NORME INTERNATIONALE

ISO 6558-2

Première édition
1992-06-01

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

Partie 2: Méthodes pratiques

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Fruits, vegetables and derived products — Determination of carotene content

ISO 6558-2:1992
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bbcb1bca-ddf1-419d-bdf2-857/969acc85/iso-6558-2-1992

Part 2: Routine methods

Numéro de référence
ISO 6558-2:1992(F)

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 en général 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. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

La Norme internationale ISO 6558-2 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 3, *Produits dérivés des fruits et légumes*.

ISO 6558-2:1992
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bbcb1bca-ddf1-419d-bdf2-8577969acc85/iso-6558-2-1992

L'ISO 6558 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Fruits, légumes et produits dérivés — Détermination de la teneur en carotènes*:

— *Partie 1: Méthode de référence*

— *Partie 2: Méthodes pratiques*

© ISO 1992
Droits de reproduction réservés. Aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'éditeur.

Organisation internationale de normalisation
Case Postale 56 • CH-1211 Genève 20 • Suisse

Imprimé en Suisse

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

Partie 2:
Méthodes pratiques

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 6558 prescrit deux méthodes pratiques pour la détermination de la teneur en carotènes ($C_{40}H_{56}$), présents dans les parties comestibles, ou ajoutés, dans les fruits, légumes et produits dérivés.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

La méthode A est destinée à la détermination de la teneur en carotènes dans des produits dont la teneur en matières grasses est inférieure ou égale à 5 % (*m*/*m*)[1].

ISO 6558-2:1992
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bbb1bce-bb18-4194-bd82-8577969acc85/iso-6558-2-1992

La méthode B est destinée à la détermination de la teneur en carotènes dans des produits dont la teneur en matières grasses est supérieure à 5 % (*m*/*m*)[1].

2 Méthode A: Détermination de la teneur en carotènes dans des produits dont la teneur en matières grasses est inférieure ou égale à 5 % (*m*/*m*)

2.1 Principe

Extraction des carotènes par un mélange d'éther de pétrole et d'acétone. Élimination de l'acétone, séparation des carotènes des caroténoïdes par chromatographie sur colonne et détermination de la teneur en carotènes par spectrométrie.

2.2 Réactifs et produits

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue, et de l'eau distillée ou déminéralisée ou de l'eau de pureté au moins équivalente.

2.2.1 Éther de pétrole, de point d'ébullition situé entre 50 °C et 70 °C.

2.2.2 Mélange d'extraction, préparé comme suit.

Dissoudre 0,2 g d'hydroquinone dans 40 ml d'acétone, puis ajouter 160 ml d'éther de pétrole (2.2.1).

2.2.3 Sulfate de sodium, anhydre.

Sécher à 100 °C pendant 2 h à 3 h et conserver dans un récipient hermétiquement clos.

2.2.4 Sable quartzeux, lavé à l'acide et séché dans un four à moufle.

2.2.5 Garnissage de colonne, utiliser l'un des garnissages de colonne spécifiés en 2.2.5.1 à 2.2.5.4.

2.2.5.1 Oxyde d'aluminium désactivé, en suspension dans l'eau, préparé comme suit.

Chauffer l'oxyde d'aluminium pendant 3 h, dans un four à moufle, à 500 °C. Laisser refroidir et conserver dans un dessiccateur. Avant utilisation, transférer 50 g d'oxyde d'aluminium ainsi préparé, dans un flacon à col rodé, y ajouter 5,5 ml d'eau et mélanger soigneusement jusqu'à obtention d'une fine suspension uniforme. Le pH de la suspension ainsi obtenue est compris entre 9 et 10. La suspension peut être conservée dans un flacon fermé pendant 24 h.

2.2.5.2 Mélange d'oxyde de magnésium/poudre de verre, 1 partie pour 2 parties en masse.

2.2.5.3 Mélange d'oxyde d'aluminium/sulfate de sodium anhydre, 3 parties pour 1 partie en masse.

1) La limite de 5 % (*m*/*m*) adoptée pour la teneur en matières grasses est arbitraire.

2.2.5.4 Mélange d'oxyde d'aluminium/hydroxyde de calcium, 1 partie pour 1 partie en masse.

2.2.6 Chlorure de sodium, solution à 300 g/l.

2.3 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et notamment

2.3.1 Spectromètre, permettant d'effectuer les mesurages à une longueur d'onde de 450 nm et équipé de cuves de 10 mm de parcours optique.

2.3.2 Appareil de filtration de Witt, comprenant un entonnoir rodé, un couvercle rodé et une tubulure latérale destiné à la filtration, sous pression réduite, dans un bécher ou autre type de récipient.

2.3.3 Pompe à eau.

2.3.4 Bain d'eau, réglable de 30 °C à 35 °C.

2.3.5 Évaporateur à vide.

2.3.6 Colonnes chromatographiques, d'un diamètre compris entre 10 mm et 15 mm.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

2.3.7 Filtre à plaque en verre fritté, grade P40.

2.3.8 Coton, imbibé d'éther de pétrole.

ISO 6558-2:1992
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bbcb1bca-ddf1-419d-bdf2-8577969acc85/iso-6558-2-1992

2.3.9 Mortier de laboratoire et pilon.

2.3.10 Dessiccateur, garni d'un déshydratant efficace.

2.3.11 Fiole conique, de 500 ml de capacité.

2.3.12 Ballons à fond rond, à col rodé, de 100 ml et 500 ml de capacité.

2.3.13 Ampoules à décanter, de 1 000 ml de capacité.

2.3.14 Fioles jaugées, de 50 ml et 100 ml de capacité.

2.4 Préparation de l'échantillon pour essai

2.4.1 Produits liquides non homogènes (par exemple, jus, nectars et sirops)

Mélanger soigneusement l'échantillon pour laboratoire.

2.4.2 Produits visqueux (par exemple, marmelades, fruits au sirop) **et produits solides** (par exemple, fruits et légumes)

Éliminer les pépins et les parois dures des cavités des graines, si nécessaire, puis mélanger soigneusement l'échantillon pour laboratoire.

Peser toutes les graines, etc. éliminées du produit afin de permettre de rapporter le résultat d'analyse au résidu.

2.4.3 Produits congelés

Décongeler l'échantillon pour laboratoire dans un récipient couvert. Si nécessaire, réaliser l'opération prescrite en 2.4.2. Ajouter le liquide formé lors de la décongélation et mélanger soigneusement.

2.5 Mode opératoire

IMPORTANT — Effectuer l'analyse dans un endroit à l'abri de la lumière.

2.5.1 Prise d'essai

Peser une quantité (en général, de 1 g à 10 g) de l'échantillon pour essai préparé (2.4) contenant entre 5 µg et 150 µg de carotènes.

2.5.2 Préparation de la solution d'essai

2.5.2.1 Transférer quantitativement la prise d'essai dans un mortier (2.3.9) et ajouter environ 20 ml de mélange d'extraction (2.2.2). Ajouter 20 g de sulfate de sodium anhydre (2.2.3) et 30 g de sable quartzeux (2.2.4) et bien broyer. Décanter l'extrait obtenu sur filtre (2.3.7) dans une fiole conique de 500 ml (2.3.11). Répéter l'extraction jusqu'à obtention d'un extrait incolore, en rassemblant les extraits filtrés dans la fiole conique. Transférer quantitativement le résidu sur le filtre et le laver avec le mélange d'extraction en rassemblant le filtrat dans la fiole conique.

2.5.2.2 Transvaser les extraits réunis dans une ampoule à décanter de 1 000 ml (2.3.13) et laver plusieurs fois avec au total 300 ml à 400 ml d'eau pour éliminer l'acétone. Effectuer l'agitation avec précaution, afin d'éviter la formation d'une émulsion. En cas de formation d'une émulsion, répéter l'extraction en utilisant une autre prise d'essai et effectuer le lavage comme décrit, mais en utilisant la solution de chlorure de sodium (2.2.6), à la place de l'eau.

2.5.2.3 Ajouter à l'extrait lavé, 15 g de sulfate de sodium anhydre (2.2.3), mélanger et laisser reposer durant 15 min. Transférer la solution sur un filtre (2.3.7) rempli à moitié de sulfate de sodium anhydre, dans un ballon à fond rond de 500 ml (2.3.12). Laver le sulfate de sodium trois fois avec 10 ml d'éther de pétrole (2.2.1) à chaque fois, en rassemblant les eaux de lavage dans le filtrat.

2.5.2.4 Concentrer le filtrat réuni dans un évaporateur à vide (2.3.5) sur un bain d'eau (2.3.4), le transvaser quantitativement dans une fiole jaugée de 100 ml (ou de 50 ml) (2.3.14) et compléter au trait repère avec de l'éther de pétrole (V_1).

NOTE 1 Si une émulsion apparaît, on peut ajouter 10 ml d'éthanol.

2.5.3 Élution

IMPORTANT — Pendant toute la durée de l'élution, la colonne doit toujours être remplie d'éther de pétrole à un niveau situé au-dessus de la surface de l'adsorbant.

2.5.3.1 Placer un tampon de coton dégraissé (2.3.8) dans la partie inférieure étirée de la colonne chromatographique (2.3.6). Monter la colonne sur l'appareil de Witt (2.3.2) et, en secouant doucement, introduire d'une manière uniforme la suspension d'oxyde d'aluminium désactivé (2.2.5.1) (voir toutefois plus loin), ou le mélange d'oxyde de magnésium/poudre de verre (2.2.5.2), ou le mélange d'oxyde d'aluminium/sulfate de sodium anhydre (2.2.5.3), à une hauteur de 15 cm à 20 cm. L'oxyde d'aluminium n'est pas un adsorbant approprié pour la séparation des caroténoïdes du lycopène. Pour l'analyse des produits contenant du lycopène (par exemple, les tomates et les produits à base de tomate), utiliser comme adsorbant, un mélange d'oxyde d'aluminium/hydroxyde de calcium (2.2.6).

Utiliser comme récipient de réception un ballon à fond rond de 100 ml (2.3.12). Brancher l'appareil de Witt à une pompe à eau (2.3.3).

2.5.3.2 Remplir la colonne avec de l'éther de pétrole. Au moment où le niveau de l'éther de pétrole arrive environ à 1 cm au-dessus de la surface de l'adsorbant, introduire environ 5 ml à 20 ml (mesures avec précision) de la solution d'essai, suivant l'intensité de sa coloration. Lorsque le niveau de la solution d'essai (V_2), est à environ 1 cm au-dessus de la surface de l'adsorbant, ajouter 30 ml d'éther de pétrole.

NOTE 2 Au moment du lavage, les α-, β- et γ-carotènes se déplacent vers le bas de la colonne sous la forme d'une zone légèrement jaune et sont élués quantitativement, tandis que les caroténoïdes (xanthophylle, cryptoxanthine, etc.) sont retenus dans la couche supérieure de l'adsorbant.

2.5.3.3 Procéder à l'élution jusqu'à ce que l'éluat soit incolore (en général, après le passage d'environ 20 ml d'éther de pétrole).

2.5.3.4 Selon l'intensité de la couleur de l'éluant, ajuster son volume (par concentration ou dilution avec de l'éther de pétrole, selon le cas), de telle façon que 1 ml d'éluat contienne 0,4 µg à 3,0 µg de carotènes. Noter le volume final d'éluat (V_3).

2.5.4 Mesurages spectrométriques

Effectuer les mesurages de l'éluat dans une cuve de 10 mm de parcours optique par rapport à un blanc d'éther de pétrole, à une longueur d'onde de 450 nm.

Le coefficient d'absorption spécifique molaire, $A_{1\,cm}^{1\,\%}$, d'une solution de référence de β-carotène dans de l'éther de pétrole, à 450 nm est de 2 530.

2.6 Expression des résultats

Calculer la teneur en carotènes, exprimée en β-carotène, à l'aide de la formule

$$w(C_{40}H_{56}) = \frac{A V_1 V_3}{0{,}25 V_2 m}$$

où

$w(C_{40}H_{56})$ est la teneur en carotènes, en microgrammes par gramme de produit;

A est l'absorbance de l'éluat;

V_1 est le volume, en millilitres, de la solution d'essai (c'est-à-dire 100 ml ou 50 ml);

V_2 est le volume, en millilitres, de la solution d'essai utilisée pour la chromatographie;

V_3 est le volume final, en millilitres, de l'éluat;

0,25 est le facteur de correction approprié pour le β-carotène;

m est la masse, en grammes, de la prise d'essai.

3 Méthode B: Détermination de la teneur en carotènes dans des produits dont la teneur en matières grasses est supérieure à 5 % (m/m)

3.1 Principe

Saponification d'une prise d'essai par traitement avec une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium. Extraction des caroténoïdes par un mélange d'éther de pétrole et d'éther diéthylique, et détermination de la teneur en carotènes par spectrométrie.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 6558-2:1992
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bbcb0bca-d8f8-4f0d-b1d2-a5f5f66ade55/iso-6558-2-1992

3.2 Réactifs et produits

Utiliser les réactifs et matériaux prescrits en 2.2, excepté en 2.2.2, 2.2.4 et 2.2.6 et, en outre, les suivants, également de qualité analytique reconnue.

3.2.1 Azote.

3.2.2 Éthanol, solution à 96 % (V/V).

3.2.3 Hydroxyde de potassium, solution à 500 g/l.

Dissoudre 5,0 g d'hydroxyde de potassium dans de l'eau distillée, dans une éprouvette graduée, à col rodé et ajuster au trait avec de l'eau.

Préparer la solution juste avant l'utilisation.

3.2.4 Pyrogallol, solution basique, préparée comme suit.

Préparer une solution de pyrogallol à 250 g/l par dissolution, dans une fiole jaugée de 25 ml, de 6,25 g de pyrogallol dans l'eau. Ajuster au trait avec de l'eau.

Préparer une solution d'hydroxyde de potassium à 600 g/l par dissolution, dans une fiole jaugée de 100 ml, de 60 g d'hydroxyde de potassium dans l'eau. Ajuster au trait avec de l'eau.

Préparer la solution basique en mélangeant 15 ml de la solution de pyrogallol avec 90 ml de la solution d'hydroxyde de potassium.

3.2.5 Mélange d'extraction, préparé comme suit.

Mélanger 1 partie d'éther de pétrole avec 1 partie d'éther diéthylique exempt de peroxydes.

3.2.6 Hydroxyde de potassium, solution à 30 g/l

Dans une fiole jaugée de 50 ml, dissoudre 1,5 g d'hydroxyde de potassium et ajuster au trait avec de l'eau.

3.2.7 Phénolphtaléine, solution à 1 %.

Dissoudre 1,0 g de phénolphtaléine dans une solution d'éthanol à 60 % (V/V) et ajuster à 100 ml avec le même éthanol.

3.2.8 Antioxydant, par exemple, pyrogallol, hydroquinone, acide ascorbique.

3.3 Appareillage

Appareillage prescrit en 2.3, excepté en 2.3.9, 2.3.11 et 2.3.13, et, en plus, l'appareillage suivant.

3.3.1 Appareillage pour la saponification, sous reflux, à courant de gaz inerte, comprenant un flacon d'absorption contenant la solution basique de pyrogallol (3.2.4) pour l'élimination des traces d'oxygène dans le gaz.

3.3.2 Ampoule à décanter, de 250 ml de capacité.

3.4 Préparation de l'échantillon pour essai

Préparer l'échantillon pour essai conformément à 2.4 .

3.5 Mode opératoire

3.5.1 Prise d'essai

Peser, dans un ballon à fond rond de 100 ml (2.3.12), une quantité de l'échantillon pour essai préparé (3.4) contenant entre 5 µg et 150 µg de carotènes.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 6558-2:1992
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bb6b10ca-ddff-41ba-bdf2-957f069acc85/iso-6558-2-1992

3.5.2 Préparation de la solution d'essai

3.5.2.1 Ajouter à la prise d'essai, 30 ml de la solution d'éthanol (3.2.2), 3 ml de la solution d'hydroxyde de potassium (3.2.3), et un peu d'antioxydant (3.2.8) et raccorder le ballon à l'appareillage de saponification (3.3.1). Démarrer l'apport d'azote (3.2.1). Effectuer la saponification sous reflux, en maintenant la solution à ébullition au bain d'eau, pendant 30 min.

3.5.2.2 Laisser refroidir le mélange et le transvaser quantitativement, en rinçant avec environ 20 ml d'eau distillée, dans une ampoule à décanter de 250 ml (3.3.2). Extraire les substances insaponifiables en remuant doucement, deux fois avec 50 ml et deux fois avec 20 ml du mélange d'extraction (3.2.5). Laver avec précaution l'extrait obtenu avec 50 ml de solution d'hydroxyde de potassium (3.2.6) puis avec de l'eau distillée jusqu'à ce que l'extrait soit complètement exempt de produits alcalins (essai à la phénolphtaléine; voir 3.2.7).

3.5.2.3 Éliminer l'eau de l'extrait selon le mode opératoire prescrit en 2.5.2.3.

3.5.2.4 Concentrer l'extrait selon le mode opératoire prescrit en 2.5.2.4.

3.5.3 Élution et mesurages spectrométriques

Effectuer l'élution et les mesurages spectrométriques selon les modes opératoires prescrits en 2.5.3 et 2.5.4.

3.6 Expression des résultats

Calculer la teneur en carotènes, exprimée en β-carotène, à l'aide de la formule donnée en 2.6 .

4 Répétabilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels indépendants, obtenus à l'aide de la même méthode sur un matériau identique soumis à l'essai dans le même laboratoire par le même opérateur utilisant le même appareillage dans un court intervalle de temps, ne doit pas être supérieure à 5 % de la moyenne arithmétique des deux résultats.

5 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit indiquer la méthode utilisée (c'est-à-dire ISO 6558-2, méthode A ou B) et les résultats obtenus. Il doit en outre mentionner tous les détails opératoires non prévus dans la présente partie de l'ISO 6558 ou considérés comme facultatifs, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur les résultats.

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

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 6558-2:1992
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bbcb1bca-ddf1-419d-bdf2-8577969acc85/iso-6558-2-1992

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 6558-2:1992
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/bbcb1bca-ddf1-419d-bdf2-8577969acc85/iso-6558-2-1992

CDU 634.1/635.6:543.42:547.979.8

Descripteurs: produit agricole, produit alimentaire, fruit, légume, produit dérivé des fruits et légumes, analyse chimique, dosage, caroténoïde, méthode spectrométrique.

Prix basé sur 4 pages