
**Piments et leurs oléorésines —
Détermination de la teneur en
capsaïcinoïdes totaux —**

Partie 2:

Méthode par chromatographie en phase
liquide à haute performance

[ISO 7543-2:1993](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/114d44ea-7049-41f2-be50-6868566731893)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/114d44ea-7049-41f2-be50-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/114d44ea-7049-41f2-be50-6868566731893)

*Chillies and chilli oleoresins — Determination of total capsaicinoid
content —*

Part 2: Method using high-performance liquid chromatography



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.

La Norme internationale ISO 7543-2 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 7, *Épices*.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/114d44ea-7049-41f2-be50-71312879>

L'ISO 7543 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Piments et leurs oléorésines — Détermination de la teneur en capsaïcinoïdes totaux*:

- *Partie 1: Méthode spectrométrique*
- *Partie 2: Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance*

L'annexe A de la présente partie de l'ISO 7543 est donnée uniquement à titre d'information.

© ISO 1993

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

Piments et leurs oléorésines — Détermination de la teneur en capsaïcinoïdes totaux —

Partie 2:

Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 7543 prescrit une méthode permettant de déterminer, par chromatographie en phase liquide à haute performance, la teneur en capsaïcinoïdes totaux des piments entiers ou en poudre (en général *Capsicum frutescens* L.) et de leurs extraits (oléorésines). Cette teneur est calculée en se basant sur la somme de la capsaïcine, de la nordihydrocapsaïcine et de la dihydrocapsaïcine, exprimée en nonyl acide vanilylamide, choisi comme substance de référence.

La méthode permet la séparation de la capsaïcine du nonyl acide vanilylamide.

NOTE 1 Une méthode spectrométrique est donnée dans l'ISO 7543-1¹⁾.

2 Référence normative

La norme suivante contient des dispositions qui, par suite de la référence qui en est faite, constituent des dispositions valables pour la présente partie de l'ISO 7543. Au moment de la publication, l'édition indiquée était en vigueur. Toute norme est sujette à révision et les parties prenantes des accords fondés sur la présente partie de l'ISO 7543 sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer l'édition la plus récente de la norme indiquée ci-après. Les membres de la CEI et de l'ISO possèdent le registre des Normes internationales en vigueur à un moment donné.

1) À publier.

ISO 2825:1981, *Épices — Préparation d'un échantillon moulu en vue de l'analyse.*

3 Principe

3.1 Cas des piments en poudre

Extraction à l'aide d'un extracteur continu, type Soxhlet, par le tétrahydrofurane, puis détermination des capsaïcinoïdes par chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP), selon le mode opératoire décrit dans la présente partie de l'ISO 7543.

3.2 Cas des piments entiers

Préparation par broyage de l'échantillon, puis extraction de la poudre ainsi obtenue, suivie d'une détermination des capsaïcinoïdes par CLHP, selon le mode opératoire décrit dans la présente partie de l'ISO 7543.

3.3 Cas des oléorésines de piments

Dilution de l'oléorésine dans une solution de tétrahydrofurane et de méthanol, puis détermination des capsaïcinoïdes par CLHP, selon le mode opératoire décrit dans la présente partie de l'ISO 7543.

4 Réactifs

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

4.1 Substance de référence

Nonyl acide vanilylamide (capsaïcine de synthèse) de pureté au moins égale à 95 %, déterminée par chromatographie dans les conditions de l'essai données dans la présente partie de l'ISO 7543.

AVERTISSEMENT — Ce produit doit être manipulé avec précaution car il est très irritant.

4.2 Solvants

4.2.1 Tétrahydrofuranne.

4.2.2 Méthanol.

4.2.3 Nitrate d'argent, solution aqueuse à 0,1 mol/l.

AVERTISSEMENT — Ce produit doit être manipulé avec précaution. Un contact avec la peau risque de provoquer une réaction cutanée.

4.2.4 Tétrahydrofuranne/méthanol, mélange 50/50 (V/V).

4.3 Solvant d'élution

Mélanger 70 volumes de méthanol (4.2.2) et 30 volumes de nitrate d'argent (4.2.3).

5 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et, en particulier, ce qui suit.

5.1 Pipettes, de 5 ml de capacité.

5.2 Fioles jaugées, de 25 ml et 100 ml de capacité.

5.3 Membrane de filtration, en acétate de cellulose, de 25 mm de diamètre et de 0,45 µm de dimension de pores.

5.4 Système de séparation

5.4.1 Chromatographe, pour chromatographie en phase liquide à haute performance.

5.4.2 Système de pompage, permettant l'obtention et le maintien d'un débit constant ou programmé à haute pression.

5.4.3 Système de dégazage des solvants.

5.4.4 Système de détection approprié, pouvant être réglé à une longueur d'onde de 280 nm.

5.5 Enregistreur ou intégrateur, dont les performances sont compatibles avec l'ensemble de l'appareillage.

5.6 Colonne

Matériau: acier inoxydable

Longueur: 10 cm à 25 cm

Diamètre intérieur: 0,4 cm à 0,5 cm

Phase stationnaire: silice greffée avec groupe fonctionnel dérivé octadécyle C₁₈, granulométrie 5 µm max.

5.7 Système d'injection

Vanne d'injection avec boucle de 10 µl, ou tout autre système présentant la même précision au niveau de l'injection.

5.8 Appareil à extraction continue, type Soxhlet.

5.9 Tamis pour essai, de 500 µm d'ouverture de maille.

6 Méthode par calibration

6.1 Solution de référence

Préparer une solution mère à 1 g/l de nonyl acide vanilylamide (4.1) dans la solution de tétrahydrofuranne/méthanol (4.2.4).

6.2 Droit d'étalonnage

À partir de la solution de référence (6.1) préparer au moins trois solutions étalons de nonyl acide vanilylamide de concentration allant de 0,05 g/l à 0,2 g/l. Injecter chaque solution dans le chromatographe (5.4.1). Répéter la détermination au moins une fois. Mesurer les aires de pics et répéter les essais si les résultats s'écartent de plus de 5 %.

Tracer la droite d'étalonnage, c'est-à-dire la masse de nonyl acide vanilylamide injectée par rapport à l'aire du pic.

Définir la pente moyenne de la droite.

6.3 Calcul du coefficient de réponse, *K*

Calculer le coefficient de réponse *K* à l'aide de la formule suivante:

$$K = m'/A$$

$$m' = m \times P_r$$

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 7543-2:1993

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/14141ca-7049-4162-bc50-a145d68aa557/iso-7543-2-1993>

où

m est la masse, en milligrammes, de nonyl acide vanilylamide;

A est l'aire du pic du nonyl acide vanilylamide;

P_r est la pureté du nonyl acide vanilylamide (4.1);

m' est la masse corrigée du nonyl acide vanilylamide, en milligrammes.

7 Échantillonnage

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif, non endommagé ou modifié lors du transport et de l'entreposage.

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode spécifiée dans la présente partie de l'ISO 7543. Une méthode d'échantillonnage recommandée est donnée dans l'ISO 948²⁾.

8 Préparation de l'échantillon pour essai

8.1 Piments en poudre

8.1.1 Vérifier par tamisage que la poudre passe en totalité au travers d'un tamis de 500 μm (5.9). Si ce n'est pas le cas, broyer à nouveau, selon les prescriptions de l'ISO 2825, pour obtenir cette granulométrie.

8.1.2 Peser à 0,1 g près, entre 10 g et 15 g de l'échantillon pour essai préparé comme en 8.1.1. Extraire pendant 8 h dans l'appareil à l'extraction continue (5.8) à l'aide de 100 ml de tétrahydrofurane (4.2.1).

Concentrer partiellement le solvant.

Transvaser quantitativement l'extrait dans une fiole jaugée de 100 ml (5.2). Ajuster au trait de jauge avec le mélange de tétrahydrofurane/méthanol (4.2.4).

8.2 Piments entiers

8.2.1 Broyer l'échantillon pour essai selon les prescriptions de l'ISO 2825, jusqu'à ce que la poudre passe en totalité au travers d'un tamis de 500 μm d'ouverture de maille (5.9).

8.2.2 En utilisant l'échantillon pour essai préparé comme en 8.2.1, procéder comme décrit en 8.1.2.

8.3 Oléorésines de piment

Bien homogénéiser l'oléorésine.

9 Mode opératoire

9.1 Prise d'essai

9.1.1 Piments entiers ou en poudre

Prélever, à l'aide d'une pipette (5.1), 5 ml de la solution d'extraction obtenue selon 8.1.2 ou 8.2.2 et les placer dans une fiole jaugée (5.2) de 25 ml. Compléter au trait de jauge avec le mélange au tétrahydrofurane/méthanol (4.2.4).

NOTE 2 Cette dilution peut être éventuellement modifiée par l'analyste en fonction de la teneur présumée en capsaïcinoïdes totaux de l'échantillon et de la sensibilité du détecteur.

9.1.2 Oléorésines de piments

Peser à 0,1 mg près dans une fiole jaugée de 100 ml 1 g d'oléorésine (voir 8.3), et ajuster au trait de jauge avec le mélange au tétrahydrofurane/méthanol (4.2.4).

Prélever 5 ml de ce mélange dans une fiole jaugée de 25 ml, et compléter au trait avec la phase éluante (4.3).

NOTE 3 Cette dilution peut être éventuellement modifiée par l'analyste en fonction de la teneur présumée en capsaïcinoïdes totaux de l'échantillon et de la sensibilité du détecteur.

9.2 Détermination

La dilution finale doit être claire. Si ce n'est pas le cas, la filtrer sur la membrane (5.3). Injecter la solution d'essai dans le chromatographe (5.4.1).

Sur le chromatogramme obtenu, mesurer les aires des pics de la capsaïcine (C_1), de la nordihydrocapsaïcine (C_2) et de la dihydrocapsaïcine (C_3) (voir les chromatogrammes-types donnés dans l'annexe A).

Effectuer deux essais et répéter la détermination si les résultats s'écartent de plus de 5 %.

2) ISO 948:1980, *Épices — Échantillonnage*.

10 Calcul

Calculer la teneur en capsaïcinoïdes totaux, w_T , en pourcentage en masse, à l'aide de la formule suivante:

$$w_T = \frac{(A_{C1} + A_{C2} + A_{C3})K}{m_x} \times 500 \times 100$$

où

- A_{C1} est l'aire du pic de la capsaïcine;
 A_{C2} est l'aire du pic de la nordihydrocapsaïcine;
 A_{C3} est l'aire du pic de la dihydrocapsaïcine;
 m_x est la masse, en milligrammes, de la prise d'essai;
 K est le coefficient de réponse déterminé pour la substance de référence.

NOTE 4 Dans cette formule, le coefficient de dilution 500 peut être ajusté par l'analyste en fonction de la teneur en capsaïcinoïdes de l'échantillon à doser.

11 Répétabilité

Prendre comme résultats pour le coefficient de réponse K et pour la teneur en composé à doser, les

valeurs moyennes de plusieurs essais (au moins trois) effectués sur le même échantillon. Les différentes valeurs prises en considération pour calculer ces moyennes ne doivent pas s'écarter de plus de 5 %.

12 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit contenir les indications suivantes:

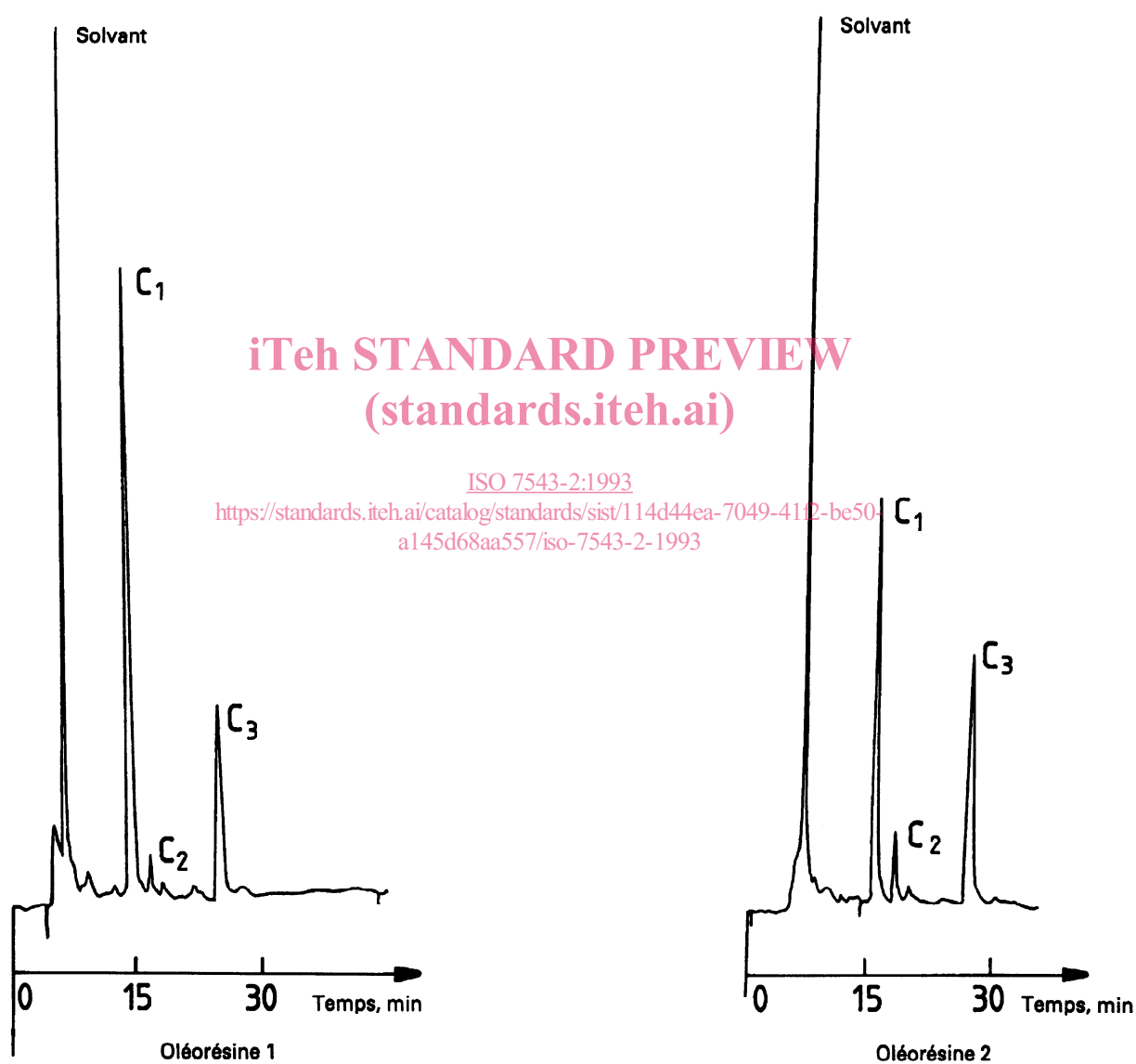
- référence à la présente partie de l'ISO 7543;
- système d'appareillage;
- caractéristiques de la colonne (matériau, dimensions, remplissage, phase stationnaire);
- caractéristiques du détecteur (facultatif) et conditions d'utilisation;
- caractéristiques de la phase mobile (débit et nature);
- identification de l'échantillon (quantité injectée et éventuelle dilution);
- résultats obtenus.

ISO 7543-2:1993
<https://standards.itech.ai/catalog/standards/sist/114d44ea-7049-41f2-bc50-a145d68aa557/iso-7543-2-1993>

Annexe A (informative)

Chromatogrammes-types

La figure A.1 illustre deux exemples de chromatogrammes-types obtenus selon les conditions opératoires données dans la présente partie de l'ISO 7543.



Identification des pics

- C₁ Capsaïcine
- C₂ Nordihydrocapsaïcine
- C₃ Dihydrocapsaïcine

Figure A.1

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 7543-2:1993

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/114d44ea-7049-41f2-be50-a145d68aa557/iso-7543-2-1993>

CDU 633.843:543.544

Descripteurs: produit agricole, produit alimentaire, assaisonnement, épice, piment, analyse chimique, dosage, chromatographie liquide haute performance.

Prix basé sur 5 pages
