

AVANT-PROPOS

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique correspondant. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO, participent également aux travaux.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour approbation, avant leur acceptation comme Normes internationales par le Conseil de l'ISO.

La Norme internationale ISO 5518 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, et a été soumise aux comités membres en mars 1977.

Les comités membres des pays suivants l'ont approuvée : [ISO 5518:1978](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/274efe30-931e-4f27-a6f0-994772d9d328/iso-5518-1978)

Afrique du Sud, Rép. d'	Espagne	Pologne
Allemagne	France	Portugal
Australie	Ghana	Roumanie
Autriche	Hongrie	Tchécoslovaquie
Bulgarie	Inde	Thaïlande
Canada	Iran	Yougoslavie
Corée, Rép. de	Israël	
Égypte, Rép. arabe d'	Mexique	

Le comité membre du pays suivant l'a désapprouvée pour des raisons techniques :

Nouvelle-Zélande

Fruits, légumes et produits dérivés – Détermination de la teneur en acide benzoïque – Méthode spectrophotométrique

0 INTRODUCTION

La méthode de détermination de la teneur en acide benzoïque des fruits, des légumes et des produits dérivés, adoptée par l'Association des chimistes analytiques officiels (AOAC), U.S.A., est basée sur la technique de l'«émergence du pic» décrite par Stanley en 1959. Cette méthode a l'avantage d'être spécifique de l'acide benzoïque, à une exception près : l'acide *p*-chlorobenzoïque.

Il est toutefois nécessaire d'apporter une modification qui consiste à purifier l'extrait étheré par oxydation sulfochromique. On élimine ainsi l'action des matières colorantes de certains produits végétaux contenant des anthocyanes et, d'autre part, tous les acides oxybenzoïques et l'acide sorbique qui peuvent être présents si l'on a utilisé plusieurs antiseptiques. La purification, par ailleurs, augmente la sensibilité de la méthode.

La technique ainsi améliorée est également plus rapide.

Comme l'a déjà signalé Stanley, l'emploi du chloroforme ne convient pas pour le dosage de l'acide benzoïque. Des essais récents ont permis de faire ressortir la différence existant entre le coefficient de partage chloroforme-eau égal à 5 et le coefficient de partage oxyde diéthylique-eau égal à 33, ce qui nécessiterait, en utilisant le chloroforme, un plus grand nombre de lavages et une dilution des solutions d'essai.

1 OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

La présente Norme internationale spécifie une méthode de détermination de la teneur en acide benzoïque des fruits, des légumes et des produits dérivés.

Les acides chlorobenzoïques résistant à l'oxydation, la méthode est inapplicable en présence d'acide *p*-chlorobenzoïque, le spectre d'absorption de cet acide étant voisin de celui de l'acide benzoïque. Elle est également inapplicable en présence d'acide cinnamique qui est transformé en acide benzoïque par oxydation sulfochromique.

NOTE – L'acide cinnamique, compté comme acide benzoïque dans cette méthode, existe en général seulement à l'état de traces dans les végétaux; il ne peut donc avoir d'influence sur les résultats obtenus, à l'exception de l'écorce de cannelle qui en contient des quantités plus importantes.

2 PRINCIPE

Après homogénéisation du produit, dilution et acidification de la prise d'essai; extraction de l'acide benzoïque par

l'oxyde diéthylique, puis réextraction par voie alcaline de cet acide et purification par oxydation ménagée par le dichromate de potassium en milieu acide. Détermination, par spectrophotométrie, de l'acide benzoïque purifié dissous dans l'oxyde diéthylique.

3 RÉACTIFS

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

3.1 Acide tartrique, cristallisé.

3.2 Hydroxyde de sodium, solution environ 1 N.

3.3 Dichromate de potassium, solution à 33 à 34 g/l.

3.4 Acide sulfurique, solution obtenue en diluant 2 volumes d'acide sulfurique concentré (ρ_{20} 1,84 g/ml) avec 1 volume d'eau.

3.5 Oxyde diéthylique, récemment redistillé.

3.6 Acide benzoïque, solution étalon à 0,100 g/l dans l'oxyde diéthylique.

4 APPAREILLAGE

Matériel courant de laboratoire, et notamment :

4.1 Fioles jaugées, de 50 ml de capacité, conformes à l'ISO 1042.

4.2 Bêchers, de 50 et 100 ml de capacité.

4.3 Pipette, de 20 ml de capacité, conforme à l'ISO 648.

4.4 Pipettes graduées, conformes à l'ISO/R 835.

4.5 Flacons, de 250 ml de capacité, en verre borosilicaté, munis de bouchons en verre rodés.

4.6 Ampoules à décanter, de 500 ml de capacité.

4.7 Bain d'eau, réglable à une température de 70 à 80 °C.

4.8 Homogénéisateur.

4.9 Spectrophotomètre pour détermination dans l'ultra-violet, muni d'un monochromateur permettant des mesurages à 0,5 nm près, avec **cuves en silice** de 10 ou 20 mm de parcours optique (de 20 mm de préférence pour augmenter la sensibilité), munies de couvercles en verre rodés.

4.10 Balance analytique.

5 MODE OPÉRATOIRE

5.1 Préparation de l'échantillon pour essai

5.1.1 Produits liquides (jus, produits pulpeux fluides, sirops) et **produits épais** (marmelades, confitures)

Homogénéiser l'échantillon pour laboratoire après l'avoir soigneusement mélangé.

5.1.2 Produits solides (fruits, légumes)

Couper une partie de l'échantillon pour laboratoire en petits morceaux, retirer les noyaux et les loges carpellaires si nécessaire, et homogénéiser soigneusement environ 40 g de l'échantillon.

Les produits congelés ou surgelés doivent être d'abord décongelés en vase clos, et le liquide formé au cours de la décongélation doit être ajouté au produit avant homogénéisation.

5.2 Prise d'essai

5.2.1 Produits liquides

Prélever, à l'aide d'une pipette (4.3), 20 ml de l'échantillon pour essai (5.1) exempt de matières en suspension, les diluer avec environ 50 ml d'eau, et les placer dans une ampoule à décanter de 500 ml (4.6) (ampoule A).

NOTE — Le prélèvement peut également être effectué en masse, en pesant, à 0,01 g près, environ 20 g de l'échantillon pour essai.

5.2.2 Produits liquides pulpeux

Prélever 20 ml de l'échantillon pour essai (5.1). Les placer dans un mortier et diluer avec 20 ml d'eau. Après décantation, filtrer le liquide.

Reprendre le résidu successivement par deux fois 20 ml d'eau et filtrer après décantation.

Recueillir directement l'ensemble des filtrats dans une ampoule à décanter de 500 ml (4.6) (ampoule A).

NOTE — Le prélèvement peut également être effectué en masse, en pesant, à 0,01 g près, environ 20 g de l'échantillon pour essai.

5.2.3 Produits épais ou solides

Peser, à 0,01 g près, environ 10 g de l'échantillon pour essai (5.1) et, au moyen de 30 à 40 ml d'eau, les entraîner dans un flacon de 250 ml (4.5).

Ajouter environ 50 mg d'hydrogénocarbonate de sodium (voir la note). Agiter, puis placer et laisser sur le bain d'eau

(4.7), réglé à une température de 70 à 80 °C, durant 15 à 30 min. Filtrer le contenu du flacon et rincer deux fois en utilisant 15 à 20 ml d'eau chaque fois.

Recueillir l'ensemble des filtrats dans une ampoule à décanter de 500 ml (4.6) (ampoule A). Laisser refroidir.

NOTE — L'addition d'hydrogénocarbonate de sodium a pour but de neutraliser l'acide benzoïque dont des traces pourraient être perdues par volatilisation.

5.3 Extraction de l'acide benzoïque

5.3.1 Introduire 1 g de l'acide tartrique (3.1) dans l'ampoule à décanter (A) contenant la prise d'essai diluée (5.2), ajouter 60 ml de l'oxyde diéthylique (3.5) et agiter avec précaution.

Laisser décanter, puis recueillir la couche étherée dans une deuxième ampoule à décanter de 500 ml (4.6) (ampoule B).

Laver la phase aqueuse, dans la première ampoule (A), avec 60 ml de l'oxyde diéthylique.

Laisser décanter, puis recueillir la couche étherée et la rajouter à la première dans l'ampoule (B).

Procéder de même à une troisième extraction avec 30 ml de l'oxyde diéthylique et réunir la couche étherée aux deux premières dans l'ampoule (B).

5.3.2 Extraire l'acide benzoïque de la solution étherée en ajoutant successivement 10 ml puis 5 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (3.2) et ensuite deux fois 10 ml d'eau. Après chaque ajout, agiter, puis laisser décanter et recueillir la phase aqueuse.

Rassembler les phases aqueuses dans une capsule. Placer la capsule sur le bain d'eau (4.7) réglé à une température de 70 à 80 °C et l'y maintenir jusqu'à réduction de moitié environ du volume de la solution alcaline, pour chasser l'oxyde diéthylique resté dissous.

5.4 Purification de l'acide benzoïque

Après refroidissement, transvaser le contenu de la capsule dans un flacon de 250 ml (4.5) contenant un mélange formé de 20 ml de la solution d'acide sulfurique (3.4) et de 20 ml de la solution de dichromate de potassium (3.3). Boucher le flacon, agiter et laisser en contact durant au moins 1 h.

NOTES

1 D'autres conservateurs dérivés de l'acide benzoïque peuvent être présents. Dans ce cas, laisser en contact durant au moins 3 h pour oxyder complètement les trois acides hydroxybenzoïques qui, de ce fait, n'interfèrent plus lors de la détermination. La prolongation du temps de réaction ne présente aucun inconvénient, car l'acide benzoïque résiste à ce mélange oxydant.

2 Lorsque le produit initial contient également de l'acide sorbique, il est nécessaire de prolonger l'oxydation durant 24 h pour assurer la destruction complète de cet acide.

5.5 Extraction de l'acide benzoïque purifié

Extraire l'acide benzoïque en traitant à deux reprises la solution précédente (5.4) par 20 à 25 ml de l'oxyde

diéthylique et en recueillant les solutions éthérées. Laver les solutions éthérées deux fois avec quelques millilitres d'eau. Après les avoir décantées très soigneusement, les filtrer sur un papier filtre sec et recueillir le filtrat dans une fiole jaugée de 50 ml (4.1). Laver ensuite le filtre avec quelques millilitres de l'oxyde diéthylique, en ajoutant suffisamment de solvant de lavage au filtrat pour compléter au trait repère.

5.6 Détermination

Mesurer, au moyen du spectrophotomètre (4.9), l'absorbance de la solution éthérée (5.5) par rapport à l'absorbance de l'oxyde diéthylique pur, à 267,5 à 272 nm et à 276,5 nm (voir la note).

L'absorbance due à l'acide benzoïque est donnée par la formule de la mesure différentielle de l'émergence à 272 nm :

$$A_2 - \frac{A_1 + A_3}{2}$$

où

A_1 est l'absorbance à 267,5 nm;

A_2 est l'absorbance à 272 nm;

A_3 est l'absorbance à 276,5 nm.

NOTE — L'examen du spectre d'absorption de la solution éthérée d'acide benzoïque purifié permet de caractériser ce produit par la présence de deux pics à 272 nm et à 279 nm.

L'acide benzoïque extrait par l'oxyde diéthylique est déterminé par mesurage de la hauteur relative du pic à 272 nm par rapport à la droite qui joint les points dont l'abscisse est comprise entre 267,5 et 276,5 nm.

5.7 Nombre de déterminations

Effectuer deux déterminations sur le même échantillon pour essai (5.1).

5.8 Établissement de la courbe d'étalonnage

Dans une série de six fioles jaugées de 50 ml (4.1), introduire respectivement 5 — 7,5 — 10 — 12,5 — 15 et 20 ml de la solution étalon d'acide benzoïque (3.6). Compléter au trait repère avec de l'oxyde diéthylique (3.5).

Les solutions obtenues contiennent respectivement 10 — 15 — 20 — 25 — 30 et 40 mg d'acide benzoïque par litre.

Effectuer sur ces solutions les mesurages différentiels en opérant comme indiqué en 5.6.

Tracer la courbe donnant les mesures différentielles en fonction du nombre de milligrammes d'acide benzoïque par litre indiqué précédemment.

6 EXPRESSION DES RÉSULTATS

6.1 Mode de calcul et formules

6.1.1 Prélèvement effectué en volume

La teneur en acide benzoïque, exprimée en milligrammes par litre de produit, est donnée par la formule

$$m_2 \times \frac{50}{20} = 2,5 m_2$$

où m_2 est la masse, en milligrammes, d'acide benzoïque, lue sur la courbe d'étalonnage (5.8).

6.1.2 Prélèvement effectué en masse

La teneur en acide benzoïque, exprimée en milligrammes par kilogramme de produit, est donnée par la formule

$$m_2 \times \frac{50}{m_1}$$

où

m_1 est la masse, en grammes, de la prise d'essai (5.2);

m_2 est la masse, en milligrammes, d'acide benzoïque, lue sur la courbe d'étalonnage (5.8).

6.2 Répétabilité

La différence entre les résultats des deux déterminations, effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre par le même analyste, ne doit pas dépasser 10 mg d'acide benzoïque par litre ou par kilogramme, selon le cas.

NOTE — La méthode permet de déterminer la quantité d'acide benzoïque à 2 mg près lorsque le produit en contient moins de 50 mg par litre ou par kilogramme.

7 PROCÈS-VERBAL D'ESSAI

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et le résultat obtenu. Il doit, en outre, mentionner tous les détails opératoires non prévus dans la présente Norme internationale, ou facultatifs, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur le résultat.

Le procès-verbal d'essai doit donner tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 5518:1978

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/274efe30-931e-4f27-a6f0-99477f2dbd32/iso-5518-1978>

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 5518:1978

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/274efe30-931e-4f27-a6f0-99477f2dbd32/iso-5518-1978>

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 5518:1978

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/274efe30-931e-4f27-a6f0-99477f2dbd32/iso-5518-1978>