

---

Norme internationale



6557/2

---

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 2: Méthodes pratiques**

*Fruits, vegetables and derived products — Determination of ascorbic acid content — Part 2: Routine methods*

Première édition — 1984-11-15 (standards.iteh.ai)

[ISO 6557-2:1984](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d01f2b4-7cd7-445b-a411-5e10ba70b3ce/iso-6557-2-1984)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d01f2b4-7cd7-445b-a411-5e10ba70b3ce/iso-6557-2-1984>

---

CDU 634.1/635.6 : 543.24 : 547.475.2

Réf. n° : ISO 6557/2-1984 (F)

Descripteurs : produit agricole, produit dérivé des fruits et légumes, essai, dosage, acide ascorbique.

## 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 6557/2 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*.

[ISO 6557-2:1984](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d01f2b4-7cd7-445b-a411-5e10ba70b3ce/iso-6557-2-1984)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d01f2b4-7cd7-445b-a411-5e10ba70b3ce/iso-6557-2-1984>

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

## Partie 2: Méthodes pratiques

### 1 Objet et domaine d'application

La présente partie de l'ISO 6557 spécifie deux méthodes pratiques de détermination de la teneur en acide ascorbique<sup>1)</sup> des fruits, des légumes et des produits dérivés:

**méthode A:** méthode titrimétrique au dichloro-2,6 phénol indophénol;

**méthode B:** méthode spectrométrique au dichloro-2,6 phénol indophénol après extraction au xylène.

La méthode A peut être utilisée seulement en l'absence de certaines interférences (voir 2.6).

La méthode B est applicable aux produits dérivés des fruits et légumes dans des solutions fortement colorées.

### 2 Méthode A: méthode titrimétrique au dichloro-2,6 phénol indophénol

#### 2.1 Principe

Extraction de l'acide ascorbique d'une prise d'essai soit par une solution d'acide oxalique, soit par une solution d'acide métaphosphorique et d'acide acétique. Titration au colorant (dichloro-2,6 phénol indophénol) jusqu'à obtention d'une coloration rose saumon.

#### 2.2 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.

##### 2.2.1 Solution d'extraction.

Utiliser soit une solution d'acide oxalique à 2 % (*m/m*), soit une solution d'acide métaphosphorique et d'acide acétique préparée comme suit.

Dissoudre, dans une fiole jaugée de 500 ml, 15 g d'acide métaphosphorique dans 40 ml d'acide acétique cristallisable et 200 ml d'eau. Compléter au trait repère avec de l'eau et filtrer immédiatement à travers un papier filtre en transvasant dans un flacon en verre.

Cette solution peut être utilisée pendant 7 à 10 jours si elle est conservée au réfrigérateur.

##### 2.2.2 Solution de colorant (dichloro-2,6 phénol indophénol).

Dissoudre, dans une fiole jaugée de 200 ml, 50 g de sel disodique de dichloro-2,6 phénol indophénol dans 150 ml d'eau chaude (50 à 60 °C) contenant 42 mg d'hydrogénocarbonate de sodium. Compléter au trait repère avec de l'eau et filtrer. Conserver la solution dans un flacon en verre brun placé dans un réfrigérateur.

Le colorant se décomposant avec le temps, il y a lieu de préparer périodiquement de la solution fraîche.

##### 2.2.3 Acide ascorbique, solution étalon à 1 g/l.

Peser, à 0,01 mg près, 50 mg d'acide ascorbique, conservé préalablement dans un dessiccateur et les transvaser quantitativement dans une fiole jaugée de 50 ml. Compléter au trait repère avec la solution d'extraction (2.2.1).

#### 2.3 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et

##### 2.3.1 Balance analytique.

##### 2.3.2 Homogénéisateur.

##### 2.3.3 Burette, de 10 à 50 ml de capacité.

1) L'acide ascorbique est déterminé en tant qu'acide déhydroascorbique.

## 2.4 Mode opératoire

### 2.4.1 Préparation de l'échantillon pour essai

Retirer les noyaux et loges carpellaires si nécessaire et mélanger soigneusement l'échantillon. Filtrer et réaliser ensuite la détermination sur le filtrat.

Laisser décongeler en vase clos les produits congelés et surgelés, et ajouter le liquide formé au cours de ce processus avant de mélanger.

### 2.4.2 Prise d'essai

Peser, à 0,1 mg près, de 10 à 100 g de l'échantillon.

### 2.4.3 Détermination

#### 2.4.3.1 Extraction

Mélanger la prise d'essai avec la solution d'extraction (2.2.1) de façon que le volume, en millilitres, de cette dernière soit numériquement entre 1 : 1 et 1 : 5 fois la masse, en grammes, de la prise d'essai.

Filtrer la solution, en rejetant les quelques premiers millilitres de filtrat.

La concentration finale en acide ascorbique de cette solution d'essai doit être comprise entre 0,1 et 1 mg/ml.

#### 2.4.3.2 Étalonnage de la solution de colorant

Diluer une partie aliquote de 5 ml de la solution étalon d'acide ascorbique (2.2.3) avec 5 ml de la solution d'extraction (2.2.1). Titrer rapidement avec la solution de colorant (2.2.2) jusqu'à obtention d'une coloration rose saumon subsistant pendant au moins 5 s. Répéter cette procédure encore deux fois et enregistrer le volume de solution de colorant utilisé chaque fois, à 0,1 ml près.

Procéder de la même façon pour établir l'essai à blanc, en remplaçant les 5 ml de la solution étalon d'acide ascorbique par 5 ml de solution d'extraction.

Soustraire le résultat de l'essai à blanc des volumes de la solution de colorant utilisés pour les trois titrages d'étalonnage et exprimer la concentration de la solution de colorant en masse, en milligrammes, d'acide ascorbique équivalent à 1,0 ml de la solution.

#### 2.4.3.3 Titrage

Prélever trois parties aliquotes du filtrat obtenu en 2.4.3.1, contenant chacune environ 2 mg d'acide ascorbique, et titrer rapidement avec la solution de colorant jusqu'à obtention d'une coloration rose saumon subsistant pendant au moins 5 s. Prendre pour le calcul (voir 2.5) la moyenne arithmétique du volume de la solution de colorant utilisé.

### 2.4.4 Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc, en procédant comme spécifié en 2.4.3, avec le même volume de la solution d'extraction, mais en omettant la prise d'essai.

### 2.4.5 Nombre de déterminations

Effectuer trois déterminations sur des prises d'essai prélevées du même échantillon pour essai.

## 2.5 Expression des résultats

La teneur en acide ascorbique, exprimée en milligrammes pour 100 g de produit, est égale à

$$\frac{(V_0 - V_1) \times m_1}{m_0} \times 100$$

où

$m_0$  est la masse, en grammes, de la prise d'essai dans la partie aliquote prélevée pour le titrage;

$m_1$  est la masse, en milligrammes, d'acide ascorbique équivalent à 1,0 ml de la solution de colorant (voir 2.4.3.2);

$V_0$  est le volume, en millilitres, de solution de colorant utilisé pour le titrage;

$V_1$  est le volume, en millilitres, de solution de colorant utilisé pour l'essai à blanc.

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des valeurs obtenues lors des trois déterminations.

## 2.6 Notes sur le mode opératoire

Il existe un grand nombre de substances interférentes, parmi lesquelles le fer, le cuivre, l'étain, les réducteurs, les composés sulfohydriques, les sulfites et le dioxyde de soufre. Les réducteurs, en particulier, sont présents dans les produits chauffés de façon excessive ou conservés pendant longtemps.

Si l'on suppose la présence d'une de ces substances interférentes, procéder comme suit:

Ajouter 2 gouttes d'une solution de bleu de méthylène à 0,05 % à 10 ml d'un mélange contenant des volumes égaux de la solution d'essai et de la solution d'extraction. Mélanger. La disparition en 5 à 10 s de la coloration indique la présence de substances interférentes.

NOTE — L'étain ne peut être révélé de cette manière et le mode opératoire suivant doit être employé:

Ajouter 5 gouttes d'une solution de carmin indigo à 0,05 % à 10 ml de la solution d'essai, à laquelle ont été ajoutés 10 ml d'acide chlorhydrique dilué 1 + 3. Mélanger. La disparition en 5 à 10 s de la coloration indique la présence d'étain ou d'autres substances interférentes.

### 3 Méthode B: méthode spectrométrique au dichloro-2,6 phénol indophénol après extraction au xylène

#### 3.1 Principe

Extraction de l'acide ascorbique d'une prise d'essai soit par une solution d'acide oxalique, soit par une solution d'acide métaphosphorique et d'acide acétique. Réduction quantitative du colorant (dichloro-2,6 phénol indophénol) par l'acide ascorbique, extraction du colorant en excès par le xylène et détermination de l'excès par mesurage spectrométrique à une longueur d'onde de 500 nm.

#### 3.2 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.

##### 3.2.1 Solution d'extraction.

Voir 2.2.1.

**3.2.2 Acétate de sodium/acide acétique**, solution tampon, pH 4.

Ajouter 300 g d'acétate de sodium anhydre à 700 ml d'eau et 1 000 ml d'acide acétique cristallisable.

**3.2.3 Solution de colorant (dichloro-2,6 phénol indophénol).**

Voir 2.2.2.

**3.2.4 Acide ascorbique**, solution étalon à 1 g/l.

Voir 2.2.3.

**3.2.5 Xylène.**

**AVERTISSEMENT — Compte tenu des propriétés narcotiques du xylène à hautes concentrations, toutes les opérations doivent être effectuées sous hotte aspirante.**

Vérifier la pureté du xylène en procédant comme suit:

Décolorer une petite quantité de la solution de colorant (3.2.3) par de l'acide ascorbique et l'agiter avec 10 ml de xylène. Si, au bout d'un temps de repos de 10 min, une trace quelconque de coloration apparaît dans la couche de xylène, celui-ci doit être distillé.

Le xylène utilisé pour la détermination peut être récupéré par agitation avec de la solution d'hydroxyde de sodium à 20 % (*m/m*) suivie de redistillation.

#### 3.3 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et

**3.3.1 Balance analytique.**

**3.3.2 Homogénéisateur.**

**3.3.3 Microburettes**, de 2, 5 et 10 ml de capacités.

**3.3.4 Tubes à centrifugation**, de 25 ml de capacité, munis de bouchons de verre.

**3.3.5 Centrifugeuse.**

**3.3.6 Spectromètre**, permettant des mesures à une longueur d'onde de 500 nm.

#### 3.4 Mode opératoire

##### 3.4.1 Préparation de l'échantillon pour essai

Procéder comme spécifié en 2.4.1.

##### 3.4.2 Prise d'essai

Procéder comme spécifié en 2.4.2.

##### 3.4.3 Détermination

###### 3.4.3.1 Extraction

Procéder comme spécifié en 2.4.3.1 pour obtenir une solution d'essai contenant entre 0,05 et 0,5 mg d'acide ascorbique par millilitre.

###### 3.4.3.2 Étalonnage de la solution de colorant

Procéder comme spécifié en 2.4.3.2.

###### 3.4.3.3 Réduction

Introduire, à l'aide d'une pipette, 1 à 5 ml de la solution d'essai dans un tube à centrifugation (3.3.4) et ajouter un volume égal de la solution tampon (3.2.2). Ajouter immédiatement la solution de colorant (3.2.3) en excès, mélanger et ajouter 10 ml de xylène (3.2.5). Boucher le tube et l'agiter vigoureusement durant 6 à 10 s. Centrifuger pour séparer les couches. Transférer avec précaution la couche supérieure de xylène dans la cuve du spectromètre.

###### 3.4.3.4 Mesure spectrométrique

Mesurer l'absorbance de la couche de xylène à 500 nm.

###### 3.4.4 Essai à blanc

Mesurer l'absorbance du xylène (3.2.5) à 500 nm.

###### 3.4.5 Établissement de la courbe d'étalonnage

Introduire, dans chacun des quatre tubes à centrifugation (3.3.4), le même volume de la solution d'extraction que celui

utilisé pour la détermination (3.4.3.3). Ajouter, dans chaque tube, un volume égal de la solution tampon (3.2.2) et introduire, respectivement, 0,2; 0,4; 0,6 et 0,8 ml de la solution de colorant (3.2.3).

Procéder comme spécifié en 3.4.3.3.

Tracer une courbe d'étalonnage donnant l'absorbance en fonction du volume de la solution de colorant ajouté.

### 3.4.6 Nombre de déterminations

Effectuer deux déterminations sur le même échantillon pour essai.

## 3.5 Expression des résultats

La teneur en acide ascorbique, exprimée en milligrammes pour 100 g de produit, est égale à

$$\frac{(V_0 - V_1) \times m_1}{m_0} \times 100$$

où

$m_0$  est la masse, en grammes, de la prise d'essai dans la partie aliquote prélevée pour la détermination;

$m_1$  est la masse, en milligrammes, d'acide ascorbique équivalent à 1,0 ml de la solution de colorant;

$V_0$  est le volume, en millilitres, de solution de colorant ajouté en 3.4.3.3;

$V_1$  est le volume, en millilitres, de l'excès de colorant correspondant à l'absorbance mesurée en 3.4.3.4, lu sur la courbe d'étalonnage.

## 3.6 Répétabilité

La différence entre les résultats des deux déterminations (3.4.6), effectuées simultanément ou rapidement l'une après

l'autre par le même analyste sur le même échantillon pour essai, ne doit pas dépasser 3 % de la valeur moyenne.

## 3.7 Notes sur le mode opératoire

**3.7.1** Si le produit contient des pigments de xylène que l'on peut extraire, effectuer une correction à blanc à la hydroquinone en procédant de la manière suivante:

Après mesure de l'absorbance de la couche de xylène (voir 3.4.3.4), ajouter 2 gouttes d'une solution d'hydroquinone demi-saturée (préparée en ajoutant deux fois le volume de l'acétone nécessaire pour obtenir une solution d'hydroquinone saturée), mélanger, laisser reposer 30 s et mesurer de nouveau l'absorbance. Soustraire cette absorbance de l'absorbance initiale de la couche de xylène.

**3.7.2** Si le produit a suivi un traitement thermique prolongé ou a été stocké pendant une longue période, ou dans certains cas s'il s'agit de produits naturels (par exemple du jus de cassis), un traitement au formaldéhyde peut être appliqué pour corriger l'action des substances réductrices présentes, sans rapport avec l'acide ascorbique. À cet effet, effectuer un essai de contrôle, parallèlement à la détermination, en procédant comme spécifié en 3.4 jusqu'à l'addition du colorant. Avant d'ajouter le colorant, ajouter 1 ml d'eau à la solution d'essai, et 1 ml de solution de formaldéhyde à 40 % à la solution témoin. Laisser reposer 10 min et poursuivre la détermination.

À partir de la courbe d'étalonnage, déterminer le volume de la solution de colorant décolorée par les substances interférentes, et corriger le résultat en conséquence.

## 4 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 6557-2:1984

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d01f2b4-7cd7-445b-a411-5e10ba70b3ce/iso-6557-2-1984>

Page blanche

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 6557-2:1984

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/7d01f2b4-7cd7-445b-a411-5e10ba70b3ce/iso-6557-2-1984>