
**Jus de pommes, concentrés de jus de
pommes et boissons à base de jus de
pommes — Détermination de la teneur en
patuline —**

iTeh STANDARD PREVIEW

Partie 1:
(standards.iteh.ai)

Méthode par chromatographie en phase
liquide à haute performance

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f0626be7-7b9f-4f56-b613-6898f4aa022a/iso-8128-1-1993>

*Apple juice, apple juice concentrates and drinks containing apple juice —
Determination of patulin content —*

Part 1: 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 8128-1 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 3, *Produits dérivés des fruits et légumes*.

L'ISO 8128 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Jus de pommes, concentrés de jus de pommes et boissons à base de jus de pommes — Détermination de la teneur en patuline*:

- *Partie 1: Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance*
- *Partie 2: Méthode par chromatographie sur couche mince*

L'annexe A de la présente partie de l'ISO 8128 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

Jus de pommes, concentrés de jus de pommes et boissons à base de jus de pommes — Détermination de la teneur en patuline —

Partie 1:

Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 8128 prescrit une méthode par chromatographie liquide à haute performance (CLHP), pour la détermination de la teneur en patuline dans les jus de pommes, les concentrés de jus de pommes et les boissons à base de jus de pommes.

La méthode a une limite de détection de 10 µg/l, basée sur 5 ml de jus de pommes prêt à la consommation.

NOTE 1 L'ISO 8128-2 prescrit une méthode par chromatographie sur couche mince.

2 Principe

Extraction de la patuline d'une prise d'essai dans l'acétate d'éthyle suivie du partage de l'extrait avec une solution aqueuse de carbonate de sodium. Estimation qualitative et quantitative par chromatographie liquide à haute performance (CLHP), en utilisant un détecteur à ultraviolets (UV).

3 Réactifs

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue, et l'eau de qualité pour chromatographie liquide à haute performance.

3.1 Solvant, acétate d'éthyle.

3.2 Phase mobile, 10 % (V/V) d'acétonitrile dans l'eau.

3.3 Solution d'extraction, solution aqueuse de carbonate de sodium anhydre à 14 g/l.

3.4 Tampon d'acétate, à pH 4.

Mélanger 16,4 ml d'acide acétique dilué [$c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0,2 \text{ mol/l}$] avec 3,6 ml d'acétate de sodium [$c(\text{CH}_3\text{COONa}) = 0,2 \text{ mol/l}$].

3.5 Acide acétique, glacial.

3.6 Solution étalon de patuline ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$).

3.6.1 Préparation

Peser, à 0,1 mg près, 10,0 mg de patuline dans une fiole jaugée de 100 ml et les dissoudre dans le tampon d'acétate (3.4). Ajuster au trait repère avec le tampon d'acétate.

Transférer, à l'aide d'une pipette, 10,0 ml de la solution ainsi obtenue dans une autre fiole jaugée de 100 ml et ajuster au trait repère avec le tampon d'acétate.

La teneur en patuline de cette solution étalon est de 10 µg/ml approximativement.

Mesurer l'absorbance à 276 nm de cette solution étalon à l'aide d'un spectromètre approprié, avec des cellules en quartz présentant un parcours optique de 10 mm.

NOTE 2 Le mode de préparation de la solution étalon ainsi que la vérification de sa pureté sont basés sur la référence [3].

3.6.2 Calcul de la concentration

Calculer la concentration, ρ_{ps} , exprimée en microgrammes par millilitre, de la solution de patuline (3.6.1) à l'aide de l'équation

$$\rho_{ps} = \frac{A \times M_r \times 1\,000 \times C}{A_{276}}$$

où

- A est l'absorbance de la solution étalon de patuline;
- A_{276} est l'absorbance de la solution de patuline, au maximum d'absorption de 276 nm (voir note 3);
- M_r est la masse moléculaire relative de la patuline;
- C est la constante de l'appareil (1 en général).

NOTE 3 Le coefficient d'absorption moléculaire de la patuline mesuré à 276 nm, est égal à 14 600.

4 Appareillage

Rincer le matériel de laboratoire avant son utilisation avec une solution d'hypochlorite de sodium à 10 g/l.

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

4.1 Chromatographe liquide à haute performance, équipé d'un détecteur à ultraviolets (permettant les mesures à 276 nm) ainsi que d'un enregistreur et/ou d'un intégrateur.

4.2 Colonne ODS¹⁾, ou colonne équivalente, ayant

- une efficacité d'au moins 35 000 plateaux théoriques par mètre;
- une longueur de 250 mm;
- un diamètre intérieur de 4,6 mm;
- une phase stationnaire²⁾ ayant des dimensions de particules de 5 μ m.

5 Échantillonnage

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

1) ODS: octadécylsilane

2) Bonded Octadecyl C₁₈ est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

6 Mode opératoire

6.1 Préparation de la solution d'essai

Diluer les concentrés de jus de pommes dans l'eau, en utilisant un mélange 1:5 de concentré et d'eau, en volume. Procéder ensuite comme pour les autres produits de la façon suivante.

6.1.1 Extraire 5,0 ml de l'échantillon pour laboratoire (dilué si nécessaire avec de l'eau) avec 5,0 ml d'acétate d'éthyle (3.1) pendant au moins 1 min. Répéter l'extraction deux autres fois avec des portions de 5,0 ml d'acétate d'éthyle. Regrouper les trois phases d'acétate d'éthyle et extraire avec 2,0 ml de la solution de carbonate de sodium (3.3).

ATTENTION — Procéder à l'extraction avec le carbonate de sodium aussi rapidement que possible, c'est-à-dire 1 min à 2 min après réunion des phases organiques, car la patuline est instable en milieu alcalin.

6.1.2 Extraire la phase au carbonate (6.1.1) avec une nouvelle portion de 5,0 ml d'acétate d'éthyle, mélanger avec les portions précédentes et rejeter la phase au carbonate. Ajouter 5 gouttes d'acide acétique (3.5), mélanger et évaporer jusqu'à 1 ml à 2 ml en employant un évaporateur sous vide.

6.1.3 Transférer quantitativement la solution ainsi obtenue dans une fiole d'environ 5 ml en employant plusieurs portions d'acétate d'éthyle (d'environ 1 ml chacune) et évaporer jusqu'à siccité sous courant d'azote à environ 40 °C. Dissoudre le résidu dans 500 μ l de phase mobile (3.2), ou de tampon d'acétate (3.4).

6.2 Établissement de la courbe d'étalonnage

Transférer à la pipette, 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml, 5,0 ml et 7,5 ml de la solution étalon de patuline (3.6.1) dans une série de cinq fioles jaugées de 10 ml et ajuster jusqu'au trait repère avec le tampon d'acétate (3.4).

Régler le débit appliqué à la colonne de CLHP à 1 ml/min environ et régler la sensibilité de façon qu'une absorbance de 0,01 donne une pleine échelle de déflexion.

Injecter 10 μ l à 30 μ l de chacune des solutions d'étalonnage dans le chromatographe (4.1).

Tracer la courbe d'étalonnage en situant les hauteurs des pics (ou les surfaces) selon la concentration en patuline, en microgrammes par millilitre.

6.3 Détermination

Injecter 10 μl à 30 μl de la solution d'essai (6.1.3) dans le chromatographe dans les mêmes conditions que pour l'établissement de la courbe d'étalonnage.

Identifier le pic de la solution d'essai par rapport aux pics des solutions d'échantillonnage.

Il est important de différencier le pic de la patuline du pic de l'HMF³⁾.

7 Calcul

Déterminer la concentration en patuline de la solution d'essai directement à partir de la courbe d'étalonnage (6.2). Calculer la teneur en patuline de l'échantillon, ρ_p , en microgrammes par litre de produit, de la manière suivante:

$$\rho_p = 100\rho_{pt}$$

où

ρ_{pt} est la concentration en patuline, de la solution d'essai exprimée en microgrammes par millilitre, lue sur la courbe d'étalonnage.

8 Fidélité

La précision de la méthode a été vérifiée par des essais interlaboratoires^[4].

Les paramètres statistiques sont exprimés selon l'ISO 5725^[1].

8.1 Répétabilité

$$r = 41,9; \quad s_r = 14,9$$

où

r est la limite de répétabilité;

s_r est l'écart-type de répétabilité.

8.2 Reproductibilité

$$R = 47,5; \quad s_R = 22,6$$

où

R est la limite de reproductibilité;

s_R est l'écart-type de reproductibilité.

9 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit indiquer

— la méthode utilisée,

— le résultat obtenu,

— et si la répétabilité a été vérifiée, le résultat final cité qui a été obtenu.

Il doit, en outre, mentionner tous les détails opératoires non prévus dans la présente partie de l'ISO 8128 ou calculatifs, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur le résultat.

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

3) HMF = hydroxy-5 méthylfurfural

Annexe A
(informative)

Bibliographie

- [1] ISO 5725:1986, *Fidélité des méthodes d'essai — Détermination de la répétabilité et de la reproductibilité d'une méthode d'essai normalisée par essais interlaboratoires.*
- [2] ISO 8128-2:1993, *Jus de pommes, concentrés de jus de pommes et boissons à base de jus de pommes — Détermination de la teneur en patuline — Partie 2: Méthode par chromatographie sur couche mince.*
- [3] *Official Methods of Analysis*, Vol. 12, Washington DC: AOAC, 1975, p. 463.
- [4] KUBACKI, S. J. et GOSZCZ, H. IUPAC Collaborative Study of HPLC methods for the determination of patulin in apple juice. *J. Pure Appl. Chem.*, **60** (6): 871-876 (1988).
- [5] TANNER, H. et ZANIER, C. Ueber eine neue Patulin Bestimmung in Fruchtsäften und Konzentraten. *Schweiz. Z. Obst Weinbau*, **112**: 656-662 (1976).
- [6] TANNER, H. et ZANIER, C. Amtliche Methoden zur Bestimmung von Patulin. *Mitt. Gebiete Labsm. Hyg.*, **75**: 506-513 (1984).
- [7] POHLAND, A.E. *et al.* Physicochemical data for some selected mycotoxins. *J. Pure Appl. Chem.*, **54**: 2219-2284 (1982).

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 8128-1:1993

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f0626be7-7b9f-4f56-b613-6898f4aa022a/iso-8128-1-1993>

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 8128-1:1993

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f0626be7-7b9f-4f56-b613-6898f4aa022a/iso-8128-1-1993>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 8128-1:1993](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f0626be7-7b9f-4f56-b613-6898f4aa022a/iso-8128-1-1993>

CDU 663.813:634.11:543.544:632.4

Descripteurs: produit agricole, produit végétal, produit alimentaire, boisson, pomme, jus de fruit et de légume, analyse chimique, dosage, patuline, chromatographie liquide haute performance.

Prix basé sur 4 pages
