Amélioration des méthodes de dosage de traces d'hexane résiduel dans les huiles végétales raffinées

Improving methods for determining the quantity of trace elements of residual hexane in refined vegetable oils

Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 8, Numéro 2, 167-73, Mars - Avril 2001, Fondamental

Auteur(s) : Florence LACOSTE, Evelyne BRENNE, Jean-Louis COUSTILLE, Iterg, rue Monge, 33600 Pessac.

Résumé : Afin d'améliorer la sensibilité et la répétabilité du dosage des traces d'hexane résiduel dans les corps gras pour des teneurs de l'ordre du mg/kg, une optimisation de la méthode décrite dans la norme Afnor NF T 60-257 a été entreprise en chromatographie en phase gazeuse. L'utilisation d'une colonne de type wide-bore à film épais, en couplage avec un appareil automatique d'espace de tête statique ou même en pratiquant l'analyse avec injection manuelle, permet de quantifier 0,25 mg/kg d'hexane technique. La linéarité de la réponse est très bonne dans le domaine de teneurs considéré, de 1 à 10 mg/kg. Les taux de récupération sont satisfaisants puisqu'ils sont compris entre 93 et 107 % pour les échantillons de concentration en hexane technique comprise entre 0,25 et 2 mg/kg. Les résultats témoignent également de la bonne répétabilité de cette méthode ; en effet, pour une concentration de 1 mg/kg, le coefficient de variation est d'environ 3 %.

Mots-clés : huiles végétales raffinées, résidus, solvant d'extraction, hexane technique, chromatographie en phase gazeuse, espace de tête statique.

Summary : In order to increase the sensitivity and repeatability of the determination of residual hexane content in fats and oils for levels of about 1 mg/kg, an optimization of the procedure given in the Afnor standard NF T 60-257 was realized. Using a wide-bore gas chromatography column, coupled with an automatic headspace apparatus or even operating in manual injection, allows to quantify 0.25 mg/kg of technical hexane. Linearity of the response is very good in the considered scale, 1 to 10 mg/kg. Recovery rates are satisfying, between 93 and 107% for samples with levels between 0.25 and 2 mg/kg of technical hexane. The improved method has also a good repeatability ; relative standard deviation is about 3% for a 1 mg/kg concentration.

Keywords : refined vegetable oils, traces, extraction solvent, technical hexane, gas chromatography, static headspace.

ARTICLE

L'hexane technique est d'un usage courant en extraction industrielle des oléagineux. Il permet de récupérer l'huile suite à l'aplatissage ou au broyage des graines (soja) ou celle restant dans le tourteau après l'étape de pression (colza, tournesol, etc.). En principe, le raffinage et, en particulier, la désodorisation sont censés éliminer la totalité de ce mélange d'hydrocarbures constitué principalement de n-hexane et en moindre proportion de 2-méthyl-pentane, 3-méthyl-pentane, méthyl-cyclopentane et cyclohexane.

La législation française concernant les résidus d'hexane dans les corps gras (graisses, huiles et beurre de cacao) n'a cessé d'évoluer depuis le début des années 70. En effet, la teneur maximale en hexane technique fixée à 50 mg/kg par l'arrêté de 1973 [1] a été abaissée à 5 mg/kg en 1990 [2] suite à un rapprochement des législations des États membres de la CEE. Cette valeur limite est actuellement de 1 mg/kg depuis 1998 [3].

Aujourd'hui, les méthodes d'analyse normalisées pour ce dosage, sur le plan international ou au niveau national, ont des performances restant en deçà de cette exigence. En effet, la norme NF EN ISO 9832 [4] ne convient que pour des teneurs supérieures ou égales à 10 mg/kg, alors que la norme NF T 60-257 [5] permet de doser les faibles quantités d'hexane à partir de 2 mg/kg.

L'objectif de notre étude a été d'améliorer la sensibilité et la précision de ces méthodes de dosage de façon à couvrir un domaine de concentrations de 0,5 à 10 mg/kg. À cet effet, deux appareils automatiques de génération d'espace de tête ont été testés, de même que l'utilisation d'une colonne capillaire de type *wide-bore* imprégnée d'un film épais autorisant l'injection de volumes gazeux plus importants. De plus, la possibilité de réaliser l'analyse avec une injection manuelle a été vérifiée, ceci afin de permettre aux laboratoires réalisant seulement des contrôles ponctuels de s'affranchir de l'investissement d'un appareil automatique.

Travail expérimental

Matériel

Nous avons pu disposer et mettre en œuvre deux appareils pour génération d'espace de tête selon le mode statique travaillant de façon automatique en gardant comme référence la technique manuelle avec flacon et seringue à gaz.

Descriptif de l'appareil HS 500 (de CTC Analytics AG)

Disposant de ce matériel au laboratoire, nous l'avons couplé avec un chromatographe en phase gazeuse afin de réaliser une série d'essais. L'appareil est composé :

- d'un plateau permettant de recevoir 50 flacons de 10 ml dans lesquels sont placés les échantillons ;
- d'un four réglé thermiquement (de 30 à 120 °C), muni d'un système d'agitation et pouvant admettre deux flacons ;
- d'un système mobile de prélèvement automatique de l'échantillon gazeux à l'aide d'une seringue chauffée, de capacité maximale de 2,5 ml.

Descriptif de l'appareil HS 40 XL (de Perkin Elmer)

Les travaux publiés par Ollivier en 1996 et 2000 [6, 7] font état, sur ce type d'appareil, d'une sensibilité accrue par rapport à la méthode décrite dans la norme NF T 60-257. Ayant pu disposer momentanément de ce matériel, nous avons souhaité en tester les possibilités. Il se compose :

- d'un carrousel permettant l'analyse de 40 échantillons (flacons de 10 ou 20 ml) ;
- d'un four régulé pouvant contenir quatre flacons ;
- d'un dispositif comportant une aiguille mobile permettant la pressurisation du flacon puis l'évacuation de la fraction gazeuse de l'échantillon vers le chromatographe ;
- d'une ligne de transfert thermostatée (volume mort réduit : 50 µl).

Le principe de fonctionnement en est le suivant :

Étape 1 : Génération de l'espace de tête par chauffage de l'échantillon.

Étape 2 : La pressurisation du flacon à l'aide du gaz vecteur intervient, *via* l'aiguille pénétrant alors à travers le septum. Durant les quelques minutes de la phase de pressurisation, l'aiguille reste en position « basse ».

Étape 3 : Ensuite, grâce à l'action d'un jeu de vannes situé en amont de l'aiguille, l'arrivée du gaz vecteur se trouve en position fermée et l'échantillon gazeux sous pression est injecté dans la colonne de chromatographie sous l'effet de la détente. Les vannes sont ensuite réouvertes de façon à introduire le gaz vecteur dans le flacon, ce qui a pour effet de stopper l'injection.

Les paramètres dont les valeurs peuvent être modifiées sont nombreux : durée et température de l'étape de désorption, températures de l'aiguille et de la ligne de transfert, durée d'injection (fixant le volume injecté), durée de pressurisation, durée de retrait de l'aiguille après injection, pression d'hélium (déterminée par le débit en sortie colonne).

Modes opératoires

Adaptation à l'injection manuelle des conditions d'analyse utilisées avec le HS 40 XL

Les conditions chromatographiques utilisées avec le HS 40 XL ont été conservées : volume gazeux injecté de 2,5 µl, colonne de type *wide-bore*, programme thermique, débit du gaz vecteur.

Les conditions de génération de l'espace de tête (température, durée, prise d'essai) ont été volontairement calquées sur celles des normes existantes [4, 5].

Récapitulatif des caractéristiques des méthodes testées

Le *tableau 1* présente un récapitulatif des conditions opératoires concernant :

- la méthode décrite dans la norme NF T 60-257
- l'utilisation de l'appareil HS 500 (de CTC Analytics AG)

- l'utilisation de l'appareil HS 40 XL (de Perkin Elmer) couplé à un chromatographe équipé d'une colonne de type *wide-bore*
- la méthode fondée sur l'injection manuelle et l'utilisation d'une colonne de type *wide-bore*.

Résultats

Évaluation de l'appareil HS 500 (de CTC Analytics AG)

Une comparaison entre l'injection manuelle selon la norme NF T 60-257 et l'utilisation du HS 500 a été réalisée avec des échantillons contenant des teneurs en hexane technique de 1 à 10 mg/kg. Les résultats montrent que le système automatique fournit une réponse inférieure à celle obtenue en injectant manuellement les échantillons (*figure 1*). Rappelons que la seule différence réside dans la taille des flacons, mais que le rapport prise d'essai/volume du flacon a été maintenu identique.

La perte de signal en utilisant le système automatique, comparativement à l'injection manuelle, est estimée à 40 %. La seringue à gaz du HS 500 n'étant pas équipée de vanne, il se pourrait qu'une partie de l'échantillon gazeux s'échappe de la seringue lors de son déplacement, entre le prélèvement et l'injection. Cette hypothèse pourrait également justifier la différence du facteur d'étalonnage F mise en évidence entre les deux modes d'injection. Celui-ci a été déterminé, pour ces deux modes d'injection, en respectant le protocole d'étalonnage décrit dans la norme NF T 60-257 (préparation des échantillons d'étalonnage, calcul du facteur d'étalonnage). En utilisant l'appareil HS 500, le facteur F augmente comparativement à l'injection manuelle (*tableau 2*) ; l'hexane plus volatil est partiellement éliminé par rapport à l'heptane.

Une évaluation des taux de récupération a été réalisée avec des échantillons préparés par dilutions successives d'une huile raffinée complémentée à 100 mg/kg. Les concentrations étudiées sont inférieures ou égales à 1 mg/kg. Dans ce domaine de concentration, l'utilisation de l'appareil HS 500 conduit à un surdosage puisque les taux de récupération sont systématiquement supérieurs à 110 %, ce qui n'est pas le cas avec la méthode décrite dans la norme NF T 60-207 (*tableau 3*).

En utilisant la méthode décrite dans la norme NF T 60-257 (injection manuelle), on note que, pour l'échantillon contaminé à 0,25 mg/kg, seuls trois des isomères de l'hexane technique sont détectés : les méthyl-2- et méthyl-3-pentane et le n-hexane. Il faut une concentration d'au moins 1 mg/kg pour que les cinq isomères soient détectés. Ceci explique que la limite de quantification soit fixée à 2 mg/kg dans cette norme.

Évaluation de l'appareil HS 40 XL (de Perkin Elmer)

Comparativement aux conditions de génération d'*headspace* préconisées par la norme, nous avons réduit la durée de désorption. En effet, entre 15 et 60 minutes, aucune augmentation du signal n'est observée (*figure 2*). Sachant par expérience qu'il est nécessaire d'attendre 15 minutes pour atteindre l'équilibre thermique, nous avons fixé la durée de désorption à 30 minutes.

En examinant la droite d'étalonnage (*figure 3*), il apparaît que la réponse est environ deux fois supérieure à celle obtenue lors des essais réalisés selon la norme NF T 60-257 (injection manuelle), ce qui n'est pas surprenant puisque la quantité injectée est 2,4 fois supérieure.

Le facteur d'étalonnage a été déterminé en respectant le protocole d'étalonnage décrit dans la norme NF T 60-257 (préparation des échantillons d'étalonnage, calcul du facteur d'étalonnage) : il est de 0,48.

Afin d'évaluer la sensibilité de l'appareil, différents échantillons ont été préparés par dilutions successives, à partir d'une huile raffinée complémentée à 100 mg/kg, jusqu'à obtenir des échantillons d'huile de teneurs faibles comprises entre 0,10 et 0,95 mg/kg d'hexane technique.

La *figure 4*, présentant les profils chromatographiques obtenus pour l'huile de dilution et un échantillon complémenté à hauteur de 0,10 mg/kg, montre que la limite de détection peut être fixée à 0,10 mg/kg. En effet, la somme des surfaces correspondant aux isomères de l'hexane technique est alors environ 2,6 fois plus élevée que celle obtenue pour l'huile de dilution.

À partir des résultats obtenus pour ces échantillons volontairement chargés en hexane, le taux de récupération a été calculé (*tableau 4*). On remarque que l'huile de dilution contient environ 60 µg/kg d'hexane technique. En ce qui concerne les taux de récupération, les valeurs sont comprises entre 88 et 103 %, ce qui est tout à fait satisfaisant compte tenu des faibles teneurs étudiées. Le coefficient de variation de la concentration en hexane technique est compris entre 1,4 et 5 % pour des teneurs entre 0,25 et 1 mg/kg.

Ceci montre qu'il est tout à fait possible de doser correctement des teneurs inférieures à 1 mg/kg en utilisant un générateur automatique d'espace de tête statique couplé à une colonne *wide-bore*. Rappelons que, dans la norme NF T 60-257, le coefficient de variation de répétabilité est compris entre 3 et 5 % pour une teneur de 2 mg/kg.

Application de la méthode sur colonne wide-bore avec injection manuelle

Les étapes suivantes ont été réalisées : vérification de la linéarité de la réponse, évaluation du taux de récupération, estimation de la répétabilité, rédaction sous forme pré-normative du texte de la méthode d'analyse utilisée (*annexe*).

La linéarité de la réponse, vérifiée en réalisant une gamme d'étalonnage selon la méthode proposée (*annexe*), est excellente dans le domaine considéré, 1 à 10 mg/kg (*figure 5*). Le facteur d'étalonnage est identique à celui obtenu lors des essais réalisés avec l'appareil automatique HS 40 XL, soit de 0,48.

Afin d'évaluer les taux de récupération, des échantillons d'huile de tournesol complémentés en hexane technique ont été préparés par dilutions successives : solution à 1 000 mg/kg dans l'huile, puis à 100 mg/kg, puis à 10 mg/kg, puis enfin dilution de la solution à 10 mg/kg entre 0,1 et 1 mg/kg. Les résultats présentés dans le *tableau 5* montrent que les taux de récupération sont satisfaisants puisqu'ils sont compris entre 93 et 107 % pour les échantillons de concentration en hexane technique comprise entre 0,25 et 2 mg/kg. Pour l'échantillon à 0,1 mg/kg, ce taux est un peu plus fort (112 %).

La répétabilité de la méthode a été testée pour des taux d'incorporation d'hexane technique de 0,25 et 1 mg/kg. Les résultats témoignent que l'injection manuelle, lorsqu'elle est bien maîtrisée, peut conduire à des résultats aussi répétables qu'avec un appareil automatisé (*tableau 6*).

En effet, pour une concentration de 1 mg/kg, le coefficient de variation est identique à celui obtenu avec l'appareil HS 40 XL, soit d'environ 3 %.

Annexe

Méthode d'essai sous forme pré-normative - Corps gras d'origines animale et végétale - Dosage de faibles quantités résiduelles d'hexane technique

1. Domaine d'application

Le présent document décrit une méthode de dosage de faibles quantités résiduelles d'hexane technique dans les huiles végétales raffinées.

Elle permet le dosage de teneurs en hexane technique comprises entre 0,2 mg et 10 mg par kilogramme de corps gras.

2. Références normatives

NF EN ISO 661: 1995, Corps gras d'origines animale et végétale. Préparation de l'échantillon pour essai.

3. Principe

Désorption des hydrocarbures volatils par chauffage à 80 °C dans un récipient fermé, après ajout d'un étalon interne. Dosage des hydrocarbures volatils par technique d'espace de tête statique et chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire *wide-bore*.

4. Réactifs

Sauf indication contraire tous les réactifs doivent être de qualité connue.

4.1 Étalon interne, n-heptane exempt d'hexane (pureté > 99 %).

4.2 Gaz vecteur : hydrogène ou hélium ou azote (renfermant moins de 10 mg/kg d'oxygène).

4.3 Gaz auxiliaires : hydrogène (pur à 99,9 %) et air exempts d'impuretés organiques.

4.4 Hexane technique, d'une composition analogue à celle de l'hexane utilisé dans les méthodes de traitement industriel.

4.5 Huile végétale, raffinée et désodorisée, ayant une teneur en hexane technique inférieure à 0,1 mg/kg.

4.6 n-octane, exempt d'hexane et d'heptane (pureté > 99 %).

5. Appareillage

5.1 Chromatographe en phase gazeuse à colonne capillaire

5.1.1 Colonne capillaire, de 30 m de longueur, de phase stationnaire type polysiloxane apolaire ou faiblement polaire (DB 1, CPSil 5CB ou similaire), à film d'épaisseur égale à 5 µm et diamètre

intérieur de 0,53 mm.

5.1.2 Détecteur à ionisation de flamme.

5.1.3 Système d'acquisition de données ou intégrateur.

5.1.4 Appareil de génération d'espace de tête statique multi-échantillon et d'injection automatique (facultatif).

5.2 Matériel de laboratoire

5.2.1 Capsules sertissables et déchirables en aluminium.

5.2.2 Enceinte thermostatée à 80 °C.

5.2.3 Fioles jaugées, classe A, de 100 ml.

5.2.4 Flacons en verre blanc (vial) de 25 ml, type « pénicilline » à sertir.

5.2.5 Pince à sertir.

5.2.6 Pipettes jaugées, classe A, deux traits, de 1 ml.

5.2.7 Seringues de 10 µl, utilisées individuellement pour préparer la gamme d'étalonnage et introduire l'étalon interne.

5.2.8 Seringue à gaz de 5 ml, équipée d'une vanne, utilisée uniquement pour l'analyse des solvants résiduels.

5.2.9 Septa en butyl avec disque téflon, inertes aux corps gras et aux solvants.

5.2.10 Vortex

6. Échantillonnage

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif, non endommagé ou modifié lors du transport et de l'entreposage. L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans le présent document. Une méthode d'échantillonnage recommandée est donnée dans la norme NF EN ISO 5555.

Il est indispensable que l'échantillon soit protégé d'un gain ou d'une perte de solvant.

7. Préparation de l'échantillon à analyser

Préparer l'échantillon pour essai conformément à la norme NF EN ISO 661.

8. Mode opératoire

8.1 Conditions chromatographiques

Les conditions d'analyses chromatographiques sont choisies en tenant compte des caractéristiques

de la colonne et de la nature du gaz vecteur.

Par exemple :

- la température du four est maintenue à 50 °C pendant 8 minutes puis programmée, à raison de 10 °C/min, jusqu'à 120 °C, la colonne est ensuite maintenue à 120 °C pendant 5 min puis refroidie à 50 °C ;

- la température du détecteur est maintenue à 150 °C et celle de l'injecteur à 200 °C.

La pression du gaz vecteur est ajustée de façon à chromatographier le n-hexane en 3 min et à maintenir le débit du gaz dans la colonne à environ 13 ml/min.

La fuite de l'injecteur diviseur est d'environ 12 ml/min.

Le détecteur à ionisation de flamme est réglé sur sa sensibilité maximale.

8.2 Préparation des solutions d'étalonnage

8.2.1 Solution d'hexane technique à 6,70 mg/ml. Prélever exactement 1 ml d'hexane technique (4.4) dans une fiole jaugée de 100 ml (5.2.3) et compléter au volume avec l'octane (4.6).

8.2.2 Solution d'heptane à 6,84 mg/ml. Prélever exactement 1 ml d'heptane (4.1) dans une fiole jaugée de 100 ml (5.2.3) et compléter au volume avec l'octane (4.6).

8.3 Préparation de la gamme d'étalonnage

Utiliser comme support et comme témoin à blanc une huile raffinée, par exemple une huile de tournesol (4.5).

Peser exactement 5,00 g ($\pm 0,02$ g) d'huile végétale (4.5) dans six flacons (5.2.4). À l'aide d'une seringue (5.2.7), introduire dans chacun des flacons les volumes de solution d'hexane technique (8.2.1) et de solution d'heptane (8.2.2) indiqués dans le *tableau*.

Fermer chacun des flacons avec un septum (5.2.9) et une capsule métallique (5.2.1) et homogénéiser chaque flacon au vortex (5.2.10) en prenant soin de ne pas mettre du corps gras sur le septum.

8.4 Préparation de l'échantillon à analyser

Peser exactement 5,00 g ($\pm 0,02$ g) d'huile à analyser. Ajouter 5,0 ml de solution d'heptane (8.2.2). Fermer chacun des flacons avec un septum (5.2.9) et une capsule métallique (5.2.1). Homogénéiser chaque flacon au vortex (5.2.10) en prenant soin de ne pas mettre du corps gras sur le septum (5.2.9). Chaque essai sera effectué en double.

8.5. Désorption des volatils organiques

Placer, toutes les 20 min, un flacon dans l'enceinte thermostatée à 80 °C et le maintenir pendant 60 min.

8.6. Analyse chromatographique des étalons et des échantillons

À l'aide d'une seringue (5.2.8) chauffée à 60 °C, prélever 2,5 ml de phase gazeuse située au-dessus du corps gras et injecter immédiatement dans le chromatographe.

Note : dans le cas de l'utilisation d'un appareil de génération d'espace de tête statique, adapter les quantités d'échantillon et volumes d'injection selon les caractéristiques de l'appareil et l'optimisation préalablement faite.

8.7. Identification

Dans les conditions chromatographiques décrites en (8.1), le chromatogramme de la solution étalon (*figure 4*) présente :

1 - cinq pics de temps de rétention voisins de 2,56, 2,84, 3,18, 3,92, 5,02 min correspondant respectivement aux isomères de l'hexane technique (4.4) ;

2 - un pic de temps de rétention voisin de 6,77 min correspondant à l'heptane (4.1).

9. Détermination du facteur d'étalonnage

Détermination du facteur d'étalonnage pour chacune des solutions d'étalonnage (*tableau*) enrichies en hexane technique, selon la formule suivante :

$$F = \frac{Ch \times A_{ei}}{(A_{éch} - A_{bl}) \times C_{ei}}$$

où :

A_{éch} : somme des aires des pics correspondant aux isomères de l'hexane technique (4.4) dans les solutions d'étalonnage.

A_{bl} : somme des aires des pics correspondant aux isomères de l'hexane technique (4.4) présents dans l'huile végétale (4.5) utilisée pour la préparation de la gamme d'étalonnage (8.2.4).

A_{ei} : aire du pic correspondant à l'heptane (4.1) dans les solutions d'étalonnage.

Ch : concentration en hexane technique, dans les solutions d'étalonnage (8.2.4), exprimée en mg/kg.

C_{ei} : concentration en heptane, dans les solutions d'étalonnage (8.2.4), exprimée en mg/kg.

Exprimer les résultats avec deux décimales.

Calculer la valeur de la moyenne arithmétique F des cinq échantillons d'étalonnage qui doit être proche de 0,45. Le coefficient de variation obtenu doit être inférieur à 15 %.

10. Expression des résultats

La teneur en hexane technique résiduel dans l'échantillon à analyser, W, exprimée en mg/kg, est

donnée par la formule suivante :

$$W = \frac{A'_{\text{éch}} \times F \times C_{\text{ei}}}{A'_{\text{ei}}}$$

où :

A'éch : somme des aires des pics correspondant aux isomères de l'hexane technique présents dans l'échantillon.

A'ei : aire du pic correspondant à l'heptane (8.4).

F : moyenne arithmétique du facteur d'étalonnage (9).

Cei : concentration en heptane, dans les solutions étalons (8.2.4), exprimée en mg/kg c'est-à-dire 6,84 ppm.

CONCLUSION

L'objectif de ces travaux était l'amélioration de la sensibilité et de la répétabilité du dosage des traces d'hexane dans les corps gras pour des teneurs de l'ordre de la ppm. Pour cela, deux systèmes automatiques de génération d'espace de tête ont été testés au laboratoire.

La configuration de l'appareil HS 500 de CTC Analytics AG ne nous paraît pas optimale. En effet, le signal obtenu est nettement plus faible que lorsque l'injection est faite manuellement, cela dans les mêmes conditions d'analyse.

L'appareil HS 40 XL de Perkin Elmer a été volontairement associé à une colonne de type *wide-bore* pour permettre l'injection de volumes gazeux plus élevés. En augmentant le volume d'échantillon gazeux de 1 à 2,4 ml il devient possible de quantifier, avec exactitude et avec une précision suffisante (CV de 5 %), la teneur en hexane technique à partir de 0,25 mg/kg. Ce matériel est d'un intérêt évident, gain de temps, bonne sensibilité, dans des unités qui doivent assurer des contrôles en série.

Ces essais ont également prouvé les performances des colonnes *wide-bore* imprégnées d'un film épais. Nous avons vérifié que cette configuration laissait aussi la possibilité de réaliser l'analyse avec injection manuelle. Dans ce cas, les résultats sont également satisfaisants puisque, pour une concentration de 1 mg/kg, le coefficient de variation est d'environ 3 %.

Le texte de la méthode a été rédigé sous forme pré-normative. Au cours de l'année 2001, une analyse circulaire sera organisée par l'Iterg, en relation avec l'Afnor, afin d'obtenir des valeurs de fidélité pour cette nouvelle méthode qui sera ensuite proposée à la normalisation.

REFERENCES

1. Arrêté du 12 février 1973. Liste des substances dont l'emploi est autorisé pour le raffinage et la transformation des corps gras alimentaires (JO du 15.02.1973).
2. Arrêté du 19 novembre 1990. Relatif aux solvants d'extraction utilisés dans la fabrication des denrées alimentaires ou de leurs ingrédients (JO du 06.12.1990).
3. Arrêté du 22 juin 1998 modifiant celui du 19 novembre 1990 (JO du 21.07.1998).
4. Norme NF EN ISO 9832 (2000). Corps gras d'origines animale et végétale. Dosage de l'hexane technique résiduel.
5. Norme NF T 60-257 (1998). Corps gras d'origines animale et végétale. Dosage de faibles quantités d'hexane technique résiduel.
6. OLLIVIER D, BARRIDAS S, GUERERE M (1996). Mise au point du dosage de faibles teneurs d'hexane résiduel dans les huiles. *Ann Fals Exp Chim*, 89 : 227-33.
7. OLLIVIER D, SOUILLOL S, GUERERE M (2000). Détermination de faibles teneurs d'hexane résiduel dans les huiles végétales. *Ann Fals Exp Chim* 93 : 111-4.

Illustrations

Figure 1. Comparaison des réponses chromatographiques obtenues en injection manuelle et avec le HS 500.

Figure 2. Appareil HS 40 XL - Influence de la durée de désorption sur la réponse chromatographique.

Figure 3. Appareil HS 40 XL - Droite d'étalonnage.

Figure 4. Profils chromatographiques obtenus avec le HS 40 XL. a. Huile de dilution. b. Échantillon complémenté à 0,10 mg/kg.

Figure 5. Injection manuelle sur colonne wide-bore. Linéarité de la réponse.

Tableau. Préparation des solutions de calibration.

µl de solution d'hexane technique (8.2.1)	Concentration en hexane technique (mg/kg) : Ch	µl de solution d'heptane (8.2.2)	Concentration en heptane (mg/kg) : Cei
0	0	5,0	6,84
1,0	1,34	5,0	6,84
2,0	2,68	5,0	6,84
4,0	5,36	5,0	6,84
7,0	9,38	5,0	6,84
10,0	13,4	5,0	6,84

Tableau 1. Récapitulatif des conditions analytiques des méthodes testées.

	Norme NF T 60-257	Appareil HS 500 (CTC Analytics)	Appareil HS 40 XL (Perkin Elmer)	Injection manuelle (colonne wide-bore)
	Génération de l'espace de tête			
Vial	25 ml	10 ml	22 ml	25 ml
Prise d'essai	5 g d'huile	2 g d'huile	5 g d'huile	5 g d'huile
Étalon interne	5 µl heptane au 1/100 octane	5 µl heptane au 1/250 octane	5 µl heptane au 1/100 octane	5 µl heptane au 1/100 octane
T° désorption	80 °C	80 °C	80 °C	80 °C
Durée désorption	1 h	1 h	30 min	1 h
Volume gazeux prélevé	1 ml	1 ml	2,4 ml	2,5 ml
Agitation	Aucune	1 000 rpm	Aucune	Aucune
Temps de pressurisation			2 min	
Temps d'injection			0,2 min	
Temps de retrait			0,5 min	
T° de l'aiguille			100 °C	
T° ligne de transfert			120 °C	
	Chromatographie en phase gazeuse			
Colonne	DB1 30m, 0,32 mm, 3 µm		DB1 30m, 0,53 mm, 5 µm	DB1 30m, 0,53 mm, 5 µm
T° injecteur	150 °C		120 °C	150 °C
T° détecteur	150 °C	Idem norme NF T 60-257	150 °C	200 °C
T° four	50 °C (3 min) → 100 °C (1 min) à 10 °C/min		50 °C (8 min) → 100 °C (1 min) à 10 °C/min	50 °C (8 min) → 120 °C (5 min) à 10 °C/min
Pression	0,7 bar (hydrogène)		0,6 bar (hélium)	0,6 bar (hélium)
Fuite	25 ml/min		Pas de fuite	12 ml/min
Débit	Non mesuré		12 ml/min	13 ml/min

El : étalon interne.

Tableau 2. Évaluation du facteur d'étalonnage en injection manuelle et avec le HS 500 (chromatographie suivant norme NF T 60-257).

Concentration hexane technique (mg/kg)	F (HS 500)	F (manuelle)
1,3	0,60	0,54
2,7	0,61	0,56
5,4	0,64	0,55
9,4	–	0,56
F moyen	0,62	0,55

$$F = W_h \times A_e / [(A_t - A_e) \times W_e]$$

A_t : surface totale (hexane + étalon interne)A_e : surface étalon interneA_h : surface hexane de l'huile de dilutionW_h : teneur en hexane du point de gammeW_e : teneur en étalon interne du point de gamme

(hexane = somme des 5 isomères)

Tableau 3. Évaluation du taux de récupération en injection manuelle et avec le HS 500 (chromatographie suivant norme NF T 60-257).

Conc. hexane technique théorique (mg/kg)	Conc. hexane dosée (mg/kg)		Récupération (%)	
	HS 500	manuelle	HS 500	manuelle
0,25	0,46	0,28	184	112
0,50	0,65	0,49	130	98
0,76	0,85	0,64	112	84
1,00	–	0,84	–	84

Soustraction de la concentration de l'huile de dilution effectuée.

Tableau 4. Appareil HS 40 XL – taux de récupération (moyenne de 5 injections).

Conc. hexane technique théorique (mg/kg)	Conc. hexane technique dosée	Taux de récupération (%)	Coefficient de variation (%)
0	0,06	–	12,4
0,10	0,10	103	12,3
0,25	0,22	89	5,0
0,49	0,45	92	1,4
0,74	0,65	88	4,8
0,95	0,86	90	3,0

Soustraction de la concentration de l'huile de dilution effectuée.

Tableau 5. Injection manuelle sur colonne wide-bore – taux de récupération. Domaine de concentration de 0,1 à 2 mg/kg.

Conc. hexane technique théorique (mg/kg)	Conc. hexane technique dosée	Taux de récupération (%)
0	0,022	–
0,099	0,111	112
0,248	0,238	96
0,530	0,533	100
0,780	0,832	107
1,034	0,984	95
1,258	1,165	93
2,022	1,989	98

Soustraction de la concentration de l'huile de dilution effectuée.

Tableau 6. Injection manuelle sur colonne wide-bore – répétabilité du dosage de l'hexane technique (moyenne de 5 injections).

Conc. hexane technique théorique (mg/kg)	Conc. hexane technique dosée	Taux de récupération (%)	Coefficient de variation (%)
Huile de dilution	0,039	–	–
0,248	0,268	108	0,7
1,034	1,069	103	2,9

Soustraction de la concentration de l'huile de dilution effectuée.