

# Norme internationale



# 6560

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

## Produits dérivés des fruits et légumes — Détermination de la teneur en acide benzoïque (teneurs supérieures à 200 mg par litre ou par kilogramme) — Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

*Fruit and vegetable products — Determination of benzoic acid content (benzoic acid contents greater than 200 mg per litre or per kilogram) — Molecular absorption spectrometric method*

Première édition — 1983-11-01

ISO 6560:1983

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2bcc301d-f423-46ce-976c-c962d5959454/iso-6560-1983>

CDU 634.1/635 : 547.581.2 : 543.42

Réf. n° : ISO 6560-1983 (F)

**Descripteurs** : produit agricole, produit dérivé des fruits et légumes, analyse chimique, dosage, acide benzoïque, spectroscopie.

## 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 6560 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, et a été soumise aux comités membres en septembre 1982.

Les comités membres des pays suivants l'ont approuvée : [ISO 6560:1983](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2bcc301d-f423-46ce-976c-c962d5959454/iso-6560-1983)  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2bcc301d-f423-46ce-976c-c962d5959454/iso-6560-1983>

Afrique du Sud, Rép. d'	Inde	Philippines
Allemagne, R. F.	Indonésie	Pologne
Australie	Iran	Sri Lanka
Autriche	Iraq	Tchécoslovaquie
Canada	Irlande	Thaïlande
Corée, Rép. dém. p. de	Israël	Turquie
Égypte, Rép. arabe d'	Kenya	URSS
Espagne	Malaisie	Yougoslavie
Éthiopie	Mexique	
Hongrie	Nouvelle-Zélande	

Aucun comité membre ne l'a désapprouvée.

# Produits dérivés des fruits et légumes — Détermination de la teneur en acide benzoïque (teneurs supérieures à 200 mg par litre ou par kilogramme) — Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire

## 1 Objet et domaine d'application

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

La méthode est applicable aux produits ayant des teneurs en acide benzoïque supérieures à 200 mg par litre ou par kilogramme, et en particulier aux jus de fruits, purée de tomates, salées ou non, et aux produits conservés par le vinaigre ou par l'acide lactique.

Une méthode de détermination de l'acide benzoïque à des concentrations plus faibles est spécifiée dans l'ISO 5518, *Fruits, légumes et produits dérivés — Détermination de la teneur en acide benzoïque — Méthode spectrophotométrique*.

## 2 Principe

Extraction de l'acide benzoïque d'une prise d'essai acidifiée, par l'oxyde diéthylique, nitration puis réduction et réaction de Mohler modifiée avec le chlorhydrate d'hydroxylamine. Mesurage spectrométrique de l'absorbance du complexe rouge obtenu.

## 3 Réactifs

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

**3.1 Acide benzoïque**, solution étalon correspondant à 1 g d'acide benzoïque par litre.

Peser, à 0,000 1 g près, 100 mg d'acide benzoïque. Les dissoudre dans 25 ml de solution d'hydroxyde de sodium à 0,1 mol/l et compléter à 100 ml avec de l'eau.

1 ml de cette solution étalon contient 1 mg d'acide benzoïque.

**3.2 Solution de nitration.**

Dissoudre 23 g de nitrate de potassium dans 250 ml d'acide sulfurique concentré ( $\rho_{20} = 1,84$  g/ml).

**3.3 Chlorhydrate d'hydroxylamine**, solution à 20 g/l.

**3.4 Ammoniaque**, solution concentrée ( $\rho_{20} = 0,910$  g/ml).

**3.5 Phénolphthaléine**, solution à 10 g/l.

Dissoudre 1 g de phénolphthaléine dans 100 ml d'éthanol à 60 % (V/V).

**3.6 Hydroxyde de sodium**, solution à 1 mol/l.

**3.7 Hydroxyde de sodium**, solution à 0,1 mol/l.

**3.8 Acide sulfurique**, solution à 25 % (m/m).

**3.9 Solution de Carrez I.**

Dissoudre 150 g d'hexacyanoferrate (II) de potassium trihydraté  $[K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O]$  dans de l'eau et compléter à 1 000 ml.

**3.10 Solution de Carrez II.**

Dissoudre 300 g de sulfate de zinc heptahydraté ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ) dans de l'eau et compléter à 1 000 ml.

**3.11 Oxyde diéthylique**, récemment distillé.

## 4 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et notamment

**4.1 Ampoules à décanter**, de 200 ml de capacité, munies de bouchons rodés.

**4.2 Pipettes**, de 1, 2, 5, 10, 25 et 50 ml de capacités.

**4.3 Pipette**, de 2 ml de capacité, graduée par division de 0,1 ml.

**4.4 Fioles jaugées**, de 10 et 100 ml de capacités, munies de bouchons en verre rodé.

#### 4.5 Bain d'eau bouillante.

#### 4.6 Tubes à essais, de 1,5 ou 2,0 cm de diamètre.

#### 4.7 Étuve, réglable à $103 \pm 2$ °C.

#### 4.8 Bain d'eau, réglable à $20 \pm 2$ °C.

#### 4.9 Bain d'eau, réglable à $60 \pm 2$ °C.

#### 4.10 Spectromètre, permettant des mesurages à une longueur d'onde de 533 nm, avec cuves de 10 mm d'épaisseur.

### 5 Mode opératoire

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

##### 5.1.1 Produits liquides

Bien mélanger l'échantillon pour laboratoire.

##### 5.1.2 Produits semi-épais (purées, etc.)

Bien mélanger l'échantillon pour laboratoire. Presser une partie de l'échantillon à travers quatre épaisseurs de gaze, rejeter les premières gouttes de liquide et utiliser le reste de celui-ci pour la détermination. (Suivre les instructions données pour les produits liquides.)

##### 5.1.3 Produits épais

Bien mélanger l'échantillon pour laboratoire.

#### 5.2 Prise d'essai

##### 5.2.1 Produits liquides

Prélever, à l'aide d'une pipette (4.2), 10 ml de l'échantillon pour essai et les transférer dans une ampoule à décanter de 200 ml (4.1).

##### 5.2.2 Produits épais

###### 5.2.2.1 Peser, à 0,01 g près, 10 g de l'échantillon pour essai.

###### 5.2.2.2 Déféquer la prise d'essai de la façon suivante.

Ajouter un peu d'eau à la prise d'essai et alcaliniser avec la solution d'hydroxyde de sodium (3.6) en présence de la solution de phénolphthaléine (3.5). Placer et maintenir au bain d'eau bouillante (4.5) durant 30 min. Après refroidissement, transvaser dans une fiole jaugée de 100 ml, ajouter 2 ml de la solution de Carrez I (3.9) et 2 ml de la solution de Carrez II (3.10), et compléter au trait repère avec de l'eau. Laisser reposer durant 30 min, puis centrifuger ou filtrer. Utiliser cette solution clarifiée pour l'extraction (5.3).

#### 5.3 Extraction et purification de l'acide benzoïque

##### 5.3.1 Produits liquides

Ajouter 2 ml de la solution d'acide sulfurique (3.8) à la prise d'essai contenue dans l'ampoule à décanter. Ajouter 25 ml d'oxyde diéthylique (3.11), agiter et laisser se séparer la phase étherée. Répéter cette extraction par agitation avec une nouvelle portion de 25 ml d'oxyde diéthylique. Réunir les phases étherées.

Extraire l'acide benzoïque des phases étherées, sans lavage avec de l'eau, avec 2 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (3.6) en présence de 1 goutte de la solution de phénolphthaléine (3.5), en agitant durant 5 min. Séparer la phase alcaline. Extraire deux fois par agitation avec 2 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (3.7). Rassembler les extraits alcalins dans la fiole jaugée de 10 ml (4.4) et compléter au trait repère avec de l'eau.

##### 5.3.2 Produits épais

Ajouter 50 ml de la solution d'acide sulfurique (3.8) à 50 ml de la solution obtenue après clarification (5.2.2.2). Ajouter 50 ml d'oxyde diéthylique (3.11), agiter et laisser se séparer la phase étherée. Répéter deux fois cette extraction par agitation avec 50 ml d'oxyde diéthylique. Réunir les phases étherées dans une ampoule à décanter de 200 ml (4.1).

Ajouter 5 ml d'eau, agiter et rejeter la phase aqueuse.

Ajouter 2 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (3.6) aux phases étherées et agiter (le benzoate de sodium est ainsi formé). Séparer la phase alcaline. Extraire deux fois par agitation avec 2 ml de la solution d'hydroxyde de sodium (3.7). Rassembler les extraits alcalins dans la fiole jaugée de 10 ml (4.4) et compléter au trait repère avec de l'eau.

#### 5.4 Détermination

##### 5.4.1 Développement de la coloration

Selon la teneur présumée en acide benzoïque, introduire, à l'aide d'une pipette, 0,5 à 1,0 ml de l'extrait alcalin dans un tube à essais (4.6) et évaporer jusqu'à siccité sur le bain d'eau bouillante (4.5). Placer le tube dans l'étuve (4.7) et sécher durant 15 min à  $103 \pm 2$  °C.

Laisser refroidir, ajouter 1 ml de la solution de nitration (3.2) et placer et maintenir au bain d'eau bouillante durant 20 min. (Il est recommandé d'agiter le tube à essais pendant les premières minutes.)

Placer le tube dans le bain d'eau (4.8) réglé à  $20 \pm 2$  °C et l'y laisser durant 15 min. Ajouter 2 ml d'eau et laisser durant encore 15 min. Ajouter soigneusement 10 ml de la solution d'ammoniaque (3.4), en ajoutant d'abord 5 ml par fractions de 0,5 ml et le reste par fractions de 1 ml. Laisser dans le bain d'eau durant 15 min en veillant à ce que la température du bain d'eau ne dépasse pas  $20 \pm 2$  °C. Ajouter 2 ml de la solution de chlorhydrate d'hydroxylamine (3.3), placer dans le bain d'eau (4.9) réglé à  $60 \pm 2$  °C et l'y laisser durant 5 min.

### 5.4.2 Mesurage spectrométrique

Refroidir le tube à essais, remplir une cuve du spectromètre avec la solution et mesurer l'absorbance à 533 nm dans les 30 min qui suivent, au moyen du spectromètre (4.10).

## 5.5 Établissement de la courbe d'étalonnage

### 5.5.1 Préparation des solutions témoins

Dans une série de cinq tubes à essais, introduire, à l'aide d'une pipette (4.3), les volumes de la solution étalon d'acide benzoïque (3.1) indiqués dans le tableau.

Tableau

Volume de la solution étalon d'acide benzoïque (3.1)	Masse correspondante d'acide benzoïque
ml	mg
0,6	0,6
0,8	0,8
1,0	1,0
1,2	1,2
1,4	1,4

### 5.5.2 Développement de la coloration

Placer les tubes dans le bain d'eau bouillante (4.5) et évaporer jusqu'à siccité. Placer les tubes dans l'étuve (4.7) et sécher durant 15 min à  $103 \pm 2$  °C.

Poursuivre comme décrit en 5.4.1, à partir du 2<sup>e</sup> alinéa [«Laisser refroidir, ajouter 1 ml de la solution de nitration (3.2)...»].

### 5.5.3 Mesurages spectrométriques

Opérer comme spécifié en 5.4.2.

### 5.5.4 Tracé de la courbe

Tracer une courbe en portant, par exemple, les masses, en microgrammes, d'acide benzoïque contenues dans les solutions témoins sur l'axe des abscisses et, sur l'axe des ordonnées, les valeurs correspondantes des absorbances.

## 5.6 Nombre de déterminations

Effectuer deux déterminations sur deux prises d'essai provenant du même échantillon pour essai (5.1).

## 6 Expression des résultats

### 6.1 Mode de calcul et formules

#### 6.1.1 Produits liquides

La teneur en acide benzoïque, exprimée en milligrammes par litre, est égale à

$$\frac{m \times V_2}{V_1 \times V_3} \times 1000$$

où

$m$  est la masse, en milligrammes, d'acide benzoïque, lue sur la courbe d'étalonnage;

$V_1$  est le volume, en millilitres, de la prise d'essai, c'est-à-dire 10 ml (voir 5.2.1);

$V_2$  est le volume, en millilitres, de l'extrait alcalin, c'est-à-dire 10 ml (voir 5.3);

$V_3$  est le volume, en millilitres, d'extrait alcalin prélevé pour le développement de la coloration (voir 5.4.1).

### 6.1.2 Produits épais

La teneur en acide benzoïque, exprimée en milligrammes par kilogramme, est égale à

$$\frac{m_2 \times V_1 \times V_3}{m_1 \times V_2 \times V_4} \times 1000$$

où

$m_1$  est la masse, en grammes, de la prise d'essai;

$m_2$  est la masse, en milligrammes, d'acide benzoïque, lue sur la courbe d'étalonnage;

$V_1$  est le volume, en millilitres, de la solution clarifiée préparée (voir 5.2.2);

$V_2$  est le volume, en millilitres, de solution clarifiée prélevée pour l'extraction, c'est-à-dire 50 ml (voir 5.3.2);

$V_3$  est le volume, en millilitres, de l'extrait alcalin, c'est-à-dire 10 ml (voir 5.3);

$V_4$  est le volume, en millilitres, d'extrait alcalin prélevé pour le développement de la coloration (voir 5.4.1).

## 6.2 Répétabilité

La différence entre les valeurs obtenues à l'issue des deux déterminations (5.6), effectuées rapidement l'une après l'autre par le même analyste, ne doit pas dépasser 10 mg d'acide benzoïque par litre ou par kilogramme de produit.

## 7 Note sur le mode opératoire

La présence d'acide formique et d'acide sorbique ne perturbe pas la détermination de l'acide benzoïque.

## 8 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.

Page blanche

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

ISO 6560:1983

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2bcc301d-f423-46ce-976c-c962d5959454/iso-6560-1983>

Page blanche

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

ISO 6560:1983

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2bcc301d-f423-46ce-976c-c962d5959454/iso-6560-1983>

Page blanche

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

ISO 6560:1983

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2bcc301d-f423-46ce-976c-c962d5959454/iso-6560-1983>