
Norme internationale



6557/1

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION • МЕЖДУНАРОДНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ • ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION

**Fruits, légumes et produits dérivés — Détermination de la teneur en acide ascorbique —
Partie 1: Méthode de référence**

Fruits, vegetables and derived products — Determination of ascorbic acid — Part 1: Reference method

Première édition — 1986-10-01

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 6557-1:1986](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ba50afae-bc23-4d9f-bb25-0bd715015e91/iso-6557-1-1986)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ba50afae-bc23-4d9f-bb25-0bd715015e91/iso-6557-1-1986>

CDU 635.1/.6 : 543.426 : 547.475.2

Réf. n° : ISO 6557/1-1986 (F)

Descripteurs : produit agricole, fruit, légume, produit dérivé des fruits et légumes, analyse chimique, dosage, acide ascorbique, méthode spectrochimique.

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 créé à cet effet. 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. Les Normes internationales sont approuvées conformément aux procédures de l'ISO qui requièrent l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 6557/1 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*.

L'attention des utilisateurs est attirée sur le fait que toutes les Normes internationales sont de temps en temps soumises à révision et que toute référence faite à une autre Norme internationale dans le présent document implique qu'il s'agit, sauf indication contraire, de la dernière édition.

Fruits, légumes et produits dérivés — Détermination de la teneur en acide ascorbique —

Partie 1: Méthode de référence

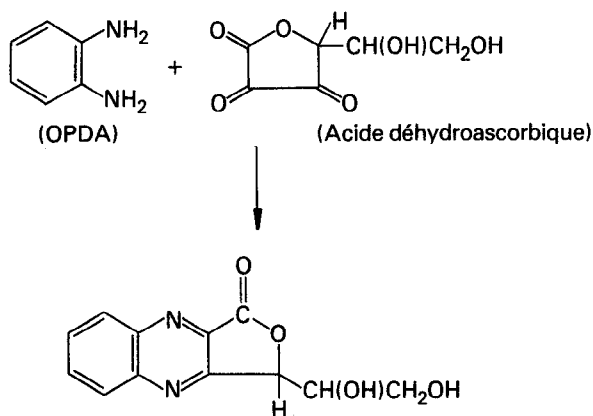
1 Objet et domaine d'application

La présente partie de l'ISO 6557 spécifie la méthode de référence pour la détermination de la teneur globale en acide ascorbique et en acide déhydroascorbique par spectrométrie de fluorescence moléculaire dans les fruits, légumes et produits dérivés.

2 Principe

Transformation de l'acide ascorbique présent en acide déhydroascorbique par action du charbon actif.

Réaction de l'acide déhydroascorbique ainsi obtenu avec l'*o*-phénylènediamine (OPDA) pour donner un composé fluorescent:



(Oxo-1,2,4 *H*-(dihydroxyéthyl-1,2)-3 furo [3,4-*b*] quinoxaline)

Sur un essai témoin, en présence d'acide borique, formation d'un complexe H₃BO₃-acide déhydroascorbique ne pouvant plus réagir avec l'OPDA. La fluorescence parasite seule subsiste, ce qui permet ainsi de l'éliminer de la réaction principale.

NOTE — La teneur en acide déhydroascorbique seul peut être déterminée, en omettant l'étape du charbon actif. Il est alors possible, par soustraction, de déterminer la teneur en acide ascorbique seul.

3 Réactifs

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

3.1 Dichlorhydrate d'*o*-phénylènediamine (C₆H₈N₂, 2HCl), solution à 0,2 g/l.

Préparer cette solution extemporanément.

3.2 Acétate de sodium trihydraté (CH₃COONa, 3H₂O), solution à 500 g/l.

3.3 Acide borique/acétate de sodium, solution.

Dissoudre 3 g d'acide borique (H₃BO₃) dans 100 ml de solution d'acétate de sodium (3.2).

Préparer cette solution extemporanément.

3.4 Acide ascorbique, solution étalon à 1 g/l.

Peser, à 0,01 mg près, 50 mg d'acide ascorbique préalablement déshydraté dans un dessiccateur, à l'abri de la lumière. Transvaser quantitativement dans une fiole jaugée de 50 ml et amener au trait repère, juste avant l'utilisation avec la solution d'extraction (3.5).

3.5 Solution d'extraction.

3.5.1 Acide métaphosphorique/acide acétique.

Dans un bécher ou une fiole conique de 1 000 ml, introduire 30 g d'acide métaphosphorique (HPO₃) dans 80 ml d'acide acétique cristallisable (CH₃COOH) et environ 500 ml d'eau. Tiédir et agiter doucement jusqu'à dissolution complète.

Laisser refroidir. Transvaser quantitativement dans une fiole jaugée de 1 000 ml. Ajuster au trait repère avec de l'eau.

ou

3.5.2 Acide métaphosphorique/méthanol.

Mélanger 3 volumes d'une solution d'acide métaphosphorique à 4 % (*m/m*) avec 1 volume de méthanol.

NOTE — L'acide métaphosphorique disponible dans le commerce contient de 40 à 44 % d'acide phosphorique (HPO₃).

3.6 Charbon actif.¹⁾

Peser 200 g de charbon actif et ajouter 1 litre d'acide chlorhydrique à 10 % (V/V).

Porter à ébullition, puis filtrer sur filtre en verre fritté de porosité P 40 (16 à 40 µm). Recueillir le « gâteau » de charbon dans un bécher. Ajouter 1 litre d'eau, agiter et filtrer à nouveau sur filtre en verre fritté. Répéter trois fois le lavage avec de l'eau et filtrer.

Placer le résidu dans une étuve réglée à 115 ± 5 °C, l'y maintenir 12 h (ou une nuit par exemple).

4 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et notamment

4.1 Broyeur mécanique.

4.2 Centrifugeuse.

4.3 Agitateur, pour fioles coniques et tubes à essais.

4.4 Spectromètre de fluorescence moléculaire, dont les longueurs d'onde d'excitation et d'émission optimales pour l'essai seront déterminées préalablement en fonction de l'appareil utilisé, et muni d'une lampe à spectre continu.

4.5 Fioles coniques, de capacités appropriées.

4.6 Fioles jaugées, de 100 ml.

4.7 Tubes à essais, de 10 mm de diamètre.

4.8 Pipettes, de capacités appropriées.

4.9 Papier filtre.

5 Mode opératoire

5.1 Préparation de l'échantillon pour essai

Bien homogénéiser l'échantillon pour laboratoire. Si nécessaire, retirer au préalable les noyaux et loges carpellaires et passer l'échantillon pour laboratoire dans un broyeur mécanique (4.1). Décongeler préalablement les produits congelés ou surgelés dans un vase clos et ajouter avant homogénéisation le liquide formé durant la décongélation.

5.2 Prise d'essai

Introduire dans une fiole conique (4.5), une quantité d'échantillon pour essai (5.1), pesée à 0,1 mg près, telle qu'après dilution avec la solution d'extraction, la teneur en acide ascorbique et en acide déhydroascorbique soit comprise entre 0 et 50 mg/l.

5.3 Préparation de la solution d'essai

5.3.1 Ajouter une quantité connue de solution d'extraction (3.5) telle que la teneur en acide ascorbique et en acide déhydroascorbique soit comprise entre 0 et 50 mg/l. Agiter pendant 30 min, puis centrifuger. Ajuster le pH à 1,2 avec une quantité mesurée de la solution d'extraction (3.5).

Prélever 100 ml de cette solution et ajouter 1 g de charbon actif (3.6). Bien mélanger et filtrer sur papier filtre (4.9), en éliminant les premiers millilitres du filtrat.

5.3.2 Introduire, à la pipette (4.8), dans une fiole jaugée à 100 ml (4.6), 5 ml de la solution d'acétate de sodium (3.2) et 5 ml de filtrat (5.3.1). Mélanger et compléter au trait repère avec de l'eau.

5.4 Essai témoin

Introduire, à la pipette, dans une fiole jaugée de 100 ml, 5 ml de la solution d'acide borique et d'acétate de sodium (3.3) et 5 ml du filtrat (5.3.1). Laisser reposer pendant 15 min, en agitant de temps en temps, puis compléter au trait repère avec de l'eau.

5.5 Détermination

Verser dans un tube à essais (4.7), 2 ml de la solution d'essai (5.3.2) et dans un second tube 2 ml de la solution d'essai témoin (5.4).

Ajouter, à l'abri de la lumière, dans ces deux tubes, 5 ml de la solution de dichlorhydrate d'o-phénylènediamine (3.1). Bien mélanger à l'aide de l'agitateur (4.3), puis laisser la réaction se développer pendant 30 min à l'obscurité.

Effectuer les mesures sur les deux tubes, à l'aide du spectromètre de fluorescence moléculaire (4.4) préalablement réglé et en travaillant avec la puissance minimale de la lampe. Soustraire la réponse de la solution de l'essai témoin à la solution d'essai.

5.6 Courbe d'étalonnage

5.6.1 Prélever, à l'aide d'une pipette, 2 et 5 ml de la solution étalon (3.4) et introduire chaque volume dans une fiole jaugée de 100 ml. Amener au trait repère avec la solution d'extraction (3.5). Ces solutions contiennent 20 et 50 mg d'acide ascorbique par litre.

Ajouter 1 g de charbon actif (3.6) à chacune de ces solutions. Bien mélanger et filtrer sur papier filtre (4.9), en éliminant les premiers millilitres du filtrat.

1) Un produit acceptable est commercialisé sous l'appellation de « Norite ». Cette information est donnée pour la commodité des utilisateurs de la présente partie de l'ISO 6557 et ne signifie pas que l'ISO approuve ce produit.

5.6.2 Répéter avec les deux solutions d'étalonnage (5.6.1) les opérations de 5.3.2, 5.4 et 5.5, en remplaçant les 5 ml de filtrat par 5 ml de solution d'étalonnage.

Établir la courbe d'étalonnage donnant la réponse du spectromètre en fonction de la concentration, en milligrammes par litre, des deux solutions d'étalonnage.

Tracer la courbe passant par l'origine et par les deux points obtenus.

5.7 Nombre de déterminations

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

6 Expression des résultats

La teneur en acide ascorbique et en acide déhydroascorbique, exprimée en milligrammes pour 100 g de produit, est donnée par la formule

$$\frac{c V}{10m_0}$$

où

m_0 est la masse, en grammes, de la prise d'essai;

V est le volume, en millilitres, de solution d'extraction ajoutée;

c est la concentration, en milligrammes par litre, d'acide ascorbique et d'acide déhydroascorbique de la solution d'essai corrigée de la solution de l'essai témoin, lue sur la courbe d'étalonnage.

7 Procès-verbal d'essai

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et les résultats obtenus. 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 les résultats.

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

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 6557-1:1986

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ba50afae-bc23-4d9f-bb25-0bd715015e91/iso-6557-1-1986>

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 6557-1:1986

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ba50afae-bc23-4d9f-bb25-0bd715015e91/iso-6557-1-1986>

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 6557-1:1986

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ba50afae-bc23-4d9f-bb25-0bd715015e91/iso-6557-1-1986>

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 6557-1:1986

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ba50afae-bc23-4d9f-bb25-0bd715015e91/iso-6557-1-1986>