylés d'acides gras et de modifier en conséquence certains schémas décisionnels servant à vérifier si un échantillon d'huile d'olive correspond à la catégorie déclarée. Il y a lieu d'établir des schémas décisionnels pour le campesterol et le delta-7-stigmasténol et de prévoir des paramètres plus restrictifs, afin de faciliter les échanges et de garantir l'authenticité de l'huile d'olive, dans l'intérêt des consommateurs. La méthode d'analyse permettant de déterminer la composition et la teneur en stérols ainsi que la concentration d'érytrodiol et d'uvaol devrait être remplacée par une méthode plus fiable, couvrant également les diols triterpéniques. Il convient également de revoir l'évaluation organoleptique de l'huile d'olive et de prévoir une méthode pour détecter la présence d'huiles végétales étrangères dans l'huile d'olive.
- (4) Étant donné l'évolution des procédures relatives aux contrôles de conformité des huiles, la méthode d'échantillonnage de l'huile d'olive et des huiles de grignons d'olive devrait être adaptée en conséquence.
- (5) Il convient dès lors de modifier le règlement (CEE) n° 2568/91 en conséquence.

(6) Afin de prévoir une période d'adaptation aux nouvelles règles et de permettre la mise en place des moyens nécessaires à leur application, ainsi que pour ne pas perturber les transactions commerciales, il convient que les modifications prévues au présent règlement s'appliquent à compter du 1^{er} mars 2014. Pour les mêmes raisons, il convient de prévoir que les huiles d'olive et de grignons d'olive légalement fabriquées et étiquetées dans l'Union ou légalement importées dans l'Union et mises en libre pratique avant cette date puissent être commercialisées jusqu'à l'épuisement des stocks.

(7) Les mesures prévues au présent règlement sont conformes à l'avis du comité de gestion de l'organisation commune des marchés agricoles,

A ARRÊTÉ LE PRÉSENT RÈGLEMENT:

Article premier

Le règlement (CEE) n° 2568/91 est modifié comme suit:

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

«Article 2

1. Les caractéristiques des huiles définies à l'annexe I sont déterminées selon les méthodes d'analyse suivantes:

- a) pour la détermination des acides gras libres, exprimés en pourcentage d'acide oléique, la méthode figurant à l'annexe II;
- b) pour la détermination de l'indice de peroxyde, la méthode figurant à l'annexe III;
- c) pour la détermination de la teneur en cires, la méthode figurant à l'annexe IV;
- d) pour la détermination de la composition et de la teneur en stérols et en diols triterpéniques par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire, la méthode figurant à l'annexe V;
- e) pour la détermination du pourcentage de 2-glycérid monopalmitate, la méthode figurant à l'annexe VII;
- f) pour l'analyse spectrophotométrique, la méthode figurant à l'annexe IX;
- g) pour la détermination de la composition en acides gras, les méthodes figurant à l'annexe X A et à l'annexe X B;
- h) pour la détermination des solvants halogénés volatils, la méthode figurant à l'annexe XI;

⁽¹⁾ JO L 299 du 16.11.2007, p. 1.

⁽²⁾ Règlement (CEE) n° 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 y afférentes (JO L 248 du 5.9.1991, p.1).

- i) pour l'évaluation des caractéristiques organoleptiques des huiles d'olive vierges, la méthode figurant à l'annexe XII;
- j) pour la détermination des stigmastadiènes, la méthode figurant à l'annexe XVII;
- k) pour la détermination de la composition des triglycérides à ECN 42, la méthode figurant à l'annexe XVIII;
- l) pour la détermination de la teneur en alcools aliphatiques, la méthode figurant à l'annexe XIX;
- m) pour la détermination de la teneur en cires et en esters méthyliques ou éthyliques d'acides gras, la méthode figurant à l'annexe XX.

Pour détecter la présence d'huiles végétales étrangères dans les huiles d'olive, la méthode d'analyse figurant à l'annexe XX bis est appliquée.

2. La vérification par les autorités nationales ou leurs représentants des caractéristiques organoleptiques des huiles d'olive vierges est réalisée par des jurys de dégustateurs agréés par les États membres.

Les caractéristiques organoleptiques d'une huile d'olive visée au premier alinéa sont considérées comme conformes à la catégorie d'huile d'olive déclarée, si un jury agréé par l'État membre concerné confirme le classement à cet égard.

Dans le cas où le jury agréé ne confirme pas la catégorie déclarée en ce qui concerne les caractéristiques organoleptiques, les autorités nationales ou leurs représentants font procéder sans tarder, à la demande de l'intéressé, à deux contre-analyses par d'autres jurys agréés, dont au moins une est effectuée par un jury agréé par l'État membre producteur concerné. Les caractéristiques en question sont considérées comme conformes à celles qui sont déclarées si les deux contre-analyses confirment le classement déclaré. Dans le cas contraire, les frais des contre-analyses sont à la charge de l'intéressé.

3. Pour la vérification des caractéristiques des huiles par les autorités nationales ou leurs représentants suivant les dispositions du paragraphe 1, le prélèvement des échantillons s'effectue conformément aux normes internationales EN ISO 661 et EN ISO 5555 concernant respectivement la préparation des échantillons pour essai et l'échantillonnage. Toutefois, par dérogation au point 6.8 de la norme EN ISO 5555, dans le cas de lots desdites huiles, en conditionnement primaire, le prélèvement des échantillons s'effectue conformément à l'annexe I bis du présent règlement. Dans le cas des huiles en vrac où l'échantillonnage ne peut être réalisé conformément à la norme EN ISO 5555, les échantillons sont prélevés conformément aux instructions fournies par l'autorité compétente de l'État membre.

Sans préjudice des dispositions de la norme EN ISO 5555 et du chapitre 6 de la norme EN ISO 661, les échantillons sont mis à l'abri de la lumière et des fortes chaleurs dans les plus brefs délais et sont envoyés au laboratoire pour les analyses au plus tard le cinquième jour ouvrable suivant celui de leur prélèvement, ou bien sont conservés de manière à éviter leur dégradation ou leur endommagement lors du transport ou du stockage avant d'être envoyés au laboratoire.

4. Aux fins de la vérification prévue au paragraphe 3, les analyses visées aux annexes II, III, IX, XII et XX, ainsi que, le cas échéant, les contre-analyses requises en vertu de la législation nationale, sont effectuées, dans le cas des produits conditionnés, avant la date de durabilité minimale. En cas d'échantillonnage d'huiles en vrac, ces analyses sont effectuées au plus tard le sixième mois suivant celui du prélèvement.

Aucun délai ne s'applique pour les autres analyses prévues par ledit règlement.

Sauf si l'échantillon a été prélevé moins de deux mois avant la date de durabilité minimale, lorsque les résultats des analyses ne correspondent pas aux caractéristiques de la catégorie d'huile d'olive ou de grignons d'olive déclarée, l'intéressé en est informé au plus tard un mois avant la fin du délai visé au premier alinéa.

5. Pour la détermination des caractéristiques des huiles d'olive par les méthodes prévues au paragraphe 1, premier alinéa, les résultats des analyses sont directement comparés avec les limites fixées par le présent règlement.»

- 2) L'annexe I est remplacée par le texte figurant à l'annexe I du présent règlement.
- 3) L'annexe I bis est remplacée par le texte figurant à l'annexe II du présent règlement.
- 4) L'annexe I ter est remplacée par le texte figurant à l'annexe III du présent règlement.
- 5) L'annexe V est remplacée par le texte figurant à l'annexe IV du présent règlement.
- 6) L'annexe VI est supprimée.
- 7) L'annexe XII est remplacée par le texte figurant à l'annexe V du présent règlement.
- 8) L'annexe XX bis, dont le texte figure à l'annexe VI du présent règlement, est ajoutée après l'annexe XX.

Article 2

Les produits légalement fabriqués et étiquetés dans l'Union ou légalement importés dans l'Union et mis en libre pratique avant le 1^{er} mars 2014 peuvent être commercialisés jusqu'à l'épuisement des stocks.

Article 3

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 1^{er} mars 2014.

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

Fait à Bruxelles, le 16 décembre 2013.

Par la Commission

Le président

José Manuel BARROSO

ANNEXE I

«ANNEXE 1

CARACTÉRISTIQUES DES HUILES D'OLIVE

Catégorie	Esters éthyliques d'acides gras (EEAG) mg/kg (*)	Acidité (%) (*)	Indice de peroxyde mEq O ₂ /kg (*)	Cires mg/kg (**)	2 glycéryl monopalmitate (%)	Stigmastadiènes mg/kg (1)	Différence: ECN42 (HPLC) et ECN42 (2) (calcul théorique)	K ₂₃₂ (*)	K ₂₆₈ ou K ₂₇₀ (*)	Delta-K (*)	Évaluation organoleptique Médiane du défaut (Md) (*)	Évaluation organolep- tique Médiane du fruité (Mf) (*)
1. Huile d'olive vierge extra	EEAG ≤ 40 (campagne 2013- 2014) (3) EEAG ≤ 35 (campagne 2014-2015) EEAG ≤ 30 (campagnes postérieures à 2015)	≤ 0,8	≤ 20	C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 150	≤ 0,9 si % acide palmitique total ≤ 14 %	≤ 0,05	≤ 0,2	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Md = 0	Mf > 0
					≤ 1,0 si % acide palmitique total % > 14 %							
2. Huile d'olive vierge	—	≤ 2,0	≤ 20	C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 150	≤ 0,9 si % acide palmitique total ≤ 14 %	≤ 0,05	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Md ≤ 3,5	Mf > 0
					≤ 1,0 si % acide palmitique total % > 14 %							
3. Huile d'olive lampante	—	> 2,0	—	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 300 (4)	≤ 0,9 si % acide palmitique total ≤ 14 %	≤ 0,50	≤ 0,3	—	—	—	Md = 3,5 (5)	—
					≤ 1,1 si % acide palmitique total % > 14 %							
4. Huile d'olive raffinée	—	≤ 0,3	≤ 5	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 350	≤ 0,9 si % acide palmitique total ≤ 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 1,10	≤ 0,16	—	—
					≤ 1,1 si % acide palmitique total % > 14 %							

Catégorie	Esters éthyliques d'acides gras (EEAG) mg/kg (*)	Acidité (%) (*)	Indice de peroxyde mEq O ₂ /kg (*)	Cires mg/kg (**)	2 glycéryl monopalmitate (%)	Stigmastadiènes mg/kg ⁽¹⁾	Différence: ECN42 (HPLC) et ECN42 ⁽²⁾ (calcul théorique)	K ₂₃₂ (*)	K ₂₆₈ ou K ₂₇₀ (*)	Delta-K (*)	Évaluation organoleptique Médiane du défaut (Md) (*)	Évaluation organoleptique Médiane du fruité (Mf) (*)
5. Huile d'olive composée d'huile d'olive raffinée et d'huile d'olive vierge	—	≤ 1,0	≤ 15	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ ≤ 350	≤ 0,9 si % acide palmitique total ≤ 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 0,90	≤ 0,15	—	—
					≤ 1,0 si % acide palmitique total > 14 %							
6. Huile de grignons d'olive brute	—	—	—	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ > 350 ⁽⁶⁾	≤ 1,4	—	≤ 0,6	—	—	—	—	—
7. Huile de grignons d'olive raffinée	—	≤ 0,3	≤ 5	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ > 350	≤ 1,4	—	≤ 0,5	—	≤ 2,00	≤ 0,20	—	—
8. Huile de grignons d'olive	—	≤ 1,0	≤ 15	C ₄₀ + C ₄₂ + C ₄₄ + C ₄₆ > 350	≤ 1,2	—	≤ 0,5	—	≤ 1,70	≤ 0,18	—	—

⁽¹⁾ Somme des isomères qui pourraient (ou pas) être séparés par colonne capillaire.

⁽²⁾ L'huile d'olive doit être conforme à la méthode figurant à l'annexe XX bis.

⁽³⁾ Cette limite s'applique aux huiles d'olive produites à partir du 1^{er} mars 2014

⁽⁴⁾ Les huiles dont la teneur en cires est comprise entre 300 et 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 la proportion d'érythrodiol et d'uvaol est inférieure ou égale à 3,5 %.

⁽⁵⁾ Ou lorsque la médiane des défauts est supérieure à 3,5, ou lorsqu'elle est inférieure ou égale à 3,5 et que la médiane du fruité est égale à 0.

⁽⁶⁾ 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 la proportion d'érythrodiol et d'uvaol est supérieure à 3,5 %.

Catégorie	Composition en acides gras ⁽¹⁾						Sommes des isomères trans-oléiques (%)	Sommes des isomères translinoléiques + translinoléiques (%)	Composition en stérols						Stérols totaux (mg/kg)	érythrodiol et uvaol (%) ^(**)
	myristique (%)	linolé-nique (%)	arachi-dique (%)	eicosa-noïque (%)	béhénique (%)	lignocé-rique (%)			cholestérol (%)	Brassi-castérol (%)	Campest-é-rol ⁽²⁾ (%)	stigma-s-térol (%)	sitostérol app. (%) ⁽³⁾	delta-7-stigma-s-térol ⁽²⁾ (%)		
1. Huile d'olive vierge extra	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
2. Huile d'olive vierge	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,05	≤ 0,05	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
3. Huile d'olive lampante	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5 ⁽⁴⁾
4. Huile d'olive raffinée	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5

Catégorie	Composition en acides gras ⁽¹⁾						Sommes des isomères trans-oléiques (%)	Sommes des isomères translinoléiques + translinoléiques (%)	Composition en stérols						Stérols totaux (mg/kg)	érythrodiol et uvaol (%) ^(**)
	myristique (%)	linoléique (%)	arachidique (%)	eicosanoïque (%)	béhenique (%)	lignocérique (%)			cholestérol (%)	Brassicastérol (%)	Campestérol ⁽²⁾ (%)	stigmatérol (%)	sitostérol app. (%) ⁽³⁾	delta-7-stigmastérol ⁽²⁾ (%)		
5. Huile d'olive composée d'huile d'olive raffinée et d'huile d'olive vierge	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,30	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
6. Huile de grignons d'olive brute	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,20	≤ 0,10	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 2 500	> 4,5 ⁽⁵⁾
7. Huile de grignons d'olive raffinée	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 800	> 4,5
8. Huile de grignons d'olive	≤ 0,03	≤ 1,00	≤ 0,60	≤ 0,40	≤ 0,30	≤ 0,20	≤ 0,40	≤ 0,35	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 600	> 4,5

⁽¹⁾ Teneur en autres acides gras (%): palmitique: 7,50-20,00; palmitoléique: 0,30-3,50; heptadécanoïque: ≤ 0,30; heptadécénoïque: ≤ 0,30; stéarique: 0,50-5,00; oléique: 55,00-83,00; linoléique: 3,50-21,00.

⁽²⁾ Voir l'appendice de la présente annexe.

⁽³⁾ β-sitostérol App.: delta-5,23-stigmastadiénol+clérostérol+béta-sitostérol+sitostanol+delta-5-avenastérol+delta-5,24-stigmastadiénol.

⁽⁴⁾ Les huiles dont la teneur en cires est comprise entre 300 et 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 la proportion d'érythrodiol et d'uvaol est inférieure ou égale à 3,5 %.

⁽⁵⁾ Les huiles dont la teneur en cires est comprise entre 300 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 la proportion d'érythrodiol et d'uvaol est supérieure à 3,5 %.

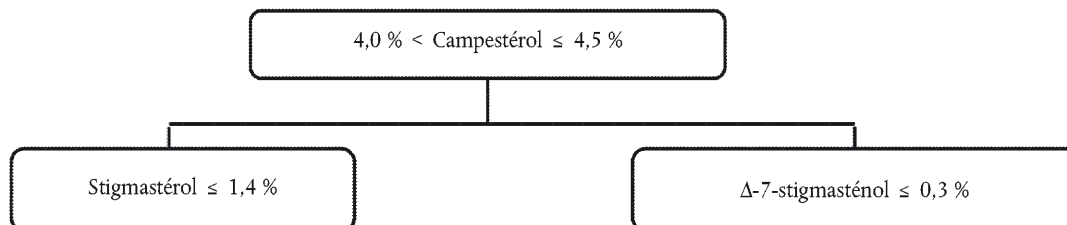
Notes:

- Les résultats des analyses doivent être exprimés en indiquant le même nombre de décimales que pour les valeurs de chaque caractéristique. Le dernier chiffre doit être augmenté d'une unité si le chiffre suivant dépasse 4.
- Il suffit qu'une seule caractéristique ne corresponde pas aux valeurs indiquées pour que l'huile change de catégorie ou soit déclarée non conforme quant à sa pureté aux fins du présent règlement.
- Les caractéristiques marquées d'un astérisque (*), se référant à la qualité de l'huile, indiquent, dans le cas de l'huile d'olive lampante, qu'il est possible que les deux limites pertinentes diffèrent simultanément des valeurs indiquées; — dans le cas des huiles d'olive vierges, que si au moins une de ces limites diffère des valeurs indiquées, l'huile change de catégorie tout en restant classée dans une des catégories d'huiles d'olive vierges.
- Les caractéristiques marquées de deux astérisques (**) indiquent, pour tous les types d'huiles de grignons d'olive, qu'il est possible que les deux limites pertinentes diffèrent simultanément des valeurs indiquées.

Appendice

Schéma décisionnel

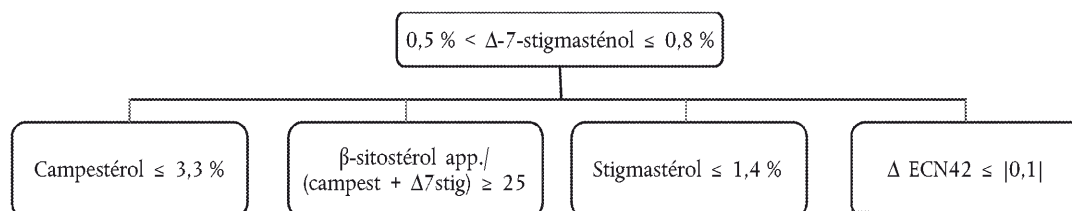
Schéma décisionnel du **campestérol** pour l'huile d'olive vierge et l'huile d'olive vierge extra:



Les autres paramètres sont conformes aux limites fixées dans le présent règlement.

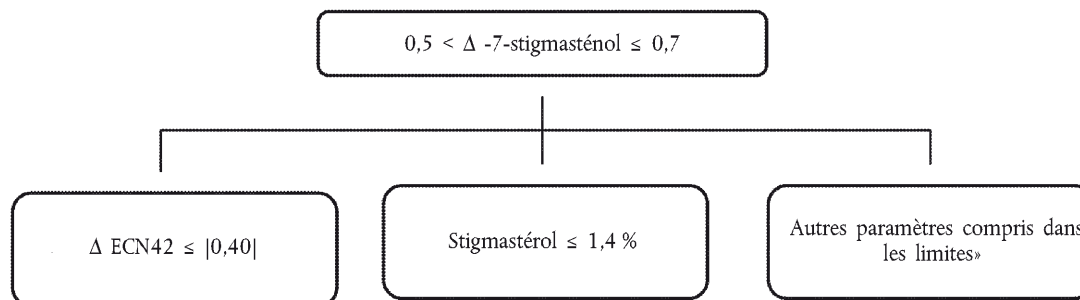
Schéma décisionnel du **delta-7-stigmastérol** pour:

— les huiles d'olive vierges et vierges extra



Les autres paramètres sont conformes aux limites fixées dans le présent règlement.

— les huiles de grignons d'olive (brutes et raffinées)



ANNEXE II

«ANNEXE I bis

ÉCHANTILLONNAGE DES HUILES D'OLIVE OU DES HUILES DE GRIGNONS D'OLIVE LIVRÉES EN CONDITIONNEMENT PRIMAIRE

La présente méthode d'échantillonnage s'applique aux lots d'huile d'olive ou de grignons d'olive en conditionnement primaire. Des méthodes d'échantillonnage différentes s'appliquent selon que le conditionnement primaire dépasse ou non 5 litres.

On entend par «lot», un ensemble d'unités de vente qui sont produites, fabriquées et conditionnées dans des circonstances telles que l'huile contenue dans chacune de ces unités de vente est considérée comme homogène pour toutes les caractéristiques analytiques. L'individualisation d'un lot doit être réalisée conformément à la directive 2011/91/UE du Parlement européen et du Conseil ⁽¹⁾.

On entend par «prélèvement élémentaire», la quantité d'huile contenue dans un conditionnement primaire et prélevée en un point aléatoire du lot.

1. CONTENU D'UN ÉCHANTILLON ÉLÉMENTAIRE**1.1. Conditionnement primaire ne dépassant pas 5 litres**

on entend par «échantillon élémentaire», dans le cas d'un conditionnement primaire ne dépassant pas 5 litres, le nombre de prélèvements élémentaires effectués sur un lot et conformes au tableau 1.

Tableau 1

Taille minimale des prélèvements élémentaires

Si le conditionnement primaire a une capacité	L'échantillon primaire doit être constitué de l'huile provenant de
a) égale ou supérieure à 1 litre	a) 1 conditionnement primaire;
b) inférieure à 1 litre	b) le nombre minimal de conditionnements donnant une capacité totale d'au moins 1,0 litre

Le nombre de conditionnements visé au tableau 1, constituant un échantillon primaire, peut être augmenté par chaque État membre, en fonction de ses propres besoins (par exemple, évaluation organoleptique réalisée par un laboratoire différent de celui qui a effectué les analyses chimiques, les contre-analyses, etc.).

1.2. Conditionnement primaire de plus de 5 litres

On entend par «échantillon élémentaire», dans le cas d'un conditionnement primaire de plus de 5 litres, une partie représentative de l'ensemble des prélèvements élémentaires, obtenue par un processus de réduction et conforme au tableau 2. L'échantillon élémentaire doit être composé de plusieurs exemplaires.

On entend par «exemplaire» d'un échantillon élémentaire, chacun des conditionnements composant l'échantillon élémentaire.

Tableau 2

Nombre minimal de prélèvements élémentaires à sélectionner

Nombre de conditionnements compris dans le lot	Nombre minimal de prélèvements élémentaires à sélectionner
Jusqu'à 10	1
Entre ... 11 et 150	2
Entre ... 151 et 500	3
Entre ... 501 et 1 500	4
Entre ... 1 501 et 2 500	5
> 2 500 pour 1 000 conditionnements	1 prélèvement élémentaire supplémentaire

⁽¹⁾ Directive 2011/91/UE du Parlement européen et du Conseil du 13 décembre 2011 relative aux mentions ou marques permettant d'identifier le lot auquel appartient une denrée alimentaire (JO L 334 du 16.12.2011, p. 1).

Afin de réduire le volume d'échantillonnage des conditionnements primaires, le contenu des prélèvements élémentaires est homogénéisé pour préparer l'échantillon élémentaire. Les fractions des différents prélèvements élémentaires sont versées dans un même conteneur en vue d'une homogénéisation par agitation, de façon à garantir une protection optimale contre l'air.

Le contenu de l'échantillon élémentaire doit être versé dans une série de conditionnements d'une capacité minimale de 1,0 litre, constituant chacun un exemplaire de l'échantillon élémentaire.

Le nombre d'échantillons élémentaires peut être augmenté par chaque État membre, en fonction de ses propres besoins (par exemple, évaluation organoleptique réalisée par un laboratoire différent de celui qui a effectué les analyses chimiques, les contre-analyses, etc.).

Chaque conditionnement doit être rempli de manière à réduire au minimum la couche d'air superficielle, puis convenablement fermé et scellé afin de protéger le produit contre toute falsification.

Ces exemplaires doivent être étiquetés afin de permettre leur identification.

2. ANALYSES ET RÉSULTATS

- 2.1. Chaque échantillon élémentaire doit être subdivisé en échantillons de laboratoire, conformément au point 2.5 de la norme EN ISO 5555, puis soumis à des analyses dans l'ordre indiqué par le schéma décisionnel figurant à l'annexe IB ou dans un ordre aléatoire.
- 2.2. Lorsque tous les résultats des analyses concordent avec les caractéristiques de la catégorie d'huile déclarée, l'ensemble du lot est déclaré conforme.

Il suffit qu'un seul résultat d'analyse ne concorde pas avec les caractéristiques de la catégorie d'huile déclarée pour que l'ensemble du lot soit déclaré non conforme.

3. VÉRIFICATION DE LA CATÉGORIE DU LOT

- 3.1. Afin de vérifier la catégorie du lot, l'autorité compétente peut augmenter le nombre d'échantillons élémentaires prélevés en différents points du lot conformément au tableau suivant:

Tableau 3

Nombre d'échantillons élémentaires, déterminé par la taille du lot

Taille du lot (en litres)	Nombre d'échantillons élémentaires
moins de 7 500	2
entre 7 500 et moins de 25 000	3
entre 25 000 et moins de 75 000	4
entre 75 000 et moins de 125 000	5
125 000 et plus	6 + 1 tous les 50 000 litres supplémentaires

Chaque prélèvement élémentaire constituant un échantillon élémentaire doit être prélevé au même endroit dans le lot; il est nécessaire de relever l'emplacement de chaque échantillon élémentaire et de repérer celui-ci sans ambiguïté.

Chaque échantillon élémentaire doit être constitué conformément aux procédures visées aux points 1.1 et 1.2.

Chaque échantillon élémentaire est ensuite soumis aux analyses visées à l'article 2, paragraphe 1.

- 3.2. Lorsqu'un des résultats des analyses visées à l'article 2, paragraphe 1, d'au moins un échantillon élémentaire ne correspond pas aux caractéristiques de la catégorie d'huile déclarée, l'ensemble du lot est déclaré non conforme.»

ANNEXE III

«ANNEXE I ter

SCHEMA DÉCISIONNEL POUR LA VÉRIFICATION DE LA CONFORMITÉ D'UN ÉCHANTILLON D'HUILE D'OLIVE À LA CATÉGORIE DÉCLARÉE

Tableau 1

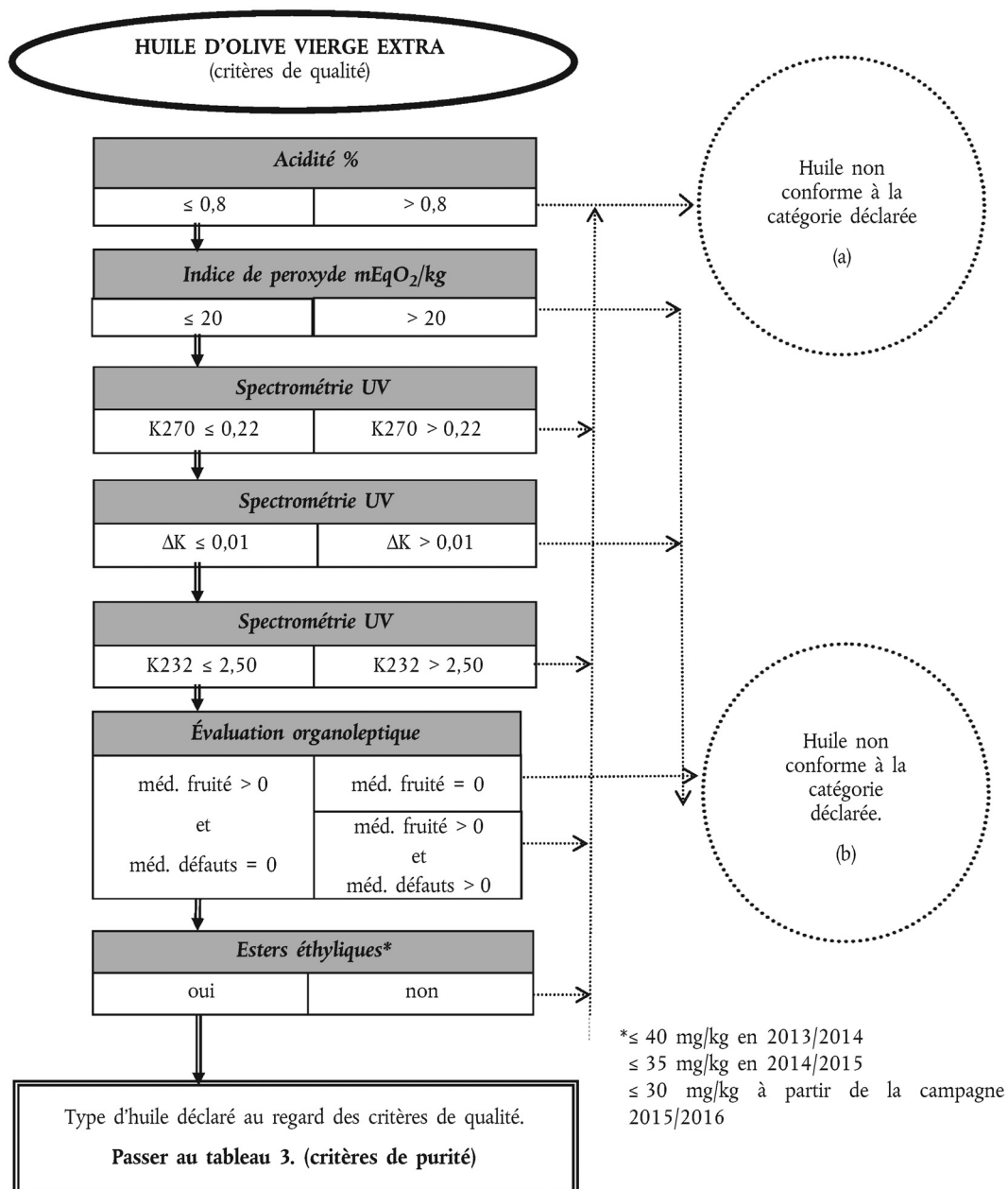


Tableau 2

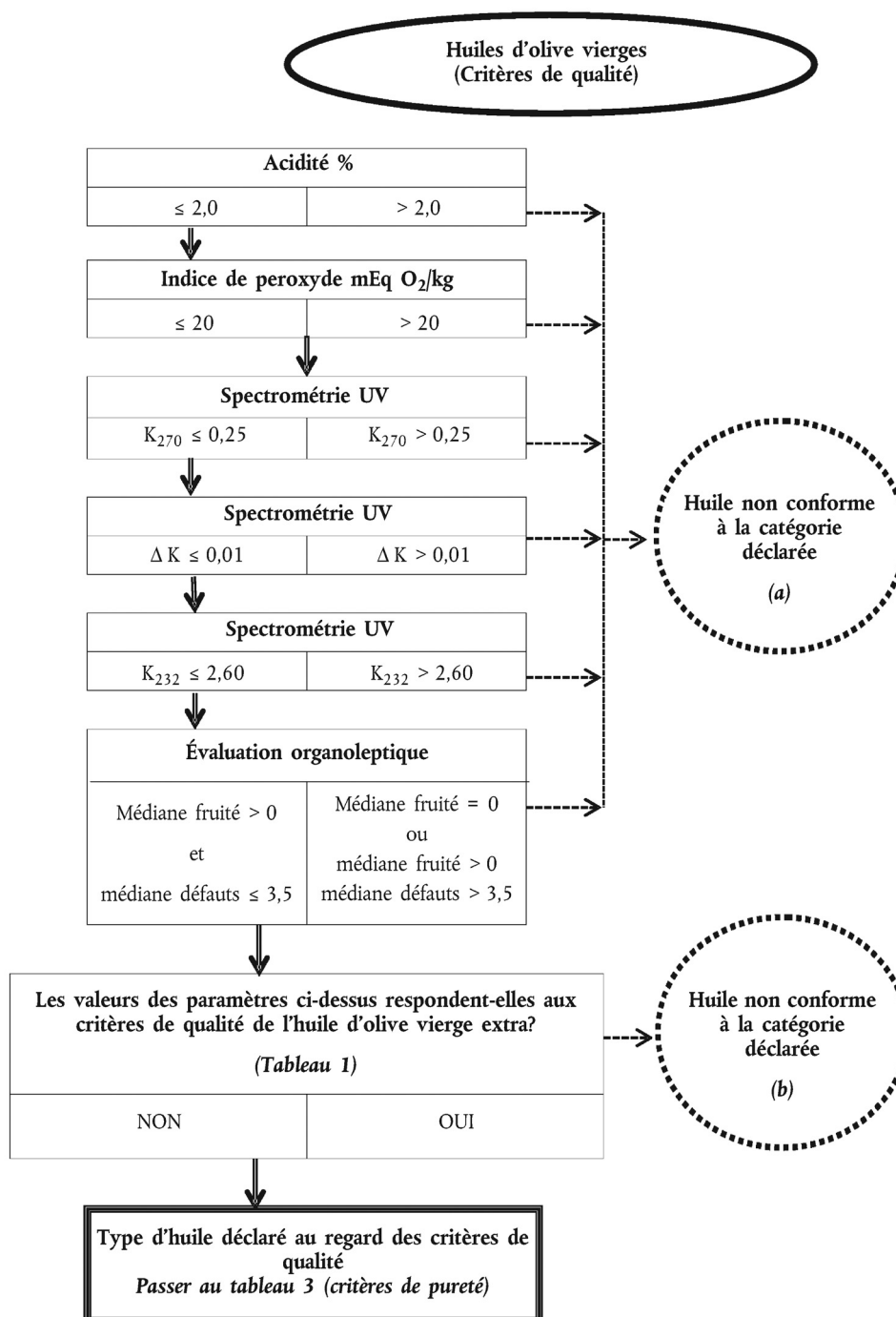
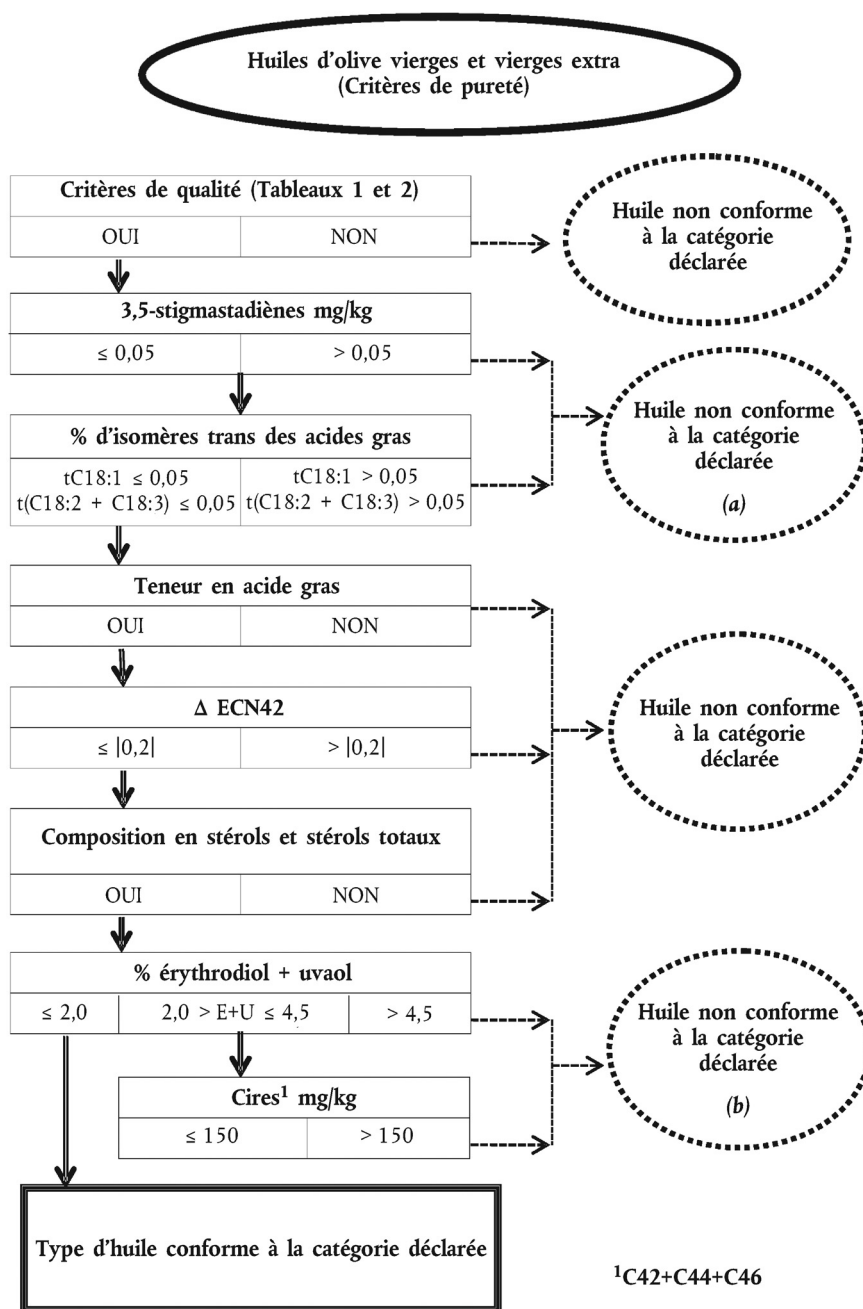


Tableau 3



Appendice 1

Correspondance entre les annexes du présent règlement et les analyses indiquées dans le schéma décisionnel

— Acidité	Annexe II	Détermination des acides gras libres, méthode à froid
— Indice de peroxyde	Annexe III	Détermination de l'indice de peroxyde
— Spectrométrie UV	Annexe IX	Analyse spectrophotométrique
— Évaluation organoleptique	Annexe XII	Évaluation organoleptique de l'huile d'olive vierge
— Esters éthyliques	Annexe XX	Méthode de détermination de la teneur en cires et en esters méthyl- liques et éthyliques d'acides gras par chromatographie gazeuse sur colonne capillaire
— 3,5-stigmastadiènes	Annexe XVII	Méthode de détermination des stigamastadiènes dans les huiles végé- tales
— Isomères trans des acides gras	ANNEXE X «A» et	Analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras
	ANNEXE X «B»	Préparation des esters méthyliques d'acides gras
— Teneur en acides gras	ANNEXE X «A» et	Analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras
	ANNEXE X «B»	Préparation des esters méthyliques d'acides gras
— ΔECN42	Annexe XVIII	Détermination de la composition des triglycérides à ECN42 (différence entre les résultats en CLHP et composition théorique)
— Composition en stérols et stérols totaux — Érythrodiol et uvaol	Annexe V	Détermination de la composition et de la teneur en stérols et en diols triterpéniques par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire
— Cires	Annexe IV	Détermination de la teneur en cires par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire
— Alcools aliphatiques	Annexe XIX	Détermination de la teneur en alcools aliphatiques par chromato- graphie en phase gazeuse sur colonne capillaire
— Acides gras saturés en position 2	Annexe VII	Détermination du pourcentage de 2-glycéryl monopalmitate»

ANNEXE IV

«ANNEXE V

**DÉTERMINATION DE LA COMPOSITION ET DE LA TENEUR EN STÉROLS ET EN DIOLS TRITERPÉNIQUES
PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE SUR COLONNE CAPILLAIRE****1. CHAMP D'APPLICATION**

La méthode décrit le procédé de détermination de la teneur en chaque stérol et en stérols totaux ainsi qu'en diols triterpéniques des huiles d'olive et de grignons d'olive.

2. PRINCIPE

L'huile, additionnée d' α -cholestanol en tant qu'étalon interne, est saponifiée avec de l'hydroxyde de potassium en solution dans de l'éthanol, puis l'insaponifiable est extrait avec de l'éther éthylique.

La fraction des stérols et des diols triterpéniques est séparée de l'insaponifiable par chromatographie en couche mince sur une plaque de gel de silice basique; les fractions récupérées dans le gel de silice sont transformées en triméthylsilyléthers qui sont ensuite analysés par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire.

3. APPAREILLAGE

Matériel courant de laboratoire, et notamment les éléments suivants:

- 3.1. Ballon de 250 millilitres muni d'un réfrigérant à reflux avec embouts rodés.
 - 3.2. Ampoule à décanter de 500 ml
 - 3.3. Ballons de 250 ml.
 - 3.4. Équipement complet pour chromatographie en couche mince, avec plaques de verre de 20 × 20 cm.
 - 3.5. Lampe à lumière ultraviolette d'une longueur d'onde de 254 ou 366 nm.
 - 3.6. Microseringues de 100 et 500 μ l.
 - 3.7. Ampoule cylindrique filtrante à filtre poreux G 3 (porosité 15-40 μ m) d'environ 2 cm de diamètre et 5 cm de hauteur, appropriée pour la filtration sous vide, avec embout rodé mâle.
 - 3.8. Fiole à vide conique de 50 ml avec embout rodé femelle, pouvant s'adapter sur l'ampoule filtrante (point 3.7).
 - 3.9. Tube à fond conique de 10 millilitres, avec bouchon hermétique en verre.
 - 3.10. Appareil de chromatographie en phase gazeuse pouvant être utilisé sur une colonne capillaire avec dispositif d'injection à débit divisé, composé des éléments suivants:
 - 3.10.1. un four thermostaté pour les colonnes, pouvant maintenir la température souhaitée avec une précision de ± 1 °C;
 - 3.10.2. un ensemble d'injection thermoréglable avec élément vaporisateur en verre persilylaté et système à débit divisé;
 - 3.10.3. Détecteur à ionisation de flamme;
 - 3.10.4. Système d'acquisition des données pouvant être utilisé avec l'analyseur FID (point 3.10.3.), avec possibilité d'intégration manuelle.
 - 3.11. Colonne capillaire en silice fondue d'une longueur de 20 à 30 m, d'un diamètre interne compris entre 0,25 et 0,32 mm, recouverte de 5 % diphenyle - 95 % diméthylpolysiloxane (phase stationnaire SE-52 ou SE-54 ou équivalent) jusqu'à obtention d'une épaisseur uniforme comprise entre 0,10 et 0,30 μ m.
 - 3.12. Microseringue d'une capacité de 10 μ l, pour chromatographie en phase gazeuse, avec aiguille soudée, convenant pour l'injection à débit divisé.
 - 3.13. Dessiccateur au dichlorure de calcium
- 4. RÉACTIFS**
- 4.1. Hydroxyde de potassium (titre minimum 85 %).

- 4.2. Hydroxyde de potassium en solution éthanolique à environ 2 N.
Dissoudre, tout en refroidissant, 130 g d'hydroxyde de potassium (point 4.1) dans 200 ml d'eau distillée, puis compléter à un litre avec de l'éthanol (point 4.10). Conserver cette solution dans des bouteilles en verre sombre bien fermées pendant deux jours au maximum.
- 4.3. Éther éthylique, de qualité analytique.
- 4.4. Hydroxyde de potassium en solution éthanolique à environ 0,2 N.
Dissoudre 13 g d'hydroxyde de potassium (point 4.1) dans 20 ml d'eau distillée, puis compléter à un litre avec de l'éthanol (point 4.10).
- 4.5. Sulfate de sodium anhydre, de qualité analytique.
- 4.6. Plaques de verre (20 x 20 cm) recouvertes d'une couche de gel de silice, sans indicateur de fluorescence, d'une épaisseur de 0,25 millimètre d'épaisseur (disponibles dans le commerce déjà prêtes à l'emploi).
- 4.7. Toluène, de qualité chromatographique.
- 4.8. Acétone, de qualité chromatographique.
- 4.9. n-Hexane, de qualité chromatographique.
- 4.10. Éther éthylique, de qualité chromatographique.
- 4.11. Éthanol, de qualité analytique.
- 4.12. Acétate d'éthyle, de qualité analytique.
- 4.13. Solution de référence pour la chromatographie en couche mince: cholestérol ou phytostérols, et solution d'érythrodiol à 5 % dans de l'acétate d'éthyle (point 4.11).
- 4.14. Dichloro-2' -7' fluorescéine, solution éthanolique à 0,2 %. Elle est rendue légèrement basique par addition de quelques gouttes d'une solution alcoolique 2N d'hydroxyde de potassium (point 4.2).
- 4.15. Pyridine anhydre, de qualité chromatographique (voir note 5).
- 4.16. Disilazane d'hexaméthyle, de qualité analytique.
- 4.17. Triméthylchlorosilane, de qualité analytique.
- 4.18. Solutions échantillons des triméthylsilyléthers des stérols.
À préparer au moment de l'emploi à partir des stérols et de l'érythrodiol tirés des huiles qui les contenaient.
- 4.19. α -cholestanol, de pureté supérieure à 99 % (la pureté doit être vérifiée par analyse chromatographique en phase gazeuse).
- 4.20. Solution étalon interne d' α -cholestanol à 0,2 % (m/V) dans de l'acétate d'éthyle (point 4.11).
- 4.21. Solution de phénolphthaléine, 10 g/l dans l'éthanol (point 4.10).
- 4.22. Gaz vecteur: hydrogène ou hélium pur, pour chromatographie en phase gazeuse.
- 4.23. Gaz auxiliaires: hydrogène, hélium, azote et air, pour chromatographie en phase gazeuse.
- 4.24. Mélange 65:35 (V/V) n-Hexane (point 4.9)/éther éthylique (point 4.10).
- 4.25. Réactif de silylation, constitué d'un mélange 9: 3: 1 (V/V/V) de pyridine/hexaméthylidisilazane/triméthylchlorosilane.
5. MODE OPÉRATOIRE
- 5.1. Préparation de l'insaponifiable:
- 5.1.1. À l'aide d'une microseringue de 500 μ l (point 3.6) introduire dans le ballon de 250 ml (point 3.1) un volume de la solution étalon interne d' α -cholestanol (point 4.20) contenant une quantité de cholestanol correspondant approximativement à 10 % de la teneur en stérol de l'échantillon. Par exemple, pour 5 g d'échantillon d'huile d'olive, ajouter 500 μ l de la solution d' α -cholestanol (point 4.20), et 1 500 μ l dans le cas d'huile de grignons d'olive. Laisser évaporer complètement sous un léger courant d'azote dans un bain d'eau tiède, jusqu'à dessiccation; après refroidissement du ballon, peser $5 \pm 0,01$ g d'échantillon filtré et sec dans le même ballon.

Note 1: les huiles et les graisses animales ou végétales contenant de grandes quantités de cholestérol peuvent présenter un pic dont le temps de rétention est proche de celui du cholestanol. En pareil cas, la fraction stérolique devra être analysée deux fois, avec et sans étalon interne.

- 5.1.2. Ajouter 50 ml de solution éthanolique 2N d'hydroxyde de potassium (point 4.2) et un peu de poudre de ponce; mettre en place le réfrigérant à reflux et porter à ébullition jusqu'à la saponification (la solution devient limpide). Continuer à chauffer pendant 20 minutes, puis verser 50 ml d'eau distillée du haut du réfrigérant. Débrancher le réfrigérant et laisser refroidir le ballon à environ 30 °C.

- 5.1.3. Transvaser le contenu du ballon quantitativement dans une ampoule à décanter de 500 ml (point 3.2) en faisant plusieurs lavages à l'eau distillée (50 ml). Ajouter environ 80 ml d'éther éthylique (point 4.10) et agiter énergiquement durant environ 60 secondes. Décompresser régulièrement en retournant le décanteur et en ouvrant le robinet. Laisser reposer jusqu'à séparation complète des deux phases (Note 2).

Extraire ensuite la solution savonneuse le plus complètement possible dans un deuxième décanteur. Faire encore deux extractions sur la phase hydro-alcoolique, selon les mêmes modalités, en utilisant 60 à 70 ml d'éther éthylique (point 4.10).

Note 2: les émulsions peuvent être éliminées en ajoutant de petites quantités d'éthanol (point 4.11).

- 5.1.4. Verser les trois extraits d'éther dans une ampoule à décanter contenant 50 ml d'eau. Laver à l'eau (50 ml) jusqu'à ce que la coloration rose de l'eau disparaisse lorsqu'une goutte de solution de phénolphtaléine est ajoutée (point 4.21).

Après élimination de l'eau de lavage, filtrer sur du sulfate de sodium anhydre (point 4.5) dans un ballon de 250 ml préalablement pesé, en lavant l'ampoule et le filtre avec de petites quantités d'éther éthylique (point 4.10).

- 5.1.5. Évaporer le solvant par distillation avec un évaporateur rotatif à 30 °C sous vide. Ajouter 5 ml d'acétone et éliminer complètement le solvant volatil sous un léger courant d'air. Sécher le résidu à l'étuve à 103±2 °C pendant 15 min. Faire refroidir dans un dessiccateur et peser à 0,1 mg près.

- 5.2. Séparation de la fraction des stérols et diols triterpéniques (érytrodinol + uvaol)

- 5.2.1. Préparation des plaques basiques de chromatographie sur couche mince. Enfoncer les plaques de gel de silice (point 4.6) dans environ 4 cm de solution éthanolique d'hydroxyde de potassium 0,2 N (point 4.5) pendant 10 secondes, puis les laisser sécher dans une hotte pendant deux heures avant de les placer dans une étuve à 100 °C pendant une heure.

Sortir les plaques de l'étuve et les conserver dans un dessiccateur au chlorure de calcium (point 3.13) jusqu'au moment de l'emploi (les plaques ainsi traitées doivent être employées dans les quinze jours).

Note 3: si des plaques de gel de silice basiques sont utilisées pour la séparation de la fraction stérolique, 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 et la bande des stérols se distingue nettement de celle des alcools aliphatiques et triterpéniques.

- 5.2.2. Introduire le mélange hexane/éther éthylique (point 4.24) (Note 4) dans la cuve de développement, à une profondeur d'environ 1 cm. Fermer la cuve à l'aide du couvercle approprié et laisser ainsi pendant au moins une demi-heure, dans un endroit frais, de façon à ce que l'équilibre liquide/vapeur s'établisse. Il est possible de fixer sur la surface intérieure de la cuve des bandes de papier filtre et de les faire tremper dans l'éluant. Cette précaution permet de réduire d'un tiers environ le temps de développement et d'obtenir une élution plus uniforme des composants.

Note 4: Afin d'avoir des conditions d'élution parfaitement reproductibles, le mélange doit être renouvelé à chaque essai. Un solvant n-hexane/éther éthylique 50:50 (V/V) peut également être utilisé.

- 5.2.3. Préparer une solution à 5 % environ d'insaponifiable (point 5.1.5) dans l'acétate d'éthyle (point 4.12) et, à l'aide de la microseringue de 100 µl, déposer 0,3 ml de cette solution en une ligne continue fine et uniforme à l'extrémité inférieure (2 cm) de la plaque chromatographique (point 5.2.1). À la hauteur de cette ligne, déposer 2 à 3 µl de la solution de référence (point 4.13) afin de pouvoir repérer la bande des stérols et des diols triterpéniques après développement.

- 5.2.4. Mettre la plaque dans la cuve de développement préparée comme indiqué au paragraphe 5.2.2. La température ambiante doit être maintenue entre 15 et 20 °C (Note 5). 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. Sortir ensuite la plaque de la cuve de développement et faire évaporer le solvant dans un courant d'air chaud ou bien en laissant la plaque sous hotte pendant un petit moment.

Note 5: des températures plus élevées pourraient être moins favorables à la séparation.

- 5.2.5. Vaporiser la plaque légèrement et uniformément avec la solution de 2,7-dichlorofluorescéine (point 4.14), puis laisser sécher. Sur la plaque observée en lumière UV, les bandes des stérols et des diols triterpéniques peuvent être identifiées par alignement avec les taches obtenues à l'aide de la solution de référence (point 4.13). Délimiter les bandes avec un crayon noir en suivant les bords de la fluorescence (voir plaque chromatographique, figure 3).

- 5.2.6. À l'aide d'une spatule métallique, racler le gel de silice présent dans la zone délimitée. Introduire la matière finement broyée retirée dans l'ampoule filtrante (point 3.7). Ajouter 10 ml d'acétate d'éthyle chaud (point 4.12), mélanger soigneusement avec la spatule métallique et filtrer sous vide, puis recueillir le filtrat dans la fiole (point 3.8) reliée à l'ampoule filtrante.

Laver le résidu dans l'ampoule par trois fois à l'éther éthylique (point 4.3) (environ 10 ml à chaque fois) et recueillir le filtrat dans la même fiole adaptée à l'ampoule filtrante. Évaporer le filtrat jusqu'à un volume de 4 à 5 ml, transférer la solution résiduelle dans le tube de 10 ml (point 3.9) pesé au préalable, évaporer à sec en chauffant légèrement sous léger courant d'azote, reprendre avec quelques gouttes d'acétone (point 4.8) et évaporer à sec à nouveau.

Le résidu contenu dans le tube doit être constitué de la fraction stérolique et de la fraction des diols triterpéniques.

- 5.3. Préparation des triméthylsilyléthers (TMSE)

- 5.3.1. Ajouter le réactif de silylation (point 4.25) (Note 6), à raison de 50 µl par milligramme de stérols et de diols triterpéniques, dans le tube contenant la fraction des stérols et des diols triterpéniques, en évitant toute absorption d'humidité (Note 7).

Note 6: des solutions prêtes à l'emploi sont disponibles dans le commerce. D'autres réactifs silylants sont également disponibles, tels que, par exemple, le bistriméthylsilyltrifluoracétamide + 1 % de triméthylchlorosilane à diluer par un même volume de pyridine anhydre.

La pyridine peut être remplacée par la même quantité d'acétonitrile.

- 5.3.2. Boucher le tube, agiter soigneusement (sans retourner) jusqu'à solubilisation des composés. Laisser reposer pendant au moins 15 minutes à température ambiante, puis centrifuger pendant quelques minutes. La solution limpide est prête pour l'analyse par chromatographie en phase gazeuse.

Note 7: la formation éventuelle d'une légère opalescence est normale et n'est la cause d'aucune anomalie. 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. En pareil cas, l'essai doit être répété (uniquement en cas d'utilisation d'hexaméthylidisilazane ou de triméthylchlorosilane).

- 5.4. Analyse par chromatographie en phase gazeuse

- 5.4.1. Opérations préliminaires, conditionnement de la colonne capillaire.

- 5.4.1.1. Installer la colonne (point 3.11) dans le chromatographe, en reliant l'extrémité d'entrée à l'injecteur à débit divisé et l'extrémité de sortie au détecteur.

Effectuer les contrôles habituels du système de chromatographie en phase gazeuse (étanchéité du circuit des gaz, efficacité du détecteur, efficacité du système diviseur et du système d'enregistrement, etc.).

- 5.4.1.2. Si la colonne est utilisée pour la première fois, il est recommandé de procéder à son conditionnement: faire passer un léger flux de gaz à travers cette colonne, puis mettre le chromatographe en marche et chauffer graduellement jusqu'à atteindre une température excédant d'au moins 20 °C la température de travail (Note 8). Maintenir cette température pendant au moins deux heures, puis mettre l'ensemble du système de chromatographie en mode de fonctionnement (réglage des débits gazeux et du système diviseur, allumage de la flamme, raccordement avec l'enregistreur électronique, réglage de la température de la colonne, du détecteur et de l'injecteur, etc.), puis enregistrer le signal avec une sensibilité au moins deux fois supérieure à celle prévue pour l'analyse. Le tracé de la ligne de base obtenue doit être linéaire, exempt de pic de quelque nature que ce soit et ne doit pas présenter de dérive.

Une dérive rectiligne négative indique une étanchéité imparfaite des connexions de la colonne; une dérive positive indique un conditionnement insuffisant de la colonne.

Note 8: la température de conditionnement doit être toujours inférieure d'au moins 20 °C à la température maximale prévue pour la phase stationnaire utilisée.

- 5.4.2. Choix des conditions opératoires.

- 5.4.2.1. Les conditions opératoires à observer sont les suivantes:

- température de la colonne: 260 ± 5 °C;
- température de l'injecteur: 280-300 °C;
- température du détecteur: 280-300 °C;
- vitesse linéaire du gaz vecteur: hélium 20 à 35 cm/s; hydrogène 30 à 50 cm/s;

- ratio de division: de 1:50 à 1:100;
- sensibilité instrumentale: 4 à 16 fois l'atténuation minimale;
- sensibilité d'enregistrement: 1 à 2 mV pleine échelle;
- quantité de substance injectée: 0,5 à 1 µl de solution de TMSE.

Ces conditions peuvent être modifiées en fonction des caractéristiques de la colonne et de l'appareil de chromatographie en phase gazeuse, de façon à obtenir des chromatogrammes satisfaisant aux conditions suivantes:

- le temps de rétention du β-sitostérol doit être de 20 ± 5 min;
- le pic du campestérol doit être: pour l'huile d'olive (teneur moyenne 3 %) 20 ± 5 % de l'échelle de l'enregistreur; pour l'huile de soja (teneur moyenne 20 %) 80 ± 10 % de l'échelle de l'enregistreur;
- tous les stérols présents doivent être séparés. Les pics doivent être non seulement séparés mais aussi complètement résolus, c'est-à-dire que le tracé du pic doit rejoindre la ligne de base avant la sortie du pic suivant. Une résolution incomplète est toutefois tolérée à condition toutefois que le pic à RRT 1,02 (sitostanol) soit quantifiable en utilisant la perpendiculaire.

5.4.3. Exécution de l'analyse

- 5.4.3.1. À l'aide de la microseringue de 10 µl, prélever 1 µl, aspirer 0,5 µl d'air, puis 0,5 à 1 µl de la solution échantillon. Tirer à nouveau le piston de la seringue de façon à ce que l'aiguille soit vide. Introduire l'aiguille à travers la membrane de l'injecteur et, après une à deux secondes, injecter rapidement et extraire ensuite l'aiguille lentement, au bout de cinq secondes environ.

Un injecteur automatique peut également être employé.

- 5.4.3.2. Procéder à l'enregistrement jusqu'à élution complète des TMSE des diols triterpéniques présents. La ligne de base doit toujours satisfaire aux conditions requises (point 5.4.1.2).

5.4.4. Identification des pics

L'identification des différents pics est effectuée sur la base des temps de rétention et par comparaison avec le mélange des TMSE des stérols et des diols triterpéniques, analysés dans les mêmes conditions (voir appendice).

Les stérols et les diols triterpéniques sont élués dans l'ordre suivant: cholestérol, brassicastérol, ergostérol, 24-méthylène-cholestérol, campestérol, campestanol, stigmastérol, Δ7-campestérol, Δ5,23-stigmastadiénol, clérosterol, β-sitostérol, sitostanol, Δ5-avenastérol, Δ5,24-stigmastadiénol, Δ7-stigmastérol, Δ7-avenastérol, érythrodiol et uvaol.

Les temps de rétention relatifs au β-sitostérol pour les colonnes SE 52 et SE 54 sont consignés dans le tableau 1.

Les figures 1 et 2 présentent des chromatogrammes typiques de quelques huiles.

5.4.5. Évaluation quantitative

- 5.4.5.1. Procéder au calcul des aires des pics de l'α-cholestanol, des stérols et des diols triterpéniques à l'aide du système informatique. Ne pas tenir compte des pics des composés qui ne figurent pas dans le tableau 1 (l'aire du pic de l'ergostérol ne doit pas être calculée). Le coefficient de réponse pour l'α-cholestanol doit être considéré comme étant égal à 1.

- 5.4.5.2. Calculer la concentration de chaque stérol, en mg/kg de matière grasse, comme suit:

$$\text{stérol } x = \frac{A_x \times m_s \times 1\,000}{A_s \times m}$$

où:

A_x = aire du pic du stérol x, en unités d'intégration;

A_s = aire du pic d'α-cholestanol, en unités d'intégration;

m_s = masse d'α-cholestanol ajoutée, en milligrammes;

m = masse de l'échantillon utilisé pour la détermination, en grammes.

6. EXPRESSION DES RÉSULTATS

- 6.1. La concentration de chaque stérol est exprimée en mg/kg de matière grasse, et leur somme correspond aux «stérols totaux».

La composition de chacun des stérols ainsi que la teneur en érythrodiol et en uvaol sont exprimées par des nombres à une décimale.

La teneur en stérols totaux doit être exprimée par un nombre entier.

- 6.2. Calculer le pourcentage de chaque stérol à partir du rapport entre l'aire du pic correspondant et la somme des aires des pics des stérols, de l'érythrodiol et de l'uvaol:

$$\text{stérol } x = \frac{A_x}{\Sigma A} \times 100$$

où:

A_x = aire du pic de x;

ΣA = somme des aires des pics des stérols.

- 6.3. β -sitostérol apparent: $\Delta 5$ -23-stigmastadiénol + clérostérol + β -sitostérol + sitostanol + $\Delta 5$ -avenastérol + $\Delta 5$ -24-stigmastadiénol.
- 6.4. Calculer le pourcentage d'érythrodiol et d'uvaol:

$$\text{érythrodiol} + \text{uvaol} = \frac{Er + Uv}{Er + Uv + \Sigma A} \times 100$$

où:

ΣA = somme des aires des pics des stérols, en unités d'intégration;

Er = aire du pic d'érythrodiol, en unités d'intégration;

Uv = aire du pic d'uvaol, en unités d'intégration;

Appendice

Détermination de la vitesse linéaire du gaz

Dans l'appareil de chromatographie en phase gazeuse, réglé aux conditions opératoires normales, injecter 1 à 3 µl de méthane (ou de propane) et chronométrer le temps que met le gaz pour parcourir la colonne, entre le moment de l'injection et celui de la sortie du pic (tM).

La vitesse linéaire, exprimée en cm/s, est donnée par L/tM, où L est la longueur de la colonne, en centimètres, et tM le temps chronométré, en secondes.

Tableau 1

Temps de rétention relatifs des stérols

Pic	Identification		Temps de rétention relatif	
			SE 54 colonne	SE 52 colonne
1	Cholestérol	Δ -5-cholestén-3 β -ol	0,67	0,63
2	Cholestanol	5 α -cholestan-3 β -ol	0,68	0,64
3	Brassicastérol	[24S]-24-méthyl- Δ -5,22-cholestadién-3 β -ol	0,73	0,71
*	Ergostérol	[24S] 24 méthyl Δ 5-7-22 cholestatrién 3 β -ol	0,78	0,76
4	24-méthylène-cholestérol	24-méthylène- Δ -5,24-cholestadién-3 β -ol	0,82	0,80
5	Campestérol	(24R)-24-méthyl- Δ -5-cholestén-3 β -ol	0,83	0,81
6	Campestanol	(24R)-24-méthyl-cholestan-3 β -ol	0,85	0,82
7	Stigmastérol	(24S)-24-éthyl- Δ -5,22-cholestadién-3 β -ol	0,88	0,87
8	Δ -7-campestérol	(24R)-24-méthyl- Δ -7-cholestén-3 β -ol	0,93	0,92
9	Δ -5,23-stigmastadiénol	(24R,S)-24-éthyl- Δ -5,23-cholestadién-3 β -ol	0,95	0,95
10	Clérostérol	(24S)-24-éthyl- Δ -5,22-cholestadién-3 β -ol	0,96	0,96
11	β -sitostérol	(24R)-24-éthyl- Δ -5-cholestén-3 β -ol	1,00	1,00
12	Sitostanol	24-éthyl-cholestan-3 β -ol	1,02	1,02
13	Δ -5-avénastérol	(24Z)-24-éthylidène- Δ -cholestén-3 β -ol	1,03	1,03
14	Δ -5-24-stigmastadiénol	(24R,S)-24-éthyl- Δ -5,24-cholestadién-3 β -ol	1,08	1,08
15	Δ -7-stigmastérol	(24R,S)-24-éthyl- Δ -7-cholestén-3 β -ol	1,12	1,12
16	Δ -7-avénastérol	(24Z)-24-éthylidène- Δ -7-cholestén-3 β -ol	1,16	1,16
17	Érythrodiol	5 α oléan-12 α -3 β -diol	1,41	1,41
18	Uvaol	Δ 12-ursen-3 β -diol	1,52	1,52

Figure 1

Chromatogramme (en phase gazeuse) de la fraction des stérols et des diols triterpéniques d'une huile d'olive lampante (avec étalon interne)

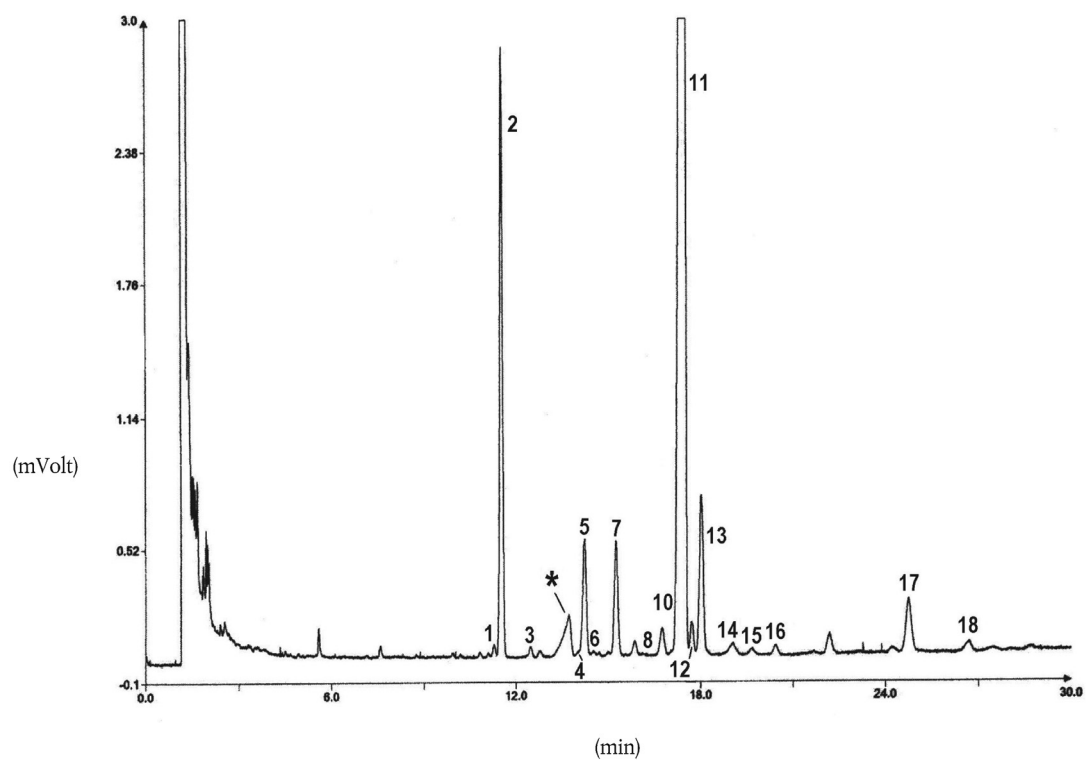


Figure 2

Chromatogramme (en phase gazeuse) de la fraction des stérols et des diols triterpéniques d'une huile d'olive raffinée (avec étalon interne)

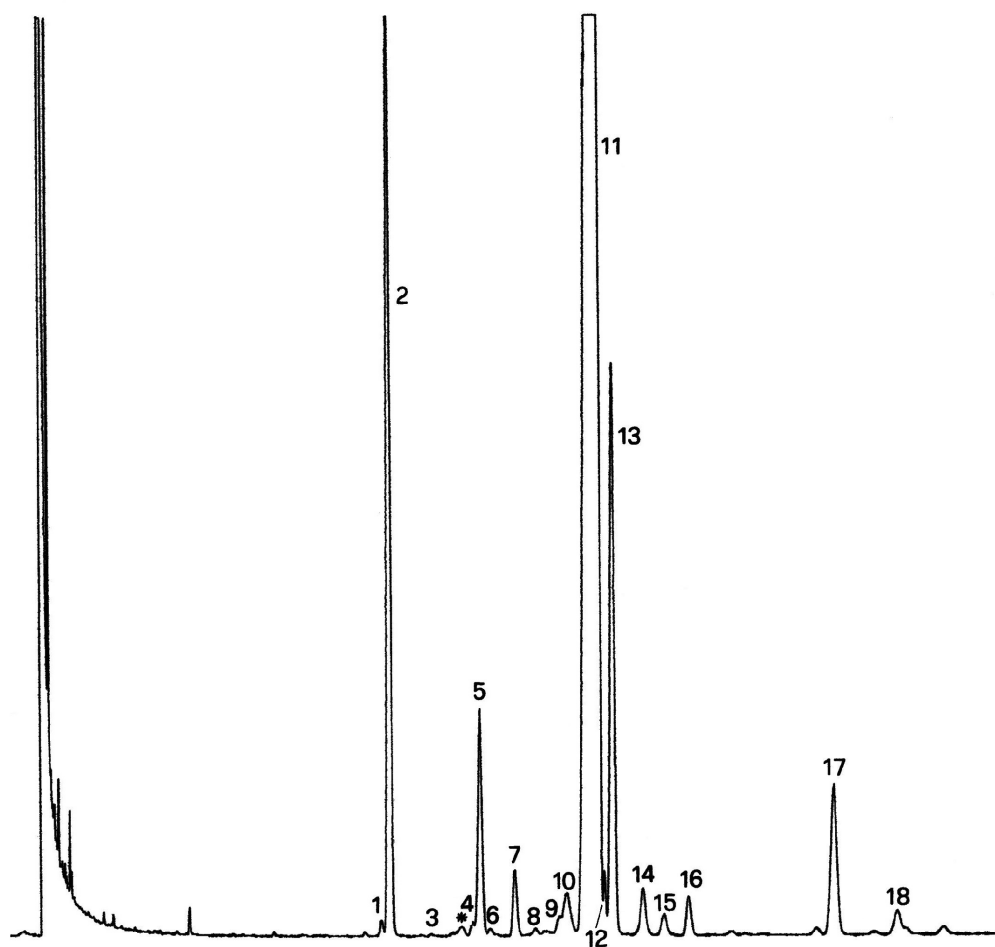
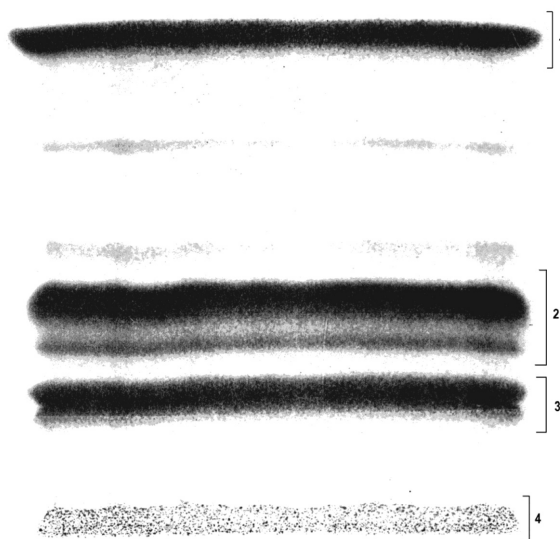


Figure 3

Plaqué de chromatographie en couche mince d'une huile de grignons d'olive, montrant la zone à racle pour la détermination des stérols et des diols triterpéniques



- 1 — Squalène
- 2 — Alcools triterpéniques et aliphatiques
- 3 — Stérols et diols triterpéniques
- 4 — Acides gras initiaux et acides gras libres»

ANNEXE V

«ANNEXE XII

MÉTHODE DU CONSEIL OLÉICOLE INTERNATIONAL POUR L'ÉVALUATION ORGANOLEPTIQUE DES HUILES D'OLIVE VIERGES**1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION**

La présente méthode internationale décrit la procédure d'évaluation des caractéristiques organoleptiques des huiles d'olive vierges au sens de l'annexe XVI, point 1, du règlement (CE) n° 1234/2007 et établit la méthode à utiliser pour le classement de ces huiles sur la base de ces caractéristiques. Elle fournit également des indications concernant l'étiquetage facultatif.

La méthode décrite ne s'applique qu'aux huiles d'olive vierges et à leur classement ou à leur étiquetage en fonction de l'intensité des défauts perçus et du fruité, déterminés par un groupe de dégustateurs sélectionnés, entraînés et testés, constitués en jury.

Elle fournit également des indications en vue d'un étiquetage facultatif.

Les normes COI mentionnées dans la présente annexe sont utilisées dans leur dernière version disponible.

2. VOCABULAIRE GÉNÉRAL DE BASE POUR L'ANALYSE SENSORIELLE

Voir la norme COI/T.20/Doc. n° 4 «Analyse sensorielle: vocabulaire général de base»

3. VOCABULAIRE SPÉCIFIQUE**3.1. Attributs négatifs**

Chômé/lies Flaveur caractéristique de l'huile tirée d'olives entassées ou stockées dans des conditions telles qu'elles se trouvent dans un état avancé de fermentation anaérobie, ou de l'huile restée en contact avec les boues de décantation, ayant elles aussi subi un processus de fermentation anaérobie, dans les piles et les cuves.

Moisi – humidité-terre Flaveur caractéristique des huiles obtenues à partir de fruits attaquées par des moisissures et des levures par suite d'un stockage des fruits pendant plusieurs jours dans l'humidité, ou des huiles obtenues à partir d'olives ayant été ramassées avec de la terre, ou boueuses et non lavées.

Vineux-vinaigré-acide-aigre Flaveur caractéristique de certaines huiles, rappelant le vin ou le vinaigre. Cette flaveur est due fondamentalement à un processus de fermentation aérobie des olives ou des restes de pâte d'olive dans des courtins qui n'auraient pas été correctement lavés, qui donne lieu à la formation d'acide acétique, d'acétate d'éthyle et d'éthanol.

Rance Flaveur des huiles ayant subi un processus d'oxydation intense.

Olives gelées (bois humide) Flaveur caractéristique des huiles extraites d'olives endommagées par le gel, sur l'arbre.

3.2. Autres attributs négatifs

Cuit ou Flaveur caractéristique des huiles qui tire son origine d'un réchauffement excessif et/ou prolongé

brûlé au cours de la transformation et tout particulièrement pendant le thermo-malaxage de la pâte, si celui-ci est réalisé dans des conditions thermiques inappropriées.

Foin-bois Flaveur caractéristique de certaines huiles provenant d'olives sèches.

Grossier Sensation bucco-tactile dense et pâteuse produite par certaines huiles vieilles.

Lubrifiants Flaveur de l'huile qui rappelle celle du gazole, de la graisse ou de l'huile minérale.

Margines Flaveur acquise par l'huile à la suite d'un contact prolongé avec les eaux de végétation qui ont subi des processus de fermentation.

Saumure Flaveur de l'huile obtenue à partir d'olives conservées en saumure.

Métallique Flaveur qui rappelle les métaux. Elle est caractéristique de l'huile qui est demeurée longtemps en contact avec des surfaces métalliques, au cours des processus de broyage, de malaxage, de pression ou de stockage.

Sparte Flaveur caractéristique de l'huile obtenue à partir d'olives pressées dans des scourtins en sparte neufs. La flaveur peut être différente selon qu'il s'agit de scourtins fabriqués à partir de sparte vert ou de sparte sec.

Ver Flaveur de l'huile issue d'olives ayant subi une forte attaque de larves de la mouche de l'olive (*Bactrocera Oleae*).

Concombre Flaveur acquise par l'huile à la suite d'un conditionnement hermétique excessivement prolongé, notamment dans des récipients en fer-blanc, et qui est attribuée à la formation de 2-6 nonadiénal.

3.3. Attributs positifs

Fruité Ensemble des sensations olfactives caractéristiques de l'huile, dépendant de la variété des olives et provenant de fruits sains et frais, verts ou mûrs, perçues par voie directe et/ou rétronasale.

Amer Goût élémentaire caractéristique de l'huile obtenue à partir d'olives vertes ou au stade de véraison, perçu par les papilles caliciformes formant le V lingual.

Piquant Sensation tactile de picotement, caractéristique des huiles produites au début de la campagne, principalement à partir d'olives encore vertes, pouvant être perçue dans toute la cavité buccale, en particulier dans la gorge.

3.4. Terminologie facultative aux fins de l'étiquetage

Sur demande, le chef de jury peut certifier que les huiles qui ont été évaluées répondent aux définitions et aux palettes de sensation correspondant aux adjectifs ci-après, en fonction de l'intensité et de la perception des attributs:

Attributs positifs (fruité, amer et piquant): en fonction de l'intensité de la perception:

- *intense*, lorsque la médiane de l'attribut est supérieure à 6;
- *moyen*, lorsque la médiane de l'attribut est comprise entre 3 et 6;
- *léger*, lorsque la médiane de l'attribut est inférieure à 3;

Fruité Ensemble des sensations olfactives caractéristiques de l'huile, dépendant de la variété des olives, provenant de fruits sains et frais, au sein desquelles ne prédominent ni le fruité vert ni le fruité mûr, et perçues par voie directe et/ou rétronasale.

Fruité vert Ensemble des sensations olfactives caractéristiques de l'huile rappelant les fruits verts, dépendant de la variété des olives, provenant de fruits verts, sains et frais, et perçues par voie directe et/ou rétronasale.

Fruité mûr Ensemble des sensations olfactives caractéristiques de l'huile rappelant les fruits mûrs, dépendant de la variété des olives, provenant de fruits mûrs, sains et frais, et perçues par voie directe et/ou rétronasale.

Équilibré Huile qui n'est pas déséquilibrée. On entend par déséquilibre la sensation olfactogustative et tactile de l'huile dans laquelle la médiane des attributs amer et/ou piquant est supérieure de deux points à la médiane du fruité.

Huile douce Huile dans laquelle la médiane des attributs amer et piquant est inférieure ou égale à 2.

4. VERRE DE DÉGUSTATION DE L'HUILE

Voir la norme COI/T.20/Doc. N°5, «Verre pour la dégustation des huiles»

5. SALLE DE DÉGUSTATION

Voir la norme COI/T.20/Doc. N°6 «Guide pour l'installation d'une salle de dégustation»

6. ACCESSOIRES

Les accessoires suivants sont mis à la disposition des dégustateurs, dans chaque cabine, afin de leur permettre de remplir convenablement leur tâche. Ces accessoires sont à portée de main des dégustateurs:

- verres (normalisés) contenant les échantillons, identifiés par un numéro de code, recouverts d'un verre de montre et maintenus à $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$;
- feuille de profil (voir figure 1) sur support papier ou informatique, pour autant que les conditions soient respectées, assortie d'instructions d'utilisation, si nécessaire;
- stylo ou encre indélébile;
- plateaux avec tranches de pomme et/ou eau, eau gazeuse et/ou biscottes;
- verre d'eau à la température ambiante;
- document rappelant les règles générales énoncées aux points 8.4 et 9.1.1;
- crachoirs.

7. CHEF DE JURY ET DÉGUSTATEURS

7.1. Chef de jury

Le chef de jury doit jouir d'une formation solide, tout en étant un connaisseur et un expert averti de tous les types d'huile auxquels il aura affaire au cours de son travail. Il est le personnage clé du jury et est responsable de l'organisation et de la gestion de celui-ci.

Le travail du chef de jury requiert une formation de base aux outils de l'analyse sensorielle, des compétences dans le domaine de l'analyse sensorielle, de la méticulosité dans la préparation, l'organisation et la réalisation des essais, ainsi que de l'habileté et de la patience pour planifier et exécuter les essais de manière scientifique.

Il est également du ressort exclusif du chef de jury de veiller à la sélection, à la formation et à la supervision des dégustateurs, afin de s'assurer de leur niveau d'aptitude. Le chef de jury est donc responsable de l'évaluation des dégustateurs, qui doit toujours être objective. À cet effet, il doit élaborer des procédures spécifiques basées sur des essais et des critères dûment fondés d'acceptation et de rejet. Voir la norme COI/T.20/Doc. N° 14 «Guide pour la sélection, l'entraînement et le contrôle des dégustateurs qualifiés d'huile d'olive vierge».

Le chef de jury est responsable de la performance du jury et partant, des évaluations qu'il produit, et il doit en attester de façon fiable et objective. En tout état de cause, il doit pouvoir démontrer à tout moment que la méthode et les dégustateurs sont placés sous son contrôle. Un étalonnage périodique du jury est recommandé (COI/T.20/Doc. N° 14, point 5).

Le chef de jury est responsable, en dernier ressort, de la tenue des registres du jury. Ces registres doivent toujours être traçables. Ils doivent être conformes aux exigences d'assurance de qualité énoncées dans les normes internationales d'analyse sensorielle et garantir l'anonymat des échantillons à tout moment.

Le chef de jury est responsable de l'inventaire des ustensiles et du matériel nécessaires au respect des spécifications de la présente méthode et doit veiller à ce qu'ils soient correctement nettoyés et entretenus; il fera un compte-rendu écrit de tout ce qui précède, spécifiant que les conditions de l'essai ont été respectées.

Le chef de jury est responsable de la réception et du stockage des échantillons à leur arrivée au laboratoire ainsi que de leur conservation après analyse. Dans ce contexte, il veille à garantir à tout moment l'anonymat des échantillons et leur conservation adéquate. À cet effet, il doit élaborer des procédures écrites en vue de garantir la traçabilité de l'ensemble du processus.

Le chef de jury est en outre responsable de la préparation, de la codification et la présentation des échantillons aux dégustateurs selon le schéma expérimental adéquat conformément au protocole préalablement établi, ainsi que de la collecte des résultats auprès des dégustateurs et de leur traitement statistique.

Il est responsable de la mise au point et de la rédaction de toutes les autres procédures qui pourraient être nécessaires pour compléter cette norme et qui seraient nécessaires pour le fonctionnement adéquat du jury.

Il doit trouver des moyens pour comparer les résultats du jury avec ceux d'autres jurys d'huile d'olive vierge afin de s'assurer que le fonctionnement de son jury est adéquat.

Le chef de jury a en outre pour mission de motiver les membres du groupe en stimulant leur intérêt, leur curiosité et leur esprit de compétition. C'est la raison pour laquelle il est fortement recommandé d'assurer un échange fluide d'informations avec les membres du groupe en les impliquant dans tout le travail qu'ils réalisent ainsi que dans les résultats obtenus. Le chef de jury doit éviter d'exprimer son point de vue et doit veiller à ce que certains membres du jury n'imposent pas leurs critères aux autres dégustateurs.

Il doit convoquer les dégustateurs suffisamment à l'avance et répondre à toutes les questions concernant la réalisation des essais, tout en s'abstenant d'émettre un avis, quel qu'il soit, sur l'échantillon.

7.2. Dégustateurs

Les personnes intervenant en qualité de dégustateurs dans les essais organoleptiques d'huiles d'olive doivent le faire de manière volontaire, avec les conséquences qu'une telle démarche implique en termes d'obligations et d'absence de rémunération. Il est donc souhaitable que les candidats soumettent une demande par écrit. Les candidats sont sélectionnés, entraînés et testés par le chef de jury en fonction de leur habileté à distinguer des échantillons similaires; Il convient de ne pas perdre de vue le fait que la précision du dégustateur s'améliore avec l'entraînement.

Le dégustateur doit se comporter comme un véritable observateur sensoriel, en laissant de côté ses goûts personnels et en ne rendant compte que des sensations qu'il perçoit. À cet effet, il doit toujours réaliser son travail en silence, être détendu et ne pas être pressé. Il doit prêter toute l'attention sensorielle possible à l'échantillon qu'il déguste.

Pour chaque essai, il faut disposer de 8 à 12 dégustateurs. Toutefois, il convient de prévoir quelques dégustateurs supplémentaires auxquels on peut faire appel en cas d'absences éventuelles.

8. CONDITIONS DE L'ESSAI

8.1. Présentation de l'échantillon

L'échantillon d'huile à analyser sera présenté dans les verres de dégustation normalisés conformément à la Norme COI/T.20/Doc. N° 5 «Verre pour la dégustation des huiles».

Le verre doit contenir entre 14 et 16 ml d'huile, ou entre 12,8 et 14,6 g si les échantillons sont pesés, et être recouvert d'un verre de montre.

Chaque verre doit être marqué, au moyen d'un système inodore, d'un code composé de chiffres ou de chiffres et de lettres pris au hasard.

8.2. Température de l'essai et de l'échantillon

Les échantillons d'huile à déguster doivent être maintenus dans les verres à une température de $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durant tout l'essai. Cette température a été retenue car elle permet de relever des différences organoleptiques plus aisément qu'à température ambiante, et parce que des températures plus basses produisent une faible volatilisation des composés aromatiques propres à ces huiles, tandis que des températures plus élevées amènent la formation de composés volatils propres aux huiles chauffées. Voir la norme COI/T.20/doc. N° 5 «Verre pour la dégustation des huiles» en ce qui concerne le système de réchauffement des échantillons qui doit être utilisé une fois l'échantillon introduit dans le verre.

La température de la salle de dégustation doit être comprise entre 20 et 25 °C (voir COI/T. 20/Doc. n°6).

8.3. Horaire des essais

La matinée est le moment le plus opportun pour la dégustation des huiles. Il est prouvé qu'il existe, pendant la journée, des périodes de perception optimale pour ce qui est du goût et de l'odeur. Une période d'acuité olfactive accrue précède les repas, qui sont suivis par une diminution de cette acuité.

Toutefois, ce critère ne doit pas être poussé à l'extrême, au point que la faim puisse constituer un facteur de distraction chez les dégustateurs et réduire leur capacité de discrimination. Par conséquent, il est recommandé d'organiser les séances de dégustations entre dix heures du matin et midi.

8.4. Dégustateurs: règles générales de conduite

Les recommandations suivantes visent le comportement devant être observé par les dégustateurs au cours de leur travail.

Dès réception de la convocation du responsable du jury l'invitant à participer à un essai organoleptique, le dégustateur doit être en mesure d'intervenir à l'heure préalablement fixée et est tenu au respect des règles ci-après:

- s'abstenir de fumer et de boire du café pendant au moins 30 minutes avant l'heure fixée pour l'essai;
- ne pas avoir utilisé un parfum, un cosmétique ou un savon dont l'odeur pourrait persister au moment de l'essai. Les mains doivent être lavées avec un savon non parfumé, puis rincées et séchées autant de fois que nécessaire pour éliminer toute trace d'odeur;
- ne rien manger pendant au moins une heure avant la dégustation;
- dans l'hypothèse où ses fonctions physiologiques seraient affectées, notamment l'odorat ou le goût, ou s'il était confronté à un problème psychologique quelconque qui l'empêcherait de se concentrer, le dégustateur devrait s'abstenir de déguster et prévenir le chef de jury;
- après s'être conformé aux règles précitées, le dégustateur doit s'installer dans la cabine qui lui a été assignée, de façon disciplinée et silencieuse;
- il doit lire attentivement les instructions figurant sur la feuille de profil et ne commencer l'examen de l'échantillon que lorsqu'il est tout à fait prêt pour la tâche dont il doit s'acquitter (calme et détendu). En cas de doute, il doit s'adresser au responsable du jury pour discuter en privé avec lui des difficultés rencontrées;
- il doit rester silencieux pendant qu'il accomplit sa tâche;
- le cas échéant, son téléphone portable devra toujours être coupé afin de ne pas gêner la concentration et le travail de ses collègues.

9. PROCÉDURE D'ÉVALUATION ORGANOLEPTIQUE ET DE CLASSEMENT DE L'HUILE D'OLIVE VIERGE

9.1. Dégustation technique

- 9.1.1. Le dégustateur doit prendre le verre, en le maintenant couvert avec le verre de montre, puis l'incliner légèrement et, dans cette position, le faire tourner sur lui-même afin d'en mouiller le plus possible la surface intérieure. Après cette opération, le dégustateur doit retirer le verre de montre et flairer l'échantillon par des inspirations lentes et profondes, pour évaluer l'huile. La durée du test olfactif ne devrait pas dépasser 30 secondes. Si le dégustateur n'est parvenu à aucune conclusion au terme de ce délai, il doit faire une pause avant de procéder à une nouvelle tentative.

Une fois l'essai olfactif terminé, le dégustateur doit procéder à l'évaluation des sensations buccales (ensemble des sensations olfactogustatives par voie rétronasale et tactile). Pour ce faire, prendre une petite gorgée d'huile, de 3 ml environ. Il est très important de distribuer l'huile sur toute la cavité buccale, depuis la partie antérieure de la bouche et la langue, en passant par les parties latérales et la partie postérieure jusqu'au voile du palais et la gorge; comme chacun sait, les saveurs et les sensations tactiles sont en effet perçues avec une intensité variable selon les différentes zones de la langue, du palais et de la gorge.

Il y a lieu d'insister sur la nécessité de répandre l'huile en quantité suffisante et très lentement sur la partie postérieure de la langue jusqu'au voile du palais et la gorge, en concentrant l'attention sur l'ordre d'apparition des stimuli amer et piquant; si on ne procède pas de cette façon, pour certaines huiles, ces deux stimuli peuvent passer inaperçus, ou encore le stimulus amer peut être masqué par le stimulus piquant.

Des inspirations brèves et successives, en faisant pénétrer de l'air par la bouche, permettent non seulement de répandre l'échantillon sur toute la cavité buccale, mais également de percevoir les composés aromatiques volatils par voie rétronasale puisque l'usage de cette voie est forcé.

La sensation tactile de piquant devant être prise en considération, il convient d'avaler l'huile.

- 9.1.2. Il est recommandé que l'évaluation organoleptique d'une huile d'olive vierge porte au maximum sur QUATRE ÉCHANTILLONS par séance avec un maximum de 3 séances par jour, dans le souci d'éviter l'effet de contraste que pourrait provoquer la dégustation immédiate d'autres échantillons.

Étant donné que des dégustations successives entraînent de la fatigue ou une perte d'acuité due aux échantillons précédents, il est nécessaire d'utiliser un produit capable d'éliminer de la bouche les restes d'huile de la précédente dégustation.

Il est recommandé d'utiliser une petite tranche de pomme, qui peut être rejetée dans le crachoir après mastication. Il convient ensuite de se rincer la bouche avec un peu d'eau à température ambiante. Au minimum 15 minutes doivent s'être écoulées entre la fin d'une séance et le début de la suivante.

9.2. Utilisation de la feuille de profil par le dégustateur

La feuille de profil destinée aux dégustateurs est reproduite sur la figure 1 de la présente annexe.

Chaque dégustateur faisant partie du jury doit flairer, puis déguster ⁽¹⁾ l'huile soumise à examen. Il doit ensuite indiquer, sur les échelles de 10 cm figurant sur la feuille de profil à sa disposition, l'intensité avec laquelle il perçoit chacun des attributs négatifs et positifs.

Si le dégustateur perçoit des attributs négatifs non énumérés au point 4, il doit le consigner dans la rubrique «autres», en employant le ou les termes qui décrivent avec le plus de précision ces attributs.

9.3. Utilisation des données par le chef de jury

Le chef du jury doit récupérer les feuilles de profil remplies par chacun des dégustateurs et passer en revue les intensités assignées aux différents attributs; s'il constate une anomalie, il doit inviter le dégustateur à réviser sa feuille de profil et, si nécessaire, à répéter l'essai.

Le chef de jury entre les données d'évaluation de chaque membre du jury dans un programme informatique tel que celui préconisé par la norme COI/T.20/doc. N° 15, en vue du calcul statistique des résultats de l'analyse, basés sur le calcul de la médiane. Voir la section 9.4 et l'appendice de la présente annexe. Les données correspondant à un échantillon donné sont saisies à l'aide d'une matrice à 9 colonnes, représentant les 9 attributs sensoriels, et à n lignes, représentant les n membres du jury concerné.

Lorsqu'un défaut est perçu et consigné dans la rubrique «Autres» par au moins 50 % des membres du jury, le chef de jury calcule la médiane de ce défaut et en déduit le classement correspondant.

La valeur du coefficient de variation robuste qui définit le classement (défaut perçu avec la plus forte intensité et attribut fruité) ne doit pas dépasser 20 %.

Dans le cas contraire, le chef de jury devra répéter l'évaluation de l'échantillon en question lors d'une autre séance de dégustation.

Si cette situation se reproduit fréquemment, il est recommandé au chef de jury de prévoir une formation additionnelle spécifique des dégustateurs du jury (COI/T.20/Doc. N° 14, point 5) et d'utiliser l'indice de répétabilité et l'indice d'écart pour vérifier la performance du jury (COI/T.20/Doc. N° 14, point 6).

9.4. Classement de l'huile

L'huile est classée dans les catégories ci-après, en fonction de la médiane des défauts et de la médiane de l'attribut fruité. La médiane des défauts est définie comme la médiane du défaut perçu avec la plus grande intensité. La médiane des défauts et la médiane de l'attribut fruité sont exprimées avec une seule décimale.

⁽¹⁾ Le dégustateur peut s'abstenir de déguster une huile s'il détecte par voie olfactive directe un quelconque attribut négatif extrêmement intense. En pareil cas, il consignera cette circonstance exceptionnelle sur la feuille de profil.

Le classement de l'huile est effectué par comparaison de la valeur de la médiane des défauts et de la médiane du fruité avec les plages de référence indiquées ci-après. Les limites de ces plages ayant été établies en tenant compte de l'erreur de la méthode, elles sont considérées comme absolues. Les logiciels informatiques permettent de visualiser le classement sous la forme d'un tableau de données statistiques ou d'un graphique.

- (a) huile d'olive vierge extra: la médiane des défauts est égale à 0 et la médiane du fruité est supérieure à 0;
- (b) huile d'olive vierge: la médiane des défauts est supérieure à 0 mais ne dépasse pas 3,5, et la médiane du fruité est supérieure à 0;
- (c) huile d'olive lampante: la médiane des défauts est supérieure à 3,5, ou elle est inférieure ou égale à 3,5 et la médiane du fruité est égale à 0.

Note 1:

Lorsque la médiane de l'attribut amer et/ou piquant est supérieure à 5,0, le chef de jury le précise sur le certificat d'analyse.

Figure 1

FEUILLE DE PROFIL DE L'HUILE D'OLIVE VIERGE

Intensité de perception des défauts		
Chômé/lies (*)		
Moisi/humide/terre (*)		
Vineux/vinaigré acide - aigre (*)		
Olives gelées (bois humide)		
Rance		
Autres attributs négatifs:		
Descripteur:	Métallique ☐ Foin ☐ Ver ☐ Grossier ☐ Saumure ☐ Cuit ou brûlé ☐ Margines ☐ Sparte ☐ Concombre ☐ Lubrifiants ☐	
(*) Biffer la mention inutile		
Intensité de perception des attributs positifs		
Fruité		
	Vert ☐	Mûr ☐
Amer		
Piquant		
Nom du dégustateur:		Code du dégustateur:
Code de l'échantillon:	Signature:	

Appendice

Méthode de calcul de la médiane et des intervalles de confiance**Médiane**

$$Me = [p(X < x_m) \leq 1/2 \wedge p(X \leq x_m) \geq 1/2]$$

La médiane est définie comme le nombre réel X_m caractérisé par le fait que la probabilité (p) que les valeurs de la distribution (X) soient inférieures à ce nombre (X_m) est inférieure ou égale à 0,5 et que, simultanément, la probabilité (p) que les valeurs de la distribution (X) soient inférieures ou égales à X_m est supérieure ou égale à 0,5. Il est plus pratique de définir la médiane comme le 50^e percentile d'une distribution de nombres classés par ordre croissant. En termes plus simples, il s'agit de la valeur centrale d'un ensemble ordonné de nombres impairs, ou bien de la moyenne de deux valeurs centrales d'un ensemble ordonné de nombres pairs.

Écart type robuste

Pour obtenir une estimation fiable de la variabilité autour de la moyenne, il convient de se référer à l'estimation de l'écart type robuste selon Stuart et Kendall (4). La formule donne l'écart-type asymptotique, c'est-à-dire l'estimation robuste de la variabilité des données considérées, où N est le nombre d'observations et IQR l'intervalle interquartile, qui couvre exactement 50% des cas d'une distribution de probabilité quelconque.

$$s^* = \frac{1,25 \times \text{IQR}}{1,35 \times \sqrt{N}}$$

Le calcul de l'intervalle interquartile s'effectue en calculant l'amplitude de l'écart entre le soixante-quinzième et le vingt-cinquième percentiles.

$$\text{IQR} = 75^{\text{e}} \text{ percentile} - 25^{\text{e}} \text{ percentile}$$

où le percentile est la valeur X_{pc} caractérisée par le fait que la probabilité (p) que les valeurs de la distribution soient inférieures à X_{pc} est inférieure ou égale à un centième déterminé et que, simultanément, la probabilité (p) que les valeurs de la distribution soient inférieures ou égales à X_{pc} est supérieure ou égale audit centième. Le centième indique la fraction de distribution retenue. Dans le cas de la médiane, celle-ci est égale à 50/100.

$$\text{percentile} = [p(X < x_{pc}) \leq \frac{n}{100} \wedge p(X \leq x_{pc}) \geq \frac{n}{100}]$$

Dans la pratique, le percentile est la valeur de distribution correspondant à une aire déterminée tracée à partir de la courbe de distribution ou de densité. A titre d'exemple, le 25^{ème} percentile représente la valeur de distribution correspondant à une aire égale à 0,25 ou 25/100.

Dans cette méthode, les percentiles sont calculés à partir des valeurs réelles figurant dans la matrice des données (procédure de calcul des percentiles).

Coefficient de variation robuste (%)

Le CVr% représente un nombre adimensionnel qui indique le pourcentage de variabilité de la série de nombres analysée. Ce coefficient est donc très utile pour vérifier la fiabilité des membres du jury.

$$CV_r = \frac{s^*}{Me} \times 100$$

Intervalles de confiance à 95 % sur la médiane

Les intervalles de confiance à 95 % (valeur de l'erreur de première espèce égale à 0,05 ou à 5 %) représentent l'intervalle au sein duquel la valeur de la médiane pourrait varier dans l'hypothèse où il serait possible de répéter une expérience un nombre infini de fois. Dans la pratique, il s'agit de l'intervalle de variabilité de l'essai dans les conditions opératoires retenues, si l'on part de l'hypothèse que l'essai pourrait être répété plusieurs fois. À l'instar du CVr%, cet intervalle aide à évaluer la fiabilité de l'essai.

$$I.C._{sup} = Me + (c \times s^*)$$

$$I.C._{inf} = Me - (c \times s^*)$$

Où $C = 1,96$ pour l'intervalle de confiance à 95 %.

Un exemple de la feuille de calcul est présenté à l'annexe I de la norme COI/T 20/Doc. N° 15.

Bibliographie

- (1) Wilkinson, L. 1990. Systat: The system for statistics. Evanston, IL.SYSTAT Inc.
 - (2) Cicchitelli, G. 1984. Probabilità e Statistica. Maggioli Editore, Rimini.
 - (3) Massart, D.L.; Vandeginste, B.G.M.; Deming, Y.; Michotte, L. 1988. Chemometrics. A textbook. Elsevier. Amsterdam.
 - (4) Kendall, M.G.; Stuart, A. 1967. The advanced theory of statistics. Vol. 1. Hafner Publishing Co.
 - (5) McGill, R.; Tukey, J.W.; Larsen, W.A. 1978. Variation of Box Plots. The American Statistician, 32, (2), 12-16.
 - (6) COI/T.28/Doc. N° 1, septembre 2007, Lignes directrices pour l'accréditation des laboratoires d'analyse sensorielle de l'huile d'olive vierge en particulier, selon la norme ISO/IEC 17025:2005.
 - (7) COI/T.20/Doc. N° 14
 - (8) COI/T.20/Doc. N° 15
 - (9) ISO/IEC 17025: 05.»
-

ANNEXE VI

«ANNEXE XX bis

MÉTHODE DE DÉTECTION D'HUILES ÉTRANGÈRES DANS LES HUILES D'OLIVE**1. CHAMP D'APPLICATION**

Cette méthode est utilisée pour détecter la présence d'huiles végétales étrangères dans l'huile d'olive. Des huiles végétales à teneur élevée en acide linoléique (soja, colza, tournesol, etc.) et certaines huiles végétales à teneur élevée en acide oléique (noisette, tournesol à teneur élevée en acide oléique et grignons d'olive) peuvent être détectées dans les huiles d'olive. Le seuil de détection dépend du type d'huile étrangère et de la variété d'olive. Pour l'huile de noisette, un seuil de détection compris entre 5 et 15 % est courant. La méthode ne permet pas de déterminer le type d'huile étrangère détectée, mais indique simplement si l'huile d'olive est authentique ou non.

2. PRINCIPE

L'huile est purifiée par extraction en phase solide sur des cartouches de gel de silice. La composition des triglycérides (TG) est déterminée par chromatographie liquide à haute résolution en phase inverse à l'aide d'un détecteur à indice de réfraction et de propionitrile comme phase mobile. Les esters méthyliques d'acides gras (EMAG) sont préparés à partir d'huile purifiée par méthylation à l'aide d'une solution à froid de KOH dans du méthanol (annexe X B), puis les esters sont analysés par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire à haute polarité (annexe X A). La composition théorique des triglycérides est calculée à partir de la composition en acides gras par un programme informatique admettant pour hypothèse de base une répartition aléatoire en position 1,3- ou 2- dans le triglycéride, avec des restrictions pour les acides gras saturés en position 2. La méthode de calcul est une modification de la procédure décrite à l'annexe XVIII. Plusieurs algorithmes mathématiques sont calculés à partir des compositions théorique et expérimentale (CLHP) des triglycérides, et les valeurs obtenues sont comparées avec celles contenues dans une base de données constituée à partir d'huiles d'olive authentiques.

3. MATÉRIEL ET REACTIFS**3.1. Purification de l'huile**

3.1.1. Fioles coniques de 25 ml.

3.1.2. Tubes en verre à col fileté de 5 ml et bouchons avec joint PTFE.

3.1.3. Cartouches de gel de silice, 1 g (6 ml), pour l'extraction en phase solide (par exemple, Waters, Massachusetts, USA).

3.1.4. *n*-hexane, de qualité analytique.

3.1.5. Mélange de solvant: hexane/éther diéthylique (87/13) (V/V)

3.1.6. *N*-heptane, de qualité analytique.

3.1.7. Acétone, de qualité analytique.

3.2. Analyse CLHP des triglycérides

3.2.1. Microsiringues (50 µl) et aiguilles pour injection CLHP.

3.2.2. Propionitrile, super pur ou de qualité pour CLHP (par exemple, ROMIL, Cambridge, Royaume-Uni), utilisé comme phase mobile.

3.2.3. Colonne CLHP (25 cm × 4 mm de diamètre interne) remplie de la phase RP-18 (taille des particules 4 µm).

3.3. Préparation des esters méthyliques d'acides gras

(voir annexe X B)

3.3.1. Méthanol ne contenant pas plus de 0,5 % d'eau

3.3.2. Heptane, de qualité analytique.

3.3.3. Solution 2N d'hydroxyde de potassium dans du méthanol. Dissoudre 1,1 g d'hydroxyde de potassium dans 10 ml de méthanol.

3.3.4. Tubes en verre à col fileté de 5 ml et bouchons avec joint PTFE.

3.4. Analyse des EMAG en CG

(voir méthode pour la détermination des acides gras insaturés *trans* par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire, figurant à l'annexe X A).

3.4.1. Microsiringues (5 µl) et aiguilles pour injection CG.

3.4.2. Hydrogène ou hélium en tant que gaz vecteur.

- 3.4.3 Hydrogène et oxygène pour le détecteur à ionisation de flamme.
- 3.4.4 Azote ou hélium en tant que gaz vecteur auxiliaire.
- 3.4.5. Colonne de silice fondue (50-60 m × 0,25 – 0,30 mm de diamètre interne) recouverte d'une phase de cyano-propylpolysiloxane ou de cyanopropylphénylsiloxane (SP-2380 ou similaire) d'une épaisseur comprise entre 0,20 et 0,25 µm.
- 4. APPAREILLAGE
 - 4.1. Système à vide pour l'extraction en phase solide.
 - 4.2. Évaporateur rotatif.
 - 4.3. Équipement CLHP composé des éléments suivants:
 - 4.3.1. Dégazeur pour la phase mobile.
 - 4.3.2. Vanne d'injection Rheodyne avec boucle de 10 µl.
 - 4.3.3. Pompe à haute pression.
 - 4.3.4. Étuve thermostatée pour la colonne CLHP, capable de maintenir des températures inférieures à la température ambiante (15-20 °C), (type Peltier, par exemple).
 - 4.3.5. Détecteur à indice de réfraction.
 - 4.3.6. Système informatisé d'acquisition de données, avec programme d'intégration.
 - 4.4. Équipement de chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire décrit à l'annexe X A, comprenant les éléments suivants:
 - 4.4.1. Injecteur à débit divisé.
 - 4.4.2. Détecteur à ionisation de flamme.
 - 4.4.3. Étuve à température programmable.
 - 4.4.4. Système informatisé d'acquisition de données, avec programme d'intégration.
 - 4.5. Ordinateur équipé du programme EXCEL de Microsoft.

5. PROCÉDURE D'ANALYSE

5.1. Purification de l'huile

Placer une cartouche de gel de silice (pour extraction en phase solide) dans un appareil d'élution à vide et laver sous vide avec 6 ml d'hexane. Faire le vide pour éviter que la colonne ne sèche et placer une fiole conique sous la cartouche. Introduire dans la colonne une solution d'huile (environ 0,12 g) dans 0,5 ml d'hexane et faire passer la solution puis éluer avec 10 ml du mélange d'hexane/éther diéthylique (87:13 v/v) sous vide. Homogénéiser le solvant élué et verser environ la moitié du volume dans une autre fiole conique. Faire totalement évaporer les deux solutions dans un évaporateur rotatif sous pression réduite et à température ambiante. Pour l'analyse des triglycérides, dissoudre l'un des résidus dans 1 ml d'acétone (voir premier paragraphe du point 5.2) et verser dans un tube en verre à col fileté de 5 ml. Dissoudre l'autre résidu dans 1 ml de *n*-heptane et verser dans un deuxième tube à col fileté de 5 ml pour la préparation des esters méthyliques d'acides gras.

Note: la purification de l'huile peut être effectuée à l'aide d'une colonne de gel de silice, comme décrit dans la méthode IUPAC 2.507.

5.2. Analyse CLHP des triglycérides

Mettre en marche l'appareil de CLHP, en maintenant la température de la colonne à 20 °C et en utilisant du propiononitrile comme phase mobile, à un débit de 0,6 ml/min. Lorsque la ligne de base est stable, procéder à une injection de solvant; si la ligne de base semble perturbée dans la zone des temps de rétention comprise entre 12 et 25 min, utiliser un autre type d'acétone ou un mélange de propiononitrile/acétone (25:75) pour dissoudre l'échantillon.

Note: certains types d'acétone provoquent des perturbations de la ligne de base dans la zone susmentionnée.

Injecter une aliquote de 10 µl de la solution d'huile purifiée dans de l'acétone (5 %). Le passage prend environ 60 min. La température de l'étude et/ou le débit doivent être ajustés de manière à obtenir un chromatogramme similaire à celui représenté sur la figure 1, où la trilinoléine (pic 1) élue à 15,5 min et où les résolutions entre les paires LLL/OLLn (pics 1 et 2) et OLL/OLLn (pics 4 et 5) sont bonnes.

La hauteur du pic 2 (OLLn + PoLL) doit atteindre au moins 3 % de l'échelle.

5.3. Préparation des esters méthyliques d'acide gras

Ajouter 0,1 ml d'une solution 2N d'hydroxyde de potassium dans du méthanol à la solution d'huile purifiée dans 1 ml de *n*-heptane. Placer un bouchon sur le tube et visser à fond. Agiter le tube énergiquement pendant 15 secondes et laisser reposer jusqu'à ce que la couche supérieure devienne claire (5 minutes). La solution de *n*-heptane est prête à être injectée dans l'appareil de chromatographie en phase gazeuse. La solution peut être laissée à température ambiante pendant un maximum de 12 heures.

5.4. Analyse CG des esters méthyliques d'acide gras

Il y a lieu de recourir à la procédure décrite dans la méthode de détermination des acides gras insaturés *trans* (voir Annexe X A).

Le système de CG est réglé pour une température de l'étuve de 165 °C. Il est recommandé de maintenir l'étuve à une température isotherme de 165 °C pendant 10 minutes, puis d'augmenter la température de 1,5 °C/min jusqu'à 200 °C. La température recommandée de l'injecteur est comprise entre 220 °C et 250 °C afin d'éviter la formation d'acides gras *trans* (voir annexe X A). Température du détecteur: 250 °C. Il y a lieu d'utiliser de l'hydrogène ou de l'hélium comme gaz vecteur, à une pression d'environ 130 kPa en tête de la colonne. Volume d'injection de 1 µl en mode d'injection à débit divisé.

Un chromatogramme (phase gazeuse - CG) semblable à celui représenté sur la figure 2 doit être obtenu. Une attention particulière doit être accordée à la résolution entre C18:3 et C20:1 (le pic C18:3 doit apparaître avant le C20:1). Pour obtenir ces conditions, il y a lieu d'optimiser la température initiale et/ou la pression de la tête de colonne. Régler les paramètres de l'injecteur (température, rapport de division et volume d'injection) de façon à réduire le plus possible la séparation de l'acide palmitique et de l'acide palmitoléique.

La hauteur du pic C20:0 doit être d'environ 20 % de la pleine échelle pour quantifier les isomères *trans*. Si le pic C18:0 semble déformé, réduire le volume de l'échantillon.

6. INTÉGRATION DES PICS CHROMATOGRAPHIQUES

6.1. Chromatogramme CLHP

La figure 1 représente un chromatogramme CLHP typique des triglycérides d'une huile d'olive purifiée. Pour l'intégration des pics, il faut tracer trois lignes de base: la première entre le début du pic 1 et la fin du pic 3; la deuxième entre le début du pic 4 et le creux précédant le pic 8; la troisième entre le creux précédant le pic 8 et la fin du pic 18;

L'aire totale est la somme des aires de tous les pics (identifiés et non identifiés), du pic 1 au pic 18. Le pourcentage de chaque pic est donné par la formule

$$TG_x(\%) = 100(A_x + A_T)$$

Les pourcentages sont exprimés avec deux décimales.

6.2. Chromatogramme CG

La figure 2 représente un chromatogramme CG des esters alkylés d'acides gras obtenus à partir d'une huile d'olive purifiée. Il y a lieu de calculer les pourcentages des acides gras suivants:

Acide palmitique:	P (C16:0)	=	ester méthylique + ester éthylique
Acide stéarique:	S (C18:0)	=	ester méthylique
Acide palmitoléique:	Po (C16:1)	=	somme des esters méthyliques des deux isomères <i>cis</i>
Acide oléique:	O (C18:1)	=	somme des esters méthyliques des deux isomères <i>cis</i> + ester éthylique + isomères <i>trans</i>
Acide linoléique:	L (C18:2)	=	ester méthylique + ester éthylique + isomères <i>trans</i>
Acide linoléique:	Ln (C18:3)	=	ester méthylique + isomères <i>trans</i>
Acide arachidique:	A (C20:0)	=	ester méthylique
Acide éicosénoïque (gondoïque):	G (C20:1)	=	ester méthylique

L'ester éthylique et les isomères *trans* peuvent être absents dans le chromatogramme CG.

L'aire totale (AT) est la somme de tous les pics apparaissant sur le chromatogramme, de C14:0 à C24:0, sauf celui correspondant au squalène. Le pourcentage de chaque pic est calculé comme suit:

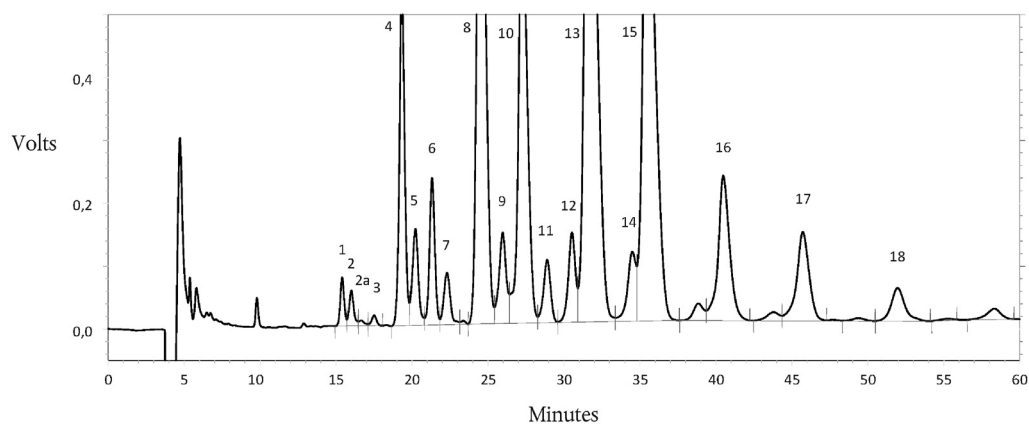
$$AG_x(\%) = 100(A_x + A_T)$$

Les résultats doivent être exprimés avec deux décimales.

Pour les calculs réalisés par les programmes informatiques, il n'est pas nécessaire de normaliser à 100 car cette opération est automatique.

Figure 1

Chromatogramme CLHP des TG d'une huile d'olive vierge «Chamlali». Principaux composants des pics chromatographiques



- (1) LLL; (2) OLLn+PoLL; (3) PLLn; (4) OLL; (5) OOLn+PoOL;
 (6) PLL+PoPoO; (7) POLn+PPoPo+PPoL; (8) OOL+LnPP; (9) PoOO;
 (10) SLL+PLO; (11) PoOP+SPoL+SOLn+SPoPo; (12) PLP;
 (13) OOO+PoPP; (14) SOL; (15) POO; (16) POP; (17) SOO;
 (18) POS+SLS.

Tableau 1

Répétabilité de la détermination des TG des huiles d'olive vierges par CLHP à une température de la colonne de 20 °C et avec du propiononitrile comme phase mobile

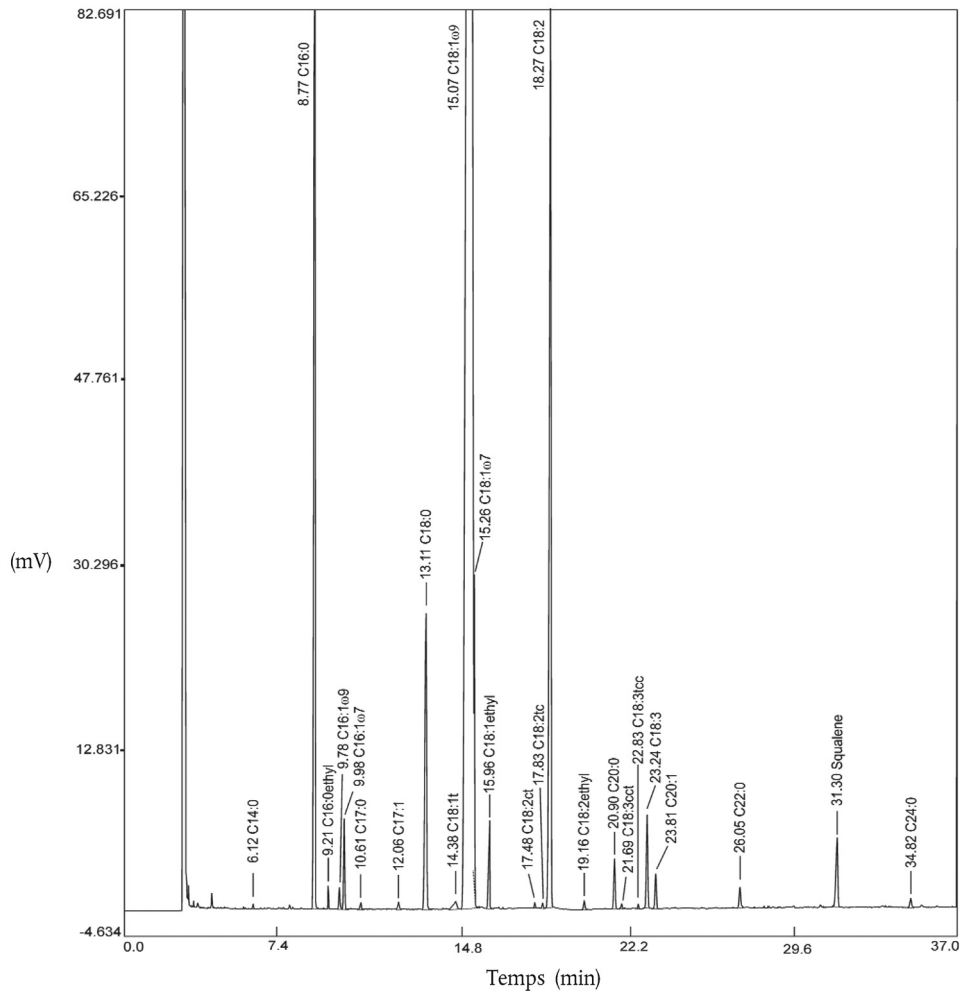
ECN	Pics CLHP	TG	Échantillon 1		Échantillon 2		Échantillon 3		Échantillon 4		Échantillon 5	
			Moyenne (%)	ETR _r (%)	Moyenne (%)	ETR _r (%)	Moyenne (%)	ETR _r (%)	Moyenne (%)	ETR _r (%)	Moyenne (%)	ETR _r (%)
42	1	LLL	0,020	7,23	0,066	5,18	0,095	4,10	0,113	0,95	0,34	1,05
	2	OLLn+ PoLL	0,085	7,44	0,24	1,78	0,26	2,25	0,35	2,02	0,50	2,83
	3	PLLn	0,023	15,74	0,039	5,51	0,057	5,62	0,082	4,35	0,12	6,15
44	4	OLL	0,47	1,52	1,53	0,42	2,62	0,98	3,35	1,05	4,37	1,13
	5	OOLn+ PoOL	1,07	2,01	1,54	0,46	1,61	0,71	1,72	1,07	1,77	2,40
	6	PLL+ PoPoO	0,11	12,86	0,24	4,37	0,65	1,32	1,35	0,73	2,28	1,24
	7	POLn+ PpoPo+ PpoL	0,42	5,11	0,49	2,89	0,55	2,01	0,85	1,83	1,09	1,96
46	8	OOL+ LnPP	6,72	0,63	8,79	0,31	11,21	0,42	13,25	0,33	15,24	0,23
	9	PoOO	1,24	2,86	1,49	0,95	1,63	0,85	2,12	0,45	2,52	0,56
	10	SLL+ PLO	2,70	0,65	4,05	0,70	6,02	0,65	9,86	0,53	11,53	0,31
	11	PoOP+ SPoL+ SOLn+ SPoPo	0,64	4,42	0,69	3,02	0,79	1,23	1,53	0,89	1,70	1,66

ECN	Pics CLHP	TG	Échantillon 1		Échantillon 2		Échantillon 3		Échantillon 4		Échantillon 5	
			Moyenne (%)	ETR _r (%)	Moyenne (%)	ETR _r (%)	Moyenne (%)	ETR _r (%)	Moyenne (%)	ETR _r (%)	Moyenne (%)	ETR _r (%)
48	12+13	OOO+ PLP+ PoPP	49,60	0,07	48,15	0,06	42,93	0,06	33,25	0,10	24,16	0,06
	14	SOL	0,82	1,72	0,92	1,56	1,05	1,32	1,25	1,05	1,60	1,77
	15	POO	22,75	0,25	21,80	0,20	21,05	0,30	20,36	0,35	20,17	0,14
50	16	POP	3,05	0,46	4,56	0,42	4,98	0,52	5,26	0,41	5,57	0,38
	17	SOO	6,87	0,21	5,56	0,33	4,86	0,43	4,12	0,72	3,09	0,69
	18	POS+ SLS	1,73	1,23	1,65	1,10	1,54	0,99	1,49	1,10	1,41	1,00

n = 3 réplicats
ETR_r = Écart type relatif de la répétabilité

Figure 2

Chromatogramme CG des esters alkylques d'acides gras obtenus à partir d'une huile de grignons d'olive par transestérification avec une solution à froid de KOH dans du méthanol



7. DÉTECTION D'HUILES ÉTRANGÈRES DANS LES HUILES D'OLIVE

La méthode de calcul pour la détection des huiles étrangères dans les huiles d'olive au moyen d'une comparaison d'algorithmes mathématiques avec une base de données constituée à partir d'huiles d'olive authentiques figure à l'annexe I de la norme COI/T.20/Doc. N° 25.»
